

# FUNGADIA

## Aspergillus Antigen

### Gebrauchsanweisung - Deutsch

Lesen Sie diese Gebrauchsanweisung vor der Durchführung des Tests sorgfältig durch.

#### VERWENDUNGSZWECK

FungaDia-Aspergillus ist ein immunochromatographischer Schnelltest für den qualitativen Nachweis von Aspergillus-Galactomannan-Antigen in Serum und bronchoalveolärer Lavage (BAL) von erwachsenen oder pädiatrischen Patienten mit Verdacht auf eine Pilzinfektion. Die Diagnose einer invasiven Aspergillose (IA) kann durch den Nachweis von Galactomannan in Serum oder BAL unterstützt werden. Dieser Testsatz darf nur von medizinischem Fachpersonal verwendet werden und ist in Verbindung mit anderen diagnostischen Verfahren wie mikrobiologische Kultur, histologische Untersuchung von Biopsien oder radiologische Untersuchung anzuwenden.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Als "Aspergillosen" werden Infektionen bezeichnet, die durch Pilze der Gattung *Aspergillus* verursacht werden, deren Sporen über die Luft übertragen und von jedem eingeatmet werden. Für mehr als 80 % der menschlichen Aspergillosen ist die Art *Aspergillus fumigatus* verantwortlich. Nach dem Einatmen dieser Sporen befällt die invasive Aspergillose die unteren Atemwege. Insbesondere kommt sie bei neutropenischen Patienten (Krebstherapie), bei Patienten, die mit Immunsuppressiva und Kortikosteroiden behandelt werden (nach Knochenmarktransplantation) und bei Patienten, die wegen einer schweren Atemwegserkrankung (Influenza, COVID-19) auf der Intensivstation liegen, vor. Fieber, Husten, Brustschmerzen, Bluthusten und Atemnot gehören zu den Symptomen. Die Sterblichkeitsrate bei invasiver Aspergillose (IA) liegt bei bis zu 50%, da typische klinische Manifestationen fehlen und es keine wirksamen Methoden zur Frühdiagnose gibt. Um eine wirksame Behandlung zu gewährleisten und die Sterblichkeitsrate bei invasiver Aspergillose zu senken, ist eine schnelle und frühzeitige Diagnose von entscheidender Bedeutung.

#### PRINZIP DER ERKENNUNG

Der Test basiert auf der Immunochromatographie mit kolloidalem Gold. Bei positiver Probe reagieren die Antigene in der Probe mit den rot gefärbten Nanopartikeln und bilden einen Komplex (Antigen - Anti-Aspergillus-Antikörper - Goldnanopartikel), der zuvor auf der Konjugatmembran vorgetrocknet wurde. Das Gemisch wird dann durch Kapillarwirkung auf der Membran nach oben transportiert. Beim Durchfließen der Probe durch die Testmembran wandern die Bindungskomplexe des Konjugats. Der gefärbte

Konjugatkomplex wird von den Anti-Aspergillus-Antikörpern auf der Membran (Testlinie) gebunden, und es erscheint eine rote Linie. Ist die Probe negativ, sind keine Aspergillus-Antigene vorhanden oder die Antigene liegen in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze vor. Die auf der Membran vorhandenen Anti-Aspergillus-Antikörper (Testlinie) sind nicht in der Lage, den rot gefärbten Antigen-Konjugat-Komplex (der sich nicht gebildet hat) abzufangen, und die rote Linie erscheint nicht. Der Nanopartikel-Komplex wandert weiter durch die Membran zu den immobilisierten spezifischen Antikörpern in der Kontrolllinie, unabhängig davon, ob die Probe positiv ist oder nicht. Die Anti-Maus-Antikörper auf der Membran reagieren mit den Anti-Aspergillus-Antikörpern auf den Goldnanopartikeln und fangen den Komplex ein. Es bildet sich eine rote Linie. Die Anwesenheit dieser roten Kontrolllinie dient als (1) Überprüfung, ob genügend Volumen zugegeben wurde, (2) Überprüfung des korrekten Flusses und (3) als interne Reagenzienkontrolle. Die Kontrolllinie muss immer sichtbar sein.

#### KIT KOMPONENTEN

Komponenten	Menge pro Kit
Nachweis-Test Aspergillus Galactomannan	25
Positive-Kontrolle (50 ng/ml Galactomannan)	1 x 1,0 mL
Negativ-Kontrolle	1 x 1,0 mL
Probenbehandlungslösung	1 x 3,0 mL
Gebrauchsanweisung	1

**Hinweis:** Die Komponenten der Kits können nicht ausgetauscht werden

#### Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

1. Pipetten und sterile Spitzen
2. Zeitschaltuhr
3. Sterile Einweg-Mikrozentrifugenröhrchen (z.B. 72.692.005, Sarstedt)
4. Zentrifuge
5. Wärme-Inkubator (z.B. Trockenblock-Inkubator)

#### LAGERBEDINGUNGEN UND HALTBARKEIT

1. 24 Monate bei 2-30°C an einem trockenen und kühlen Ort aufbewahren.
2. Der Schnelltest muss innerhalb von 1 Stunde, nachdem der Folienbeutel geöffnet wurde, verwendet werden. Die Reagenzflasche kann bei 2-30°C gelagert werden.
3. Die Haltbarkeit ist auf dem Etikett angegeben.

#### VORBEREITUNG DER PROBE

1. Probenart: Serum und BAL-Proben.
2. Probenentnahme: Entnahme der Patientenprobe nach den Richtlinien für die klinische Entnahme von Proben für Laboruntersuchungen.
3. Kontaminationen während der Entnahme, des Transports und der Lagerung vermeiden.
4. Die Proben sollten bei 2-8 °C für 48 Stunden (Serumproben) bzw. 24 Stunden (BAL-Proben) gelagert werden. Können die Proben nicht rechtzeitig getestet werden, sind sie bei -20 °C zu lagern. Vorbehandelte Proben sind bei -20°C für 6 Monate zu lagern.
5. Kontamination der Proben, Qualitätsminderung und wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.

6. Stark hämolytische, ikterische oder lipämische Proben werden für den Test nicht empfohlen.

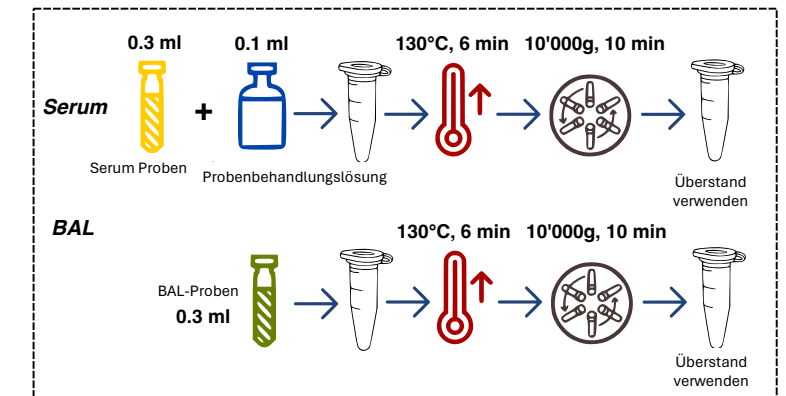
#### TESTVERFAHREN

##### 1. Proben-Vorbehandlung

**Serum:** 300 µl Serum in ein Zentrifugenröhrchen geben, 100 µl Probenbehandlungslösung hinzufügen und gründlich mischen.;

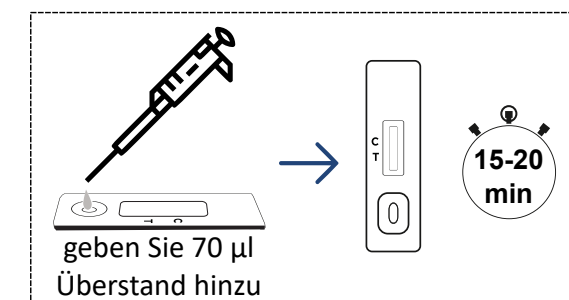
**BAL-Flüssigkeit:** 300 µl BAL-Flüssigkeit in ein Zentrifugenröhrchen geben. Für die BAL-Flüssigkeit ist keine Probenbehandlungslösung erforderlich.

- Das Zentrifugenröhrchen 6 Minuten lang in ein Wasser/Metallbad bei 130 °C (oder 7 Minuten bei 100 °C) stellen;
- Das Zentrifugenröhrchen aus dem Wasser-/Metallbad nehmen und 10 Minuten lang bei 10 000 xg zentrifugieren;
- Den Überstand zum Testen verwenden.



##### 2. Test Durchführung

- Den Test aus dem Folienbeutel nehmen und auf den sauberen, horizontalen Teststreifenhalter legen;
- **70 µl** des Überstands in die Probenvertiefung (S) der Testkassette geben;
- **15-20 Minuten** inkubieren und Ergebnis ablesen. Den Test während der Inkubation nicht bewegen. Das Ergebnis darf erst nach **30 Minuten** abgelesen werden.

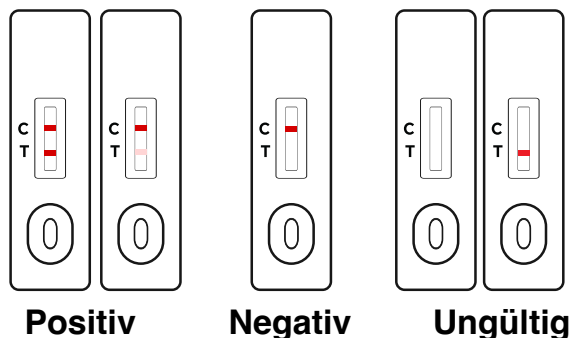


#### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

**Unabhängig von der Intensität der Testlinie** zeigt das Vorhandensein von zwei Linien (T-Linie und C-Linie) ein positives Ergebnis an. Bei Fehlen der Kontrolllinie (Linie C) ist das Ergebnis ungültig und der Test sollte wiederholt werden.

(1) Negative Ergebnisse schließen eine Infektion mit Aspergillus nicht aus und können darauf zurückzuführen sein, dass die Probe entnommen wurde, bevor sich Aspergillus-Galactomannan-Antigen zeigte, oder dass die Konzentration unter der Nachweisgrenze (LOD) lag.

(2) Der Gesamtgehalt an Aspergillus-Antigen kann nicht anhand der Farbintensität der Testergebnisse bestimmt werden.



## QUALITÄTSKONTROLLE

1. Positiv-Kontrolle: 70 µl der unbehandelten Positivkontrolle werden direkt für den Nachweis verwendet; das Testergebnis muss positiv sein (positive T-Linie).
2. Negativ-Kontrolle: 70 µl der unbehandelten negativen Kontrolle werden direkt zum Nachweis verwendet, das Testergebnis muss negativ sein (keine T-Linie).

## BESCHRÄNKUNGEN

1. Das Produkt dient ausschließlich dem Nachweis von Aspergillus-Galactomannan-Antigen in Serum- und BAL-Proben.
2. Die Testergebnisse dieses Kits dienen nur als Referenz. Sie sollten nicht als alleinige Grundlage für die klinische Diagnose und Behandlung verwendet werden. Bei der klinischen Behandlung von Patienten sollten die Symptome, die Anamnese, weitere Labortests und das Ansprechen auf die Behandlung in vollem Umfang berücksichtigt werden.

## AUFFÜHRUNGEN

### 1. Nachweisgrenze (LOD)

Die Nachweisgrenze von 2 ng/ml Galactomannan-Antigen wurde mit 3 verschiedenen Chargen bestimmt.

### 2. Hook-Effekt

Bei sehr hohen Konzentrationen (> 0,2 mg/ml) von Aspergillus-Hyphen-Antigen kann es zu einem Hook-Effekt kommen. Es wird empfohlen, suspekta Proben mit physiologischer Kochsalzlösung 5- bis 10-fachen zu verdünnen.

### 3. Störende Substanzen und Kreuzreaktionen

Interferierende Substanzen und kreuzreaktive Krankheiten sind nicht bekannt. Es wurden 50 ng/ml (1,3)-β-D-Glucan, Candida-Mannan und Polysaccharide aus der Kapsel von Cryptococci sowie kreuzreaktive Erkrankungen getestet. Nahrungsergänzungen mit Galactomannan, Maltodextrin oder Maisstärke (Abbott Nutrition) wurden getestet und bei einer Konzentration von 0,5 % wurden keine Störungen festgestellt.

Disease states	Aspergillus positive (ELISA)	Aspergillus negative (ELISA)	Cross-reactivity
Bacterial Sepsis	0	9/9	NO
COVID-19 positive	0	3/3	NO
HBsAg	0	5/5	NO
H.pylori IgG	0	3/3	NO
Anti-CCP	0	3/3	NO
F.rumatoides IgG	0	3/3	NO
Anti-ANA antibody	0	3/3	NO
ANA positive	0	2/2	NO

## NEGATIVE SAMPLES

Potential interfering substances	Concentration	Results
(1,3)-β-D-glucan	50 ng/ml	NEG (3/3)
Candida albicans mannan	50 ng/ml	NEG (3/3)
Cryptococcal capsular polysaccharide	50 ng/ml	NEG (3/3)
Galactomannan from Carob	1 mg/ml	NEG (3/3)
Amoxicilline (Sandoz)	0.75 mg/ml	NEG (3/3)
Microorganisms		
<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 204305	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-41311	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35301	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35302	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35303	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-41312	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 10124	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 9642	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus ustus</i> ATCC 10760	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus caesiellus</i> ATCC 42693	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus terreus</i> Thom ATCC 1012	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus nidulans</i> ATCC 10074	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 10106	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Penicillium digitatum</i> ATCC 48113	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Paecilomyces variotii</i> ATCC 18502	10 <sup>7</sup> cfu/ml	POS (3/3)
<i>Talaromyces (Penicillium) marneffeii</i>	10 <sup>7</sup> cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Cladosporium cladosporioides</i> ATCC 16022	10 <sup>7</sup> cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Magnusiomyces capitatus</i> ATCC 28576	10 <sup>7</sup> cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Alternaria alternata</i> ATCC 66981	10 <sup>7</sup> cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Lishtheimia ramosa</i> ATCC 22754	10 <sup>7</sup> cfu/ml	NEG (3/3)

## POSITIVE SAMPLES

Potential interfering substances	Concentration	Galactomannan	Results
(1,3)-β-D-glucan	50 ng/ml	6 ng/ml	POS (3/3)
Candida albicans mannan	50 ng/ml		POS (3/3)
Cryptococcal capsular polysaccharide	50 ng/ml		POS (3/3)

### 4. Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit und Wiederholbarkeit wurde intern mit drei verschiedenen Chargen getestet und ein Variationskoeffizienten (CV) von weniger als 10 % ermittelt.

### 5. Klinische Leistungen

In einer retrospektiven klinischen Bewertung in einem Universitätskrankenhaus in Frankreich wurden insgesamt 153 Serumproben und 34 BAL-Proben verwendet. Der PLATELIA™ ELISA Assay (BioRad, Marne-la-Coquette, Frankreich) wurde als Referenzmethode verwendet. An zwei Universitätskliniken in Frankreich werden derzeit weitere prospektive und retrospektive klinische Evaluierungen mit 84 Proben durchgeführt.

Serum+LBA	Platelia	
	+	-
FungaDia RDT	40	5
+	11	127

**Sensitivity:** 78,4% (CI95%: 64,3-88,2%)  
**Specificity:** 96,2% (CI95%: 90,9-98,6%)  
**PPV:** 88,9% (CI95%: 75,1-95,8%)  
**NPV:** 92,0% (CI95%: 85,9-95,8%)

Serum+LBA	Platelia	
	+	-
FungaDia RDT	48	3
+	8	25

**Sensitivity:** 85,7% (CI95%: 73,2-93,2%)  
**Specificity:** 89,3% (CI95%: 70,6-97,2%)  
**PPV:** 94,1% (CI95%: 82,8-98,5%)  
**NPV:** 75,8% (CI95%: 57,4-88,3%)

## WARNUNG UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Dieses Produkt ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt und darf nur von Fachpersonal verwendet werden.
2. Der Test darf nicht wiederverwendet werden. Der Test darf nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.
3. Um Fehlinterpretationen zu vermeiden, sollten die Testergebnisse innerhalb der angegebenen Zeit abgelesen werden.
4. Es dürfen keine Komponenten aus unterschiedlichen Chargen oder unterschiedliche Reagenzien verwendet werden.
5. Proben und die verwendeten Materialien sind in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften für die Entsorgung biologischer Gefahrstoffe zu entsorgen.
6. Proben und Reagenzien können infektiös sein und menschliche oder tierische Bestandteile enthalten, weshalb beim Umgang mit ihnen entsprechende Schutzmaßnahmen zu treffen sind.
7. Die Probenbehandlungslösung enthält zur Konservierung Natriumazid. Das Material ist gemäß den örtlichen Vorschriften zu entsorgen, der Kontakt mit Augen und Haut ist zu vermeiden.
8. Bei sehr hohen Konzentrationen von Aspergillus-Antigen in der Probe kann die Linie C geschwächt sein.
9. Sehr hohe Konzentrationen von Aspergillus-Antigen verursachen einen "Hook"-Effekt, der zu falsch negativen Ergebnissen führt. In diesem Fall verdünnen Sie die Probe 5-10 fache mit physiologischer Kochsalzlösung.
10. Der Hersteller und die zuständige Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, sind über jede ernste unerwünschte Reaktion im Zusammenhang mit dem Produkt zu unterrichten.

## REFERENZEN

1. Egl S. et al. Influence of mould-active antifungal treatment on the performance of the Aspergillus-specific bronchoalveolar lavage fluid lateral-flow device test. *Int J Antimicrob Agents*. 2015a; 46(4):401–5.
2. White PL. et al. Evaluation of real-time PCR, galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and a novel lateral-flow device for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2013; 51(5):1510–6.
3. Hoenigl M. et al. Performance of galactomannan, beta-D-glucan, Aspergillus lateral-flow device, conventional culture, and PCR tests with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2014a; 52(6):2039–45.
4. Held J. et al. Comparison of a novel Aspergillus lateral-flow device and the Platelia galactomannan assay for the diagnosis of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell transplantation. *Infection*. 2013; 41(6):1163–9.
5. Johnson GL. et al. Aspergillus-specific lateral-flow device and real-time PCR testing of bronchoalveolar lavage fluid: a combination biomarker approach for clinical diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2015; 53(7):2103–8.

## SYMBOLE

	Hersteller		Verfallsdatum
	Nicht wiederverwenden	<b>LOT</b>	Chargennummer
	Herstellungsdatum	<b>EC REP</b>	Europäischer Bevollmächtigter
	Gebrauchsanweisung konsultieren	<b>IVD</b>	Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät
	Temperaturbegrenzung	<b>REF</b>	Katalognummer
	Ausreichend für <n> Tests	<b>CE</b>	CE-Kennzeichnung
	Nicht für patientennahe Tests (nur IVDR)		Nicht für Selbsttests (nur IVDR)

**GaDia SA**  
 Route de l'île-au-Bois 1A  
 1870 Monthey (Schweiz)  
 www.gadia.ch  
 info@gadia.ch

**EC REP** ER Egészségügyi, Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.  
 Budapesti út 57/B  
 1111 Budapest (Hungary)  
 ujszaszli.stvan@erkft.hu

**CE IVD** **SWISS QUALITY**