

**CHORUS
ASPERGILLUS
GALACTOMANNAN
Ag**



REF 81178



DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

Per la determinazione qualitativa dell'antigene galattomannano di *Aspergillus*

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa dell'antigene galattomannano di *Aspergillus* nel siero umano e nel fluido di lavaggio bronco alveolare (BAL) con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

L'aspergillosi è un'infezione opportunistica causata dall'inalazione di spore fungine di *Aspergillus*, comunemente presente nell'ambiente.

Le forme invasive, in aumento negli ultimi 10 anni, rappresentano le infezioni più gravi.

L'*Aspergillus* tende ad infettare gli spazi aperti, quali cavità polmonari causate da precedenti patologie (p.es. bronchiectasie, tumore, tubercolosi), i seni, o i condotti uditivi esterni. In particolare, *A. fumigatus* è la causa più frequente di malattia polmonare invasiva.

I metodi tradizionali per la diagnosi spesso si basano su prove diagnostiche o radiologiche non specifiche (sintomi clinici, TAC, radiografia del torace, ecc). Dal momento che *Aspergillus* è diffuso nell'ambiente, la positività delle colture di escreato può essere dovuta a contaminazioni ambientale.

Il test per l'antigene galattomannano nel siero e nel fluido di lavaggio bronco alveolare (BAL) sembra essere un metodo in grado di supportare la diagnosi di aspergillosi invasiva. Nell'aspergillosi polmonare invasiva il test del galattomannano su BAL è spesso l'unica opzione per i pazienti con trombocitopenia, per i quali la biopsia è controindicata.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

L'anticorpo monoclonale specifico per l'antigene viene legato alla fase solida. Durante l'incubazione, l'antigene presente nel campione si lega all'anticorpo monoclonale presente in fase solida ed a quello coniugato con perossidasi di rafano, formando un "sandwich".

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si aggiunge il substrato per la perossidasi. La reazione enzimatica viene successivamente bloccata per aggiunta della Soluzione Bloccante che fa virare la soluzione al giallo.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in Index (OD campione/OD cut-off)

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
 2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
 3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus TRIO.
 4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Schede di Sicurezza (disponibile su richiesta).
 5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
 6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.
- Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti.
- Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare la busta contenente i dispositivi a temperatura ambiente (18-30°C) per almeno 30 minuti.

Utilizzare i dispositivi entro 60 minuti.

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.

L'uso del kit è possibile solo con CHORUS TRIO con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

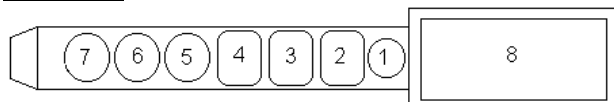
5. Controllare che lo strumento Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anticorpo monoclonale anti-galattomannano

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina stabilizzata in tampone citrato

Posizione 3: SOLUZIONE BLOCCANTE

Contenuto: Soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: Anticorpo monoclonale anti-galattomannano marcato con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e sigillare premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.950 ml

Contenuto: Siero umano contenente galattomannano e conservante. Liquido, da trattare come i campioni in esame.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 2 x 1.250 ml

Contenuto: Siero umano contenente galattomannano e conservante. Liquido, da trattare come i campioni in esame.

SAMPLE DILUENT DILUENTE CAMPIONI 1 x 7 ml

Contenuto: soluzione di EDTA. Liquido, pronto all'uso

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Strumento Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti
- Vortex
- Provette da centrifuga da 1.5 ml
- Blocco termico fino a 100°C o bagnomaria a 100°C.
- Centrifuga da banco per provette da 1.5 ml in grado di ottenere 10.000xg

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il controllo positivo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

	Dopo apertura	Dopo trattamento
DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C	-
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8°C	5 giorni
CONTROLLO POSITIVO	8 settimane a 2/8°C	5 giorni
DILUENTE CAMPIONI	8 settimane a 2/8°C	-

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio, o da fluido di lavaggio bronco alveolare (BAL) che deve essere raccolto in soluzione salina sterile.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori (almeno fino a 3 mesi), congelare a -20°C. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica o da spore fungine, che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

Il test CHORUS Aspergillus galactomannan Ag (REF 81178) può essere eseguito contemporaneamente SOLO con i seguenti test:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	REF 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	REF 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	REF 81098

PREPARAZIONE CAMPIONI

Il Controllo Positivo ed il Calibratore devono essere processati come i campioni di siero/fluido BAL:

- Pipettare 300 µl di Calibratore, Controllo Positivo e di ogni campione in provette da centrifuga da 1.5 ml (non formite)
- Aggiungere ad ogni provetta 100 µl di Diluente Campioni.
- Miscelare bene
- Riscaldare le provette per 3 minuti in blocco termico a 100°C o 3 minuti in bagnomaria a 100°C.
- Centrifugare le provette a 10.000xg per 10 minuti
- Prelevare il sopranatante e utilizzarlo come campione.

È possibile conservare il campione trattato per 48 h a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 75 µl di campione da analizzare. Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo positivo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo positivo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus TRIO fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

Il test sul campione in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è > 1.1

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.9

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

In caso di risultato dubbio/equivoco, ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 4 campioni (1 Negativo, 1 a Cut-Off e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44 – 110 IU/ml)

Bilirubina (4.5 mg/dl – 18 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl – 150 mg/dl)

Emoglobina (5 mg/ml – 15 mg/ml)

Ibuprofen (2.19 mg/dl)

Acetaminophen (1.56 mg/dl)

Oxymetazoline (1.25 mg/dl)

La presenza nel siero in esame delle sostanze interferenti sopra riportate (con l'eccezione di emoglobina al livello di 15 mg/ml) non altera il risultato del test.

13. CROSS-REATTIVI

81 campioni, positivi a Citomegalovirus (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), Rosolia (11), Mycoplasma (4), SARS-CoV-2 (10), ANA (25) sono stati testati.

Sono state testate inoltre, sospensioni batteriche in soluzione salina di *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* e antigene virale SARS-CoV-2.

Non sono state rilevate reazioni crociate.

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 305 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	85	11	96
	-	6	203	209
	Totale	91	214	305

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

93.4% CI_{95%}: 86.3 - 96.9

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

94.4% CI_{95%}: 91.0 - 97.1

Valore Predittivo Positivo: 88.5 CI_{95%}: 84.9 - 92.1

Valore Predittivo Negativo: 97.1 CI_{95%}: 95.2 - 99.0

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.86

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.2	5.0	0.3	-
2	0.3	3.3	0.4	12.5
3	2.0	2.5	1.8	2.8
4	2.8	3.6	2.9	4.1
5	0.8	3.8	0.8	5.0

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	13.3	0.3	13.3
2	0.3	13.3	0.4	12.5
3	1.8	6.7	1.7	7.1
4	2.8	11.1	2.8	3.9
5	0.8	-	0.8	6.3

16. BIBLIOGRAFIA

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against Aspergillus Galactomannan. Infect.Immun, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. Infect.Immun, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. Jour.Clin.Mic, May 1987. Vol 25: p.863-867



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

**For the qualitative determination of the
Aspergillus Galactomannan antigen**

Only for in vitro diagnostic use

1. USE

Enzyme immunoassay method for the qualitative determination of the Galactomannan antigen of *Aspergillus* in human serum and bronchial alveolar lavage fluid (BAL) with single-use device applied to Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Aspergillosis is an opportunistic infection caused by the inhalation of *Aspergillus* fungal spores, commonly present in the environment.

Invasive forms, on the rise over the past 10 years, represent the most serious infections.

Aspergillus tends to infect open spaces, such as lung cavities caused by previous diseases (e.g. bronchiectasis, cancer, tuberculosis), sinuses, or external auditory canals. In particular, *A. fumigatus* is the most frequent cause of invasive lung disease.

Traditional methods of diagnosis often rely on non-specific diagnostic or radiological tests (clinical symptoms, CT scans, chest X-rays, etc.). Since *Aspergillus* is widespread in the environment, the positivity of sputum cultures may be due to environmental contamination.

The test for galactomannan antigen in serum and bronchial alveolar lavage fluid (BAL) appears to be a method capable of supporting the diagnosis of invasive Aspergillosis. In invasive pulmonary Aspergillosis, the Galactomannan test in BAL is often the only option for patients with thrombocytopenia, for whom biopsy is contraindicated.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) principle.

The monoclonal antibody specific for the antigen is bound to the solid phase. During incubation, the antigen present in the sample binds to the monoclonal antibody present in the solid phase and to the one conjugated with horseradish peroxidase, forming a "sandwich".

After washing to remove unreacted proteins, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is subsequently stopped by adding the Stop Solution which causes the solution to turn yellow.

The single-use devices contain all the reagents to perform the test when applied to the Chorus TRIO instruments.

The results are expressed in Index (OD sample/OD cut-off)

4. PRECAUTIONS

ONLY FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE.

This kit contains materials of human origin which have been tested and found negative for both HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. Since no diagnostic test can offer a complete guarantee on the absence of infectious agents, any material of human origin must be considered potentially infected. All reagents and samples must be handled in accordance with the safety standards normally adopted in the laboratory.

Disposal of residues: the samples, calibrators and the strips used must be treated as infected residues, therefore disposed of in accordance with the provisions of current laws.

Personal safety warnings

1. Do not pipette with your mouth.
 2. Use single-use gloves and eye protection when handling samples.
 3. Wash your hands thoroughly after inserting the devices into the Chorus TRIO instrument.
 4. Refer to the Safety Data Sheet (available on request) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
 5. Neutralised acids and other liquid waste must be disinfected by adding sodium hypochlorite in a volume sufficient to obtain a final concentration of at least 1%. Exposure to 1% hypochlorite sodium for 30 minutes should be sufficient to ensure effective disinfection.
 6. Any spillage of potentially infected materials must be removed immediately with absorbent paper and the contaminated area must be decontaminated, for example with 1% hypochlorite sodium, before continuing work. If an acid is present, sodium hypochlorite must not be used before the area has been dried.
- All materials used to decontaminate any accidental spillage, including gloves, must be discarded as potentially infected waste.
- Do not autoclave materials containing hypochlorite sodium.

Analytical warnings

Before use, bring the bag containing the devices to room temperature (18-30°C) for at least 30 minutes.

Use the devices within 60 minutes.

1. **Discard the devices with blue coloured substrate (well 4).**
2. When adding the sample to the well, check that it is perfectly distributed at the bottom.
3. Check the actual presence of reagents in the device and the integrity of the device itself. Do not use devices that lack any reagents and/or that have any foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices must be used in conjunction with the Chorus TRIO instrument, strictly following the Instructions for Use and the User Manual of the instrument.

Use of the kit is only possible with CHORUS TRIO with an updated version of software. Make sure that the

software installed in the instrument matches or has a Release (date) above the one shown in the table published on the Diesse website

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

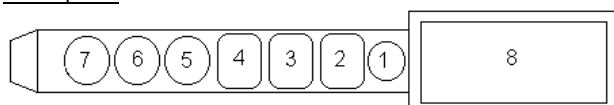
5. Check that the Chorus TRIO instrument is set correctly (see User Manual).
6. Do not alter the barcode placed on the handle of the device in order to allow it to be read correctly by the instrument.
7. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage.
8. Defective barcodes can be manually entered into the instrument (see User Manual).
9. Do not expose the devices to strong lighting or hypochlorite vapours during storage and use.
10. The use of heavily haemolysed, lipemic, icteric, non-fully coagulated serum samples or of samples with microbial contamination may be a source of errors.
11. Do not use the device after its expiry date
12. **Check that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSITION OF THE KIT AND PREPARATION OF REAGENTS

The kit is sufficient for 36 tests

DD DEVICES 6 packs of 6 devices each

Description:



Position 8: Space available for barcode label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Sensitised with anti-galactomannan monoclonal antibody

Position 5: MICROPLATE WELL

Not sensitised.

Position 4: TMB SUBSTRATE

Content: Tetramethylbenzidine stabilised in citrate buffer

Position 3: STOP SOLUTION

Content: Sulphuric acid 0.3 M solution

Position 2: CONJUGATE

Content: Peroxidase-labelled anti-galactomannan monoclonal antibody, in phosphate buffer solution containing 0.05% phenol and 0.02% Bronidox

Position 1: EMPTY WELL

Where the sample is transferred.

Usage: bring a bag to room temperature, open the bag, pick up the necessary devices; store the others in the bag containing the silica gel, let the air out and **seal** by pressing on the closure. Store at 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.950 ml

Content: Human serum containing galactomannan and preservative. Liquid, to be treated as the test samples.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 2 x 1.250 ml

Content: Human serum containing galactomannan and preservative. Liquid, to be treated as the test samples.

SAMPLE DILUENT SAMPLE DILUENT 1 x 7 ml

Content: EDTA solution. Liquid, ready to use

OTHER MATERIAL REQUIRED, BUT NOT SUPPLIED:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITISING SOLUTION **REF** 83604
- Chorus TRIO instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test tubes, etc.
- Micropipettes capable of accurately withdrawing volumes of 50-200µl.
- Single-use gloves
- 5% sodium hypochlorite solution
- Containers for the collection of potentially infected materials
- Vortex
- 1.5 ml centrifuge tubes
- Block heater up to 100°C or water bath at 100°C.
- Bench-top centrifuge for 1.5 ml tubes able to obtain 10,000xg

6. METHOD OF STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the event of an incorrect storage temperature, the calibration must be repeated and the correctness of the result checked using the positive control (see chapter 9: Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the outer label of the package.

Reagents have limited stability after opening and/or preparation:

	After opening	After treatment
DEVICES	8 weeks at 2/8°C	-
CALIBRATOR	8 weeks at 2/8°C	5 days
POSITIVE CONTROL	8 weeks at 2/8°C	5 days
SAMPLE DILUENT	8 weeks at 2/8°C	-

7. SAMPLE TYPE AND STORAGE

The sample type is serum obtained from blood collected by normal venous blood sampling and handled as required by standard laboratory procedures, or bronchoalveolar lavage fluid (BAL) which must be collected in a sterile saline solution.

Fresh serum can be kept for 4 days at 2/8°C; for longer storage periods (at least up to 3 months), freeze at -20°C. The sample can undergo up to a maximum of 3 thaws.

Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage. After thawing, carefully shake the sample before dosing.

Sample quality can be seriously affected by microbial contamination or fungal spores, which can lead to erroneous results.

8. PROCEDURE

The CHORUS Aspergillus Galactomannan Ag test (REF 81178) can be performed simultaneously ONLY with the following tests:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	REF 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	REF 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	REF 81098

SAMPLE PREPARATION

The Positive Control and the Calibrator must be processed as the serum/fluid BAL samples:

- Pipette 300 µl of Calibrator, Positive Control and each sample into 1.5 ml centrifuge tubes (not supplied)
- Add 100 µl of Sample Diluent to each tube.
- Mix well
- Heat the tubes for 3 minutes in a block heater at 100°C or 3 minutes in a water bath at 100°C.
- Centrifuge the tubes at 10,000xg for 10 minutes
- Take the supernatant and use it as a sample.

It is possible to store the treated sample for 48 hours at 2-8°C.

PROCEDURE

1. Open the bag (side containing the snap closure), take the number of devices needed to perform the tests and store the others by closing the bag after letting the air out.
2. Visually check the status of the device according to the instructions in chapter 4 Analytical Warnings.
3. Add 75 µl of sample to be analysed to well no. 1. At each batch change use a calibrator device.
4. Introduce the devices on the Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if required) and the test as reported in the User Manual of the instrument.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control to verify the correctness of the result obtained, processing it as indicated in the User Manual of the instrument. If the instrument indicates that the positive control has a value falling outside the acceptability limit, the calibration must be performed again. Previous results will be corrected automatically.

If the positive control result continues to be outside the acceptability range, contact Scientific Support.

Phone: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE TEST

The Chorus TRIO instrument provides the result in Index (sample OD/cut-off OD).

The test on the sample under examination can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 1.1

NEGATIVE: when the result is < 0.9

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the result is between 0.9 and 1.1

In case of doubtful/equivocal result, repeat the test. If the result remains doubtful/equivocal, repeat the sampling.

11. TEST LIMITATIONS

All values obtained require a careful interpretation, without ever disregarding other indicators relating to the same patient.

The test, in fact, cannot be used on its own for a clinical diagnosis and the result obtained must always be evaluated together with data from the patient's medical history and/or from other diagnostic investigations.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

4 samples were tested (1 Negative, 1 Cut-Off and 2 Positive ones) to which the following interfering agents were added:

Rheumatoid factor (44 - 110 IU/ml)
 Bilirubin (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)
 Triglycerides (10 mg/dl - 150 mg/dl)
 Haemoglobin (5 mg/ml - 15 mg/ml)
 Ibuprofen (2.19 mg/dl)
 Acetaminophen (1.56 mg/dl)
 Oxymetazoline (1.25 mg/dl)

The presence in the serum under examination of the interfering substances listed above (with the exception of haemoglobin at the level of 15 mg/ml) does not alter the test result.

13. CROSS-REACTIVITY

81 samples, positive for Cytomegalovirus (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), Rubella (11), Mycoplasma (4), SARS-CoV-2 (10), ANA (25) were tested.

In addition, bacterial suspensions in saline solution of *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* and SARS-CoV-2 viral antigen were also tested.

No cross-reactions were detected.

14. COMPARISON STUDIES

In one trial, 305 samples were analysed with Diesse kit and with another commercially available kit.

The trial data are outlined below:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	85	11	96
	-	6	203	209
	Total	91	214	305

Positive Percent Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

93.4% CI_{95%}: 86.3 - 96.9

Negative Percent Agreement (~Diagnostic Specificity):

94.4% CI_{95%}: 91.0 - 97.1

Positive Predictive Value: 88.5 CI_{95%}: 84.9 - 92.1

Negative Predictive Value: 97.1 CI_{95%}: 95.2 - 99.0

The degree of agreement between the two methods is excellent with a value of K (Cohen's coefficient) of 0.86

15. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within the session		Between sessions	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.2	5.0	0.3	-
2	0.3	3.3	0.4	12.5
3	2.0	2.5	1.8	2.8
4	2.8	3.6	2.9	4.1

5	0.8	3.8	0.8	5.0
---	-----	-----	-----	-----

Sample	Between batches		Between instruments	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	13.3	0.3	13.3
2	0.3	13.3	0.4	12.5
3	1.8	6.7	1.7	7.1
4	2.8	11.1	2.8	3.9
5	0.8	-	0.8	6.3

16. BIBLIOGRAPHY

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against Aspergillus Galactomannan. Infect.Immun, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. Infect.Immun, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. Jour.Clin.Mic, May 1987. Vol 25: p.863-867



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

Zur qualitativen Bestimmung des *Aspergillus*- Galactomannan-Antigens

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung von *Aspergillus*-Galactomannan-Antigen in Humanserum und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BAL) mit einem Einweg-Testmodulgerät, das in Kombination mit Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

2. EINLEITUNG

Eine Aspergillose ist eine opportunistische Infektion, die durch das Einatmen von Sporen des Schimmelpilzes *Aspergillus* verursacht wird, die in der Umwelt häufig vorkommen.

Invasive Formen, die in den letzten 10 Jahren zugenommen haben, sind die schwersten Infektionen.

Aspergillus neigt dazu, offene Räume zu infizieren, wie die Lungenhöhlen, die durch frühere Lungenerkrankungen (z. B. Bronchiektasien, Tumor, Tuberkulose) verursacht wurden, die Nebenhöhlen oder äußeren Gehörgänge. Insbesondere *A. fumigatus* ist die häufigste Ursache für invasive Lungenerkrankungen.

Herkömmliche Diagnosemethoden basieren oft auf unspezifischen diagnostischen oder radiologischen Tests (klinische Symptome, CT, Röntgenaufnahme usw.). Da *Aspergillus* in der Umwelt weit verbreitet ist, können positive Sputumkulturen auf eine Umweltkontamination zurückzuführen sein.

Der Test auf Galactomannan-Antigene im Serum und in der bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BAL) scheint eine Methode zur Unterstützung der Diagnose einer invasiven Aspergillose zu sein. Bei invasiver pulmonaler Aspergillose ist der Galactomannan-Test auf BAL oft die einzige Option für Patienten mit Thrombozytopenie, bei denen eine Biopsie kontraindiziert ist.

3. TESTPRINZIP

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Der antigenspezifische monoklonale Antikörper ist an die Festphase gebunden. Während der Inkubation bindet sich das in der Probe enthaltene Antigen an den monoklonalen Antikörper in der Festphase und an den mit Meerrettichperoxidase konjugierten Antikörper, wodurch ein „Sandwich“ gebildet wird.

Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, wird das Substrat für die Peroxidase hinzugefügt. Die

Enzymreaktion wird anschließend durch die Zugabe von Blockierlösung, welche die Lösung gelb werden lässt, blockiert. Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off)

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Proben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
 2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
 3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
 4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
 5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
 6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die verschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde.
- Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Vor dem Gebrauch den Beutel mit den Vorrichtungen für mindestens 30 Minuten auf Umgebungstemperatur (18–30 °C) erwärmen.

Verwenden Sie die Vorrichtungen innerhalb von 60 Minuten.

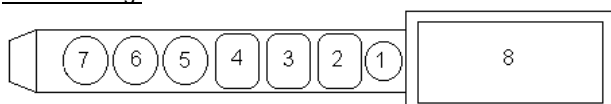
1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
Die Verwendung des Testmoduls ist nur mit CHORUS TRIO und einer aktualisierten Softwareversion möglich. Sicherstellen, dass die im Analysator installierte Software mit jener, die in der Tabelle auf der Diesse-Website angegeben ist, übereinstimmt, oder dass es sich um eine höhere Version (Rel.) handelt
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren, ob der Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koaguliertem Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden
12. Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit monoklonalem Anti-Galactomannan-Antikörper

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert.

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin in Citratpuffer stabilisiert

Position 3: BLOCKIERLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0.3 M

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: Peroxidase-markierter monoklonaler Anti-Galactomannan-Antikörper in Phosphatpufferlösung mit 0.05 % Phenol und 0.02 % Bronidox.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

Für die Probe.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR

1 x 0.950 ml

Inhalt: Humanserum, das Galactomannan und Konservierungsmittel enthält. Wie die untersuchten Proben zu behandelnde Flüssigkeit.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE

2 x 1.250 ml

Inhalt: Humanserum, das Galactomannan und Konservierungsmittel enthält. Wie die untersuchten Proben zu behandelnde Flüssigkeit.

SAMPLE DILUENT

PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL 1 x 7 ml

Inhalt: EDTA-Lösung. Flüssigkeit gebrauchsfertig

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- WASCHPUFFER **REF** 83606
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF** 83609
- DESINFEKTIONS-LÖSUNG **REF** 83604
- Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl.
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien
- Vortex-Mischer
- Zentrifugenröhrchen 1.5 ml
- Heizblock bis 100 °C oder Wasserbad bei 100 °C
- Tischzentrifuge für 1.5-ml-Röhrchen mit einer Zentrifugalkraft von Geschwindigkeit von 10.000xg

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe der positiven Kontrolle überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:

	Nach dem Öffnen	Nach der Behandlung
TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C	-
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2–8 °C	5 Tage
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2–8 °C	5 Tage
PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL	8 Wochen bei 2–8 °C	-

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Bei den Proben handelt es sich um Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch normale Venenpunktion entnommen und gemäß den Standardlaborverfahren behandelt wird, oder um bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit (BAL), die in steriler Kochsalzlösung gesammelt werden muss.

Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung (mindestens 3 Monate lang) wird es bei –20 °C eingefroren. Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Eine Mikroben- oder Pilzsporenkontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.

8. VORGEHENSWEISE

Der CHORUS Aspergillus galactomannan Ag (REF 81178) kann gleichzeitig NUR mit folgenden Tests durchgeführt werden:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	REF 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	REF 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	REF 81098

VORBEREITUNG DER PROBEN

Die Positivkontrolle und der Kalibrator müssen auf die gleiche Weise verarbeitet werden wie die Serum-/BAL-Flüssigkeitsproben:

- 300 µl des Kalibrators, der positiven Kontrolle und jeder Probe in 1,5-ml-Zentrifugenröhrchen pipettieren (nicht im Lieferumfang)
- 100 µl Probenverdünnungsmittel in jedes Röhrchen geben.
- Gut mischen
- Die Röhrchen 3 Minuten in einem Heizblock bei 100 °C oder 3 Minuten lang 100 °C im Wasserbad erhitzen.
- Die Röhrchen 10 Minuten lang bei 10.000 xg zentrifugieren
- Den Überstand entnehmen und als Probe verwenden.

Die behandelte Probe kann 48 h bei 2–8 °C aufbewahrt werden.

VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den

restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.

2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 75 µl des zu analysierenden, Proben geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses die positive Kontrolle verwenden. Sie wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die positive Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

E-Mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

Der Test des untersuchten Proben kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis >1.1

NEGATIV: bei Ergebnis <0.9

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 0.9 und 1.1

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt/mehrdeutig ist. Sollte das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig bleiben, die Blutabnahme wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 4 Proben (1 negative, 1 Cut-Off und 2 positive) getestet, denen folgende Interferenzen beigefügt wurden:

Rheumafaktor (44–110 IU/ml)

Bilirubin (4,5 mg/dl–18 mg/dl)

Triglyceride (10 mg/dl–150 mg/dl)
 Hämoglobin (5 mg/ml–15 mg/ml)
 Ibuprofen (2.19 mg/dl)
 Acetaminophen (1.56 mg/dl)
 Oxymetazolin (1.25 mg/dl)

Die Präsenz der oben genannten Interferenten (mit Ausnahme von Hämoglobin in einer Konzentration von 15 mg/ml) im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

13. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 81 Proben getestet, die positiv auf Citomegalovirus (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), Rosolia (11), Mycoplasma (4), SARS-CoV-2 (10), ANA (25) waren.

Außerdem wurden bakterielle Suspensionen von *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* und SARS-CoV-2-Virusantigen in Kochsalzlösung getestet. Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

14. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 305 Proben mit dem Testsatz von Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	85	11	96
	-	6	203	209
	Insgesamt	91	214	305

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

93.4% CI_{95%}: 86.3 - 96.9

Negative Übereinstimmung: (~Diagnostische Spezifität):

94.4% CI_{95%}: 91.0 - 97.1

Positiver Vorhersagewert: 88.5 CI_{95%}: 84.9 - 92.1

Negativer Vorhersagewert: 97.1 CI_{95%}: 95.2 - 99.0

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von 0.86 optimal.

15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert Index	VK %	Mittelwert Index	VK %
1	0.2	5.0	0.3	-
2	0.3	3.3	0.4	12.5
3	2.0	2.5	1.8	2.8
4	2.8	3.6	2.9	4.1
5	0.8	3.8	0.8	5.0

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert Index	VK %	Mittelwert Index	VK %
1	0.3	13.3	0.3	13.3
2	0.3	13.3	0.4	12.5
3	1.8	6.7	1.7	7.1
4	2.8	11.1	2.8	3.9
5	0.8	-	0.8	6.3

16. LITERATUR

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against *Aspergillus* Galactomannan. Infect.Immun, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. Infect.Immun, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. Jour.Clin.Mic, May 1987. Vol 25: p.863-867



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

**Para la determinación cualitativa del antígeno
galactomanano de *Aspergillus***

Solo para uso diagnóstico in vitro

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para determinación cualitativa del antígeno de galactomanano de *Aspergillus* en suero humano y en líquido de lavado broncoalveolar (BAL) con dispositivo de un solo uso aplicado a los equipos Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La aspergilosis es una infección oportunista causada por la inhalación de esporas del hongo *Aspergillus*, que se encuentra comúnmente en el medio ambiente.

Las formas invasivas, en aumento durante los últimos 10 años, causan las infecciones más graves.

El *Aspergillus* tiende a infectar espacios abiertos, como cavidades pulmonares causadas por enfermedades previas (p. ej., bronquiectasia, tumor, tuberculosis), los senos o los conductos auditivos externos. En particular, *A. fumigatus* es la causa más común de enfermedad pulmonar invasiva.

Los métodos tradicionales de diagnóstico se suelen basar en pruebas diagnósticas o radiológicas no específicas (síntomas clínicos, tomografía computarizada, radiografía de tórax, etc.). Dado que el *Aspergillus* está muy extendido en el medio ambiente, la positividad de los cultivos de esputo se puede deber a la contaminación ambiental.

La prueba para el antígeno de galactomanano en suero y líquido de lavado broncoalveolar (BAL) parece ser un método que puede respaldar el diagnóstico de aspergilosis invasiva. En la aspergilosis pulmonar invasiva, la prueba de galactomanano en BAL a menudo es la única opción para pacientes con trombocitopenia, para quienes la biopsia está contraindicada.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

La prueba está basada en el principio ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas).

El anticuerpo monoclonal específico para el antígeno está unido a la fase sólida. Durante la incubación, el antígeno presente en la muestra se une al anticuerpo monoclonal presente en fase sólida y al conjugado con peroxidasa de rábano, formando un «sándwich».

Tras varios lavados destinados a eliminar las proteínas que no han reaccionado, se añade el sustrato para peroxidasa. Después se inhibe la reacción enzimática mediante la incorporación de solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color amarillo.

Los productos de un solo uso contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus TRIO.

Los resultados se expresan en Index (OD muestra/OD cut-off).

4. PRECAUCIONES

SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados para la presencia de HBsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los reactivos y las muestras deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y, por consiguiente, deben desecharse conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Advertencias para la seguridad personal

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para limpiar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Una sola exposición a la solución de hipoclorito de sodio al 1 % de 30 minutos de duración debería bastar para garantizar una desinfección eficaz.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si hay ácido, no deberá utilizarse hipoclorito de sodio hasta que se haya secado la zona.

Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames accidentales, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos.

No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar la bolsa con los dispositivos a temperatura ambiente (18-30 °C) durante al menos 30 minutos.

Utilizar los dispositivos en los 60 minutos siguientes.

1. **Descartar los productos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**

2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Verificar la existencia de reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de reactivos o la existencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción durante la inspección visual.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.

El kit solo se puede utilizar con CHORUS TRIO con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que puede consultarse en el sitio web de Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

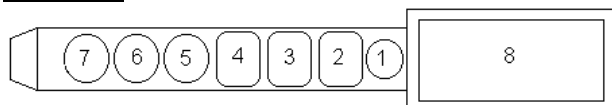
5. Comprobar que el equipo Chorus TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado al tampón de lavado (Ref. 83606)**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 7: Vacía

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpo monoclonal anti-galactomanano

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina estabilizada en tampón citrato.

Posición 3: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0.3 M

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: Anticuerpo monoclonal anti-galactomanano marcado con peroxidasa, en solución tampón fosfato que contiene fenol al 0.05 % y Bronidox al 0.02 %.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde se transfiere la muestra.

Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente, abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.950 ml

Contenido: Suero humano que contiene galactomanano y conservante. Líquido, para ser tratado como las muestras analizadas.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

2 x 1.250 ml

Contenido: Suero humano que contiene galactomanano y conservante. Líquido, para ser tratado como las muestras analizadas.

SAMPLE DILUENT

DILUYENTE DE MUESTRAS

1 x 7 ml

Contenido: solución EDTA. Líquido, listo para su uso

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio al 5 %
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos
- Vórtex
- Tubos de centrifuga de 1.5 ml
- Bloque calentador hasta 100 °C o baño maría a 100 °C.
- Centrifuga de sobremesa para tubos de 1.5 ml capaz de centrifugar a 10.000xg

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es correcto mediante el control positivo (ver capítulo 9, Validación de la prueba).

La fecha de caducidad aparece en cada componente y en la etiqueta del exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren o preparan:

	Después de abrirlos	Después del tratamiento
DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C	-
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C	5 días
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C	5 días

DILUYENTE MUESTRAS	DE	8 semanas a 2/8 °C	-
-----------------------	----	--------------------	---

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio, o de líquido de lavado broncoalveolar (BAL) que se debe recoger en solución salina estéril.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 4 días; para conservaciones más largas (hasta 3 meses) congelar a -20 °C. La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces.

Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana o por esporas de hongos, que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

La prueba CHORUS Aspergillus galactomannan Ag (REF. 81178) se puede realizar simultáneamente SOLO con las siguientes pruebas:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	REF 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	REF 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	REF 81098

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El control positivo y el calibrador deben procesarse como las muestras de suero/líquido BAL:

- Dispensar 300 µl de calibrador, de control positivo y de cada muestra en tubos de centrifuga de 1.5 ml (no suministrados)
- Añadir 100 µl de diluyente de muestras a cada tubo.
- Mezclar bien
- Calentar los tubos durante 3 minutos en un bloque calentador a 100 °C o durante 3 minutos en baño maría a 100 °C.
- Centrifugar los tubos a 10.000xg durante 10 minutos
- Extraer el sobrenadante y utilizarlo como muestra.

La muestra tratada se puede conservar durante 48 horas a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

1. Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Dispensar 75 µl de la muestra que se va a analizar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo. Utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.
4. Introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según las indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el control positivo tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario repetir la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, ponerse en contacto con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El equipo Chorus TRIO proporciona el resultado en Index (OD muestra/OD cut-off).

La prueba de la muestra puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es >1.1

NEGATIVO: cuando el resultado es <0.9

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está comprendido entre 0.9 y 1.1.

En caso de resultado dudoso o equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado sigue siendo dudoso o equívoco, repetir la extracción.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Todos los valores obtenidos deben interpretarse con atención, sin prescindir de otros indicadores del mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Fueron analizadas 4 muestras (1 Negativa, 1 en Cut-Off y 2 Positivas) a las que se añadieron los siguientes interferentes:

Factor reumatoide (44 – 110 IU/ml)

Bilirrubina (4.5 mg/dl – 18 mg/dl)

Triglicéridos (10 mg/dl – 150 mg/dl)

Hemoglobina (5 mg/ml – 15 mg/ml)

Ibuprofeno (2.19 mg/dl)

Acetaminofén (1.56 mg/dl)

Oximetazolina (1.25 mg/dl)

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero (a excepción de la hemoglobina a un nivel de 15 mg/ml) no altera el resultado de la prueba.

13. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 81 muestras, positivas para Citomegalovirus (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), Rubéola (11), Mycoplasma (4), SARS-CoV-2 (10) y ANA (25).

Además, también se analizaron suspensiones bacterianas en solución salina de Candida krusei, Candida albicans, Candida tropicalis, Candida glabrata, Saccharomyces cerevisiae, Cryptococcus neoformans y antígeno del virus SARS-CoV-2.

No se encontraron reacciones cruzadas.

14. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 305 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
	+	85	11	96
	-	6	203	209
Diesse	Total	91	214	305

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de diagnóstico):

93.4% CI_{95%}: 86.3 - 96.9

Percent Negative Agreement (~Especificidad de diagnóstico):

94.4% CI_{95%}: 91.0 - 97.1

Valor predictivo positivo: 88.5 CI_{95%}: 84.9 - 92.1

Valor predictivo negativo: 97.1 CI_{95%}: 95.2 - 99.0

El grado de concordancia entre ambos métodos es óptimo con un valor K (Coeficiente de Cohen) de 0.86.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media Index	CV %	Media Index	CV %
1	0.2	5.0	0.3	-
2	0.3	3.3	0.4	12.5
3	2.0	2.5	1.8	2.8
4	2.8	3.6	2.9	4.1
5	0.8	3.8	0.8	5.0

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media Index	CV %	Media Index	CV %
1	0.3	13.3	0.3	13.3
2	0.3	13.3	0.4	12.5
3	1.8	6.7	1.7	7.1
4	2.8	11.1	2.8	3.9
5	0.8	-	0.8	6.3

16. BIBLIOGRAFÍA

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against Aspergillus Galactomannan. Infect.Immun, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. Infect.Immun, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. Jour.Clin.Mic, May 1987. Vol 25: p.863-867



MODE D'EMPLOI

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

Pour la détermination qualitative de l'antigène galactomannane d'*Aspergillus*

Uniquement pour diagnostic in vitro

1. UTILISATION

Méthode immuno-enzymatique pour la détermination qualitative de l'antigène galactomannane d'*Aspergillus* dans le sérum humain et dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) avec un dispositif jetable appliqué aux instruments Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

L'aspergillose est une infection opportuniste causée par l'inhalation de spores fongiques d'*Aspergillus*, couramment présentes dans l'environnement.

Les formes invasives, en augmentation au cours des 10 dernières années, représentent les infections les plus graves.

L'*Aspergillus* a tendance à infecter les espaces ouverts, tels que les cavités pulmonaires causées par des maladies antérieures (par exemple, bronchectasie, tumeur, tuberculose), les sinus ou les conduits auditifs externes. En particulier, l'*A. fumigatus* est la cause la plus fréquente des maladies pulmonaires invasives.

Les méthodes traditionnelles de diagnostic reposent souvent sur des tests diagnostiques ou radiologiques non spécifiques (symptômes cliniques, tomodensitométrie, radiographie pulmonaire, etc.). Dès l'instant où l'*Aspergillus* est répandu dans l'environnement, la positivité des cultures d'expectorations peut être due à une contamination ambiantes.

Le test de l'antigène galactomannane dans le sérum et le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) semble être une méthode permettant d'étayer le diagnostic de l'aspergillose invasive. Dans l'aspergillose pulmonaire invasive, le test du galactomannane sur le LAB est souvent la seule option pour les patients atteints de thrombocytopénie, pour lesquels la biopsie est contre-indiquée.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le test repose sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, à savoir un dosage immuno-enzymatique sur support solide).

L'anticorps monoclonal spécifique pour l'antigène est lié à la phase solide. Pendant l'incubation, l'antigène présent dans l'échantillon se lie à l'anticorps monoclonal présent en phase solide et à celui conjugué à la peroxydase de raifort, formant un « sandwich ».

Après différents lavages pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, est ajouté le substrat pour la peroxydase. La réaction

enzymatique est ensuite bloquée par l'ajout de la solution de blocage qui fait virer la solution au jaune.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs nécessaires à l'exécution du test lorsqu'ils sont appliqués sur les analyseurs Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en Index (DO de l'échantillon/DO du cut-off).

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO.

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et constatées négatives pour la recherche de HbsAg et des anticorps anti-HIV-1, anti-HIV-2 et anti-HCV. Étant donné qu'aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme potentiellement infectée. Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés conformément aux normes de sécurité habituellement adoptées par le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements relatifs à la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
 2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
 3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'appareil Chorus TRIO.
 4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
 5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium afin d'obtenir une concentration finale de 1 % minimum. Une exposition à 1 % d'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection efficace.
 6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium.
- Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels déversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé.
- Ne pas mettre de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

Précautions analytiques

Avant l'utilisation, laisser le sachet contenant les dispositifs à température ambiante (18-30°C) pendant au moins 30 minutes. Utilisez les dispositifs dans un délai maximum de 60 minutes.

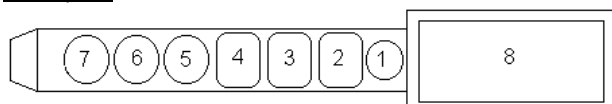
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier. Ne pas utiliser les dispositifs qui, d'après inspection visuelle, manquent d'un quelconque réactif et/ou présente des corps étrangers dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'analyseur Chorus TRIO, en respectant scrupuleusement les Instructions d'Utilisation et le Manuel de l'Utilisateur de l'appareil.
Le kit peut uniquement être utilisé avec CHORUS TRIO doté d'une version mise à jour du logiciel. S'assurer que la version du logiciel installé dans l'appareil est au moins égale, voire supérieure, à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. S'assurer que l'analyseur Chorus TRIO est correctement réglé (voir le Manuel de l'Utilisateur).
6. Ne pas altérer le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'analyseur puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'analyseur (voir Manuel de l'utilisateur).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une pollution microbienne peut être une source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption
12. **Contrôler que l'instrument est connecté au tampon de lavage (RÉF 83606)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations

DD DISPOSITIFS 6 conditionnements de 6 dispositifs chacun

Description :



Position 8 : Emplacement disponible pour l'étiquette avec code à barres

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec anticorps monoclonal anti-galactomannane

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine stabilisé dans un tampon citrate

Position 3 : SOLUTION BLOQUANTE

Contenu : Solution d'acide sulfurique 0.3 M

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : Anticorps monoclonal anti-galactomannane marqué à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol 0.05 % et Bronidox 0.02 %.

Position 1 : PUIITS VIDE

Où l'échantillon a été transféré.

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et replacer ceux non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice ; chasser l'air et fermer **hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8 °C.

CALIBRATOR CALIBREUR

1 x 0.950 ml

Contenu : Sérum humain contenant galactomannane et conservateur. Liquide, à traiter comme les échantillons analysés.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

2 x 1.250 ml

Contenu : Sérum humain contenant galactomannane et conservateur. Liquide, à traiter comme les échantillons analysés.

SAMPLE DILUENT

DILUANT ÉCHANTILLONS 1 x 7 ml

Contenu : solution EDTA. Liquide, prêt à l'emploi

AUTRE MATÉRIEL REQUIS ET NON FOURNI :

- TAMPON DE LAVAGE **REF** 83606
- SOLUTION DE NETTOYAGE 2000 **REF** 83609
- SOLUTION DÉSINFECTANTE **REF** 83604
- Analyseur Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µL.
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients de collecte des matières potentiellement infectieuses
- Vortex
- Tubes à centrifuger de 1.5 ml
- Bloc thermique jusqu'à 100 °C ou bain-marie à 100 °C.
- Centrifugeuse de table pour tubes de 1.5 ml en mesure d'obtenir 10 000 xg

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Conserver les réactifs entre 2 et 8° C. En cas de température de conservation incorrecte, le calibrage doit être répété et l'exactitude du résultat vérifiée au moyen du contrôle positif (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation :

Après ouverture

Après traitement

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C	-
CALIBREUR	8 semaines à 2/8 °C	5 jours
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C	5 jours
DILUANT D'ÉCHANTILLONS	8 semaines à 2/8 °C	-

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse et préparés selon les procédures standards de laboratoire, ou de liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) qui doit être recueilli dans une solution salin stérile.

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues (au moins jusqu'à 3 mois), congeler à -20 °C. L'échantillon peut être décongelé jusqu'à un maximum de 3 fois.

Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne ou aux spores fongiques susceptible de fausser les résultats.

8. PROCÉDURE

Le test CHORUS *Aspergillus galactomannan* Ag (RÉF. 81178) peut être effectué simultanément à d'autres tests, UNIQUEMENT s'il s'agit de tests suivants :

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	REF 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	REF 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	REF 81098

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le contrôle positif et le calibreur doivent être traités comme les échantillons de sérum/LBA :

- Pipeter 300 µl de calibreur, contrôle positif et de chaque échantillon dans des tubes à centrifuger de 1.5 ml (non fournis)
- Ajouter 100 µl de diluant d'échantillon dans chaque tube.
- Bien mélanger.
- Chauffer les tubes pendant 3 minutes dans un bloc thermique à 100 °C ou 3 minutes dans un bain-marie à 100 °C.
- Centrifuger les tubes à 10 000 xg pendant 10 minutes.
- Prélever le surnageant et l'utiliser comme échantillon.

L'échantillon traité peut être conservé pendant 48 h à 2-8 °C.

PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté de la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet fermé après avoir expulsé l'air.
2. Contrôler l'état du dispositif à l'œil nu comme indiqué au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
3. Distribuer 75 µl de échantillon à analyser dans le puits n°1 de chaque dispositif. Utiliser un dispositif pour le calibreur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'analyseur Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en le traitant comme indiqué dans le Manuel de l'Utilisateur de l'instrument. Si l'instrument indique que le contrôle a une valeur en dehors de la limite admise, renouveler le calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle reste encore en dehors des limites admises, contacter l'Assistance scientifique.

Tél. 0039 0577 319554

Télécopie : 0039 0577 366605

email : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'instrument Chorus TRIO fournit le résultat sous forme d'Index (DO de l'échantillon/DO du cut-off).

Le dosage du échantillons analysé peut être interprété comme suit :

POSITIF : quand le résultat est > 1.1

NÉGATIF : lorsque le résultat est < 0.9

DOUTEUX/AMBIGU : lorsque le résultat est compris entre 0.9 et 1.1

En cas de résultat douteux/ambigu, répéter le dosage. Si le résultat reste douteux/ambigu, répéter le prélèvement.

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues requièrent une interprétation attentive prenant en compte d'autres indicateurs relatifs au patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué avec les données de l'anamnèse du patient et/ou les données d'autres investigations diagnostiques.

12. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

4 échantillons ont été dosés (1 négatif, 1 au Cut-Off et 2 positifs) en ajoutant les substances interférentes suivantes :

Facteur rhumatoïde (44 - 110 IU/ml)

Bilirubine (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Triglycérides (10 mg/dl - 150 mg/dl)

Hémoglobine (5 mg/ml - 15 mg/ml)

Ibuprofène (2.19 mg/dl)

Acétaminophène (1.56 mg/dl)

Oxymétazoline (1.25 mg/dl)

La présence dans le sérum examiné des substances interférentes susmentionnées (à l'exception de l'hémoglobine au niveau de 15 mg/ml) n'altère pas le résultat du test.

13. RÉACTIONS CROISÉES

81 échantillons, positifs pour Citomegalovirus (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), Rosolia (11), Mycoplasma (4), SARS-CoV-2 (10), ANA (25) ont été testés.

De plus, des suspensions bactériennes en solution saline de *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* et l'antigène viral SARS-CoV-2 ont également été testées.

Aucune réaction croisée significative n'a été observée.

14. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'une étude, 305 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit commercial.

Les résultats de l'étude sont résumés ci-dessous :

Diesse		Référence		
		+	-	Total
	+	85	11	96
	-	6	203	209
Total		91	214	305

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

93.4% CI_{95%}: 86.3 - 96.9

Percent Negative Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

94.4% CI_{95%}: 91.0 - 97.1

Valeur prédictive positive : 88.5 CI_{95%}: 84.9 - 92.1

Valeur prédictive négative : 97.1 CI_{95%}: 95.2 - 99.0

Le degré de concordance entre les deux méthodes s'avère optimal avec un coefficient Kappa (coefficient de Cohen) de 0.86.

15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Entre les séances	
	Moyenne Indice	CV %	Moyenne Indice	CV %
1	0.2	5.0	0.3	-
2	0.3	3.3	0.4	12.5
3	2.0	2.5	1.8	2.8
4	2.8	3.6	2.9	4.1
5	0.8	3.8	0.8	5.0

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne Indice	CV %	Moyenne Indice	CV %
1	0.3	13.3	0.3	13.3
2	0.3	13.3	0.4	12.5
3	1.8	6.7	1.7	7.1
4	2.8	11.1	2.8	3.9
5	0.8	-	0.8	6.3

16. BIBLIOGRAPHIE

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against Aspergillus Galactomannan. Infect.Immun, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. Infect.Immun, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. Jour.Clin.Mic, May 1987. Vol 25: p.863-867



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

**Para a determinação qualitativa do antígeno
Galactomanano de *Aspergillus***

Apenas para uso diagnóstico in vitro

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa do antígeno *Aspergillus* galactomannano em soro humano e fluido de lavagem broncoalveolar (BAL) com um dispositivo de utilização única aplicado aos instrumentos Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A aspergilose é uma infecção oportunista causada pela inalação de esporos fúngicos de *Aspergillus*, que se encontram normalmente no ambiente.

As formas invasivas, que têm aumentado nos últimos 10 anos, representam as infecções mais graves.

O *Aspergillus* tende a infectar espaços abertos, tais como cavidades pulmonares resultantes e doenças anteriores (por exemplo, bronquiectasias, cancro, tuberculose), seios nasais, ou canais auditivos externos. Em particular, *A. fumigatus* é a causa mais frequente de doença pulmonar invasiva.

Os métodos tradicionais de diagnóstico baseiam-se frequentemente em testes diagnósticos ou radiológicos não específicos (sintomas clínicos, TAC, radiografia ao tórax, etc.). Uma vez que o *Aspergillus* está presente no ambiente, as culturas de saliva podem resultar positivas devido à contaminação do ambiente.

O teste do antígeno galactomanano no soro e no fluido de lavagem broncoalveolar (BAL) parece ser um método capaz de suportar o diagnóstico de aspergilose invasiva. Na aspergilose pulmonar invasiva, o teste de galactomanano em BAL é frequentemente a única opção para doentes com trombocitopenia, para os quais a biópsia está contraindicada.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

O anticorpo monoclonal específico para o antígeno liga-se à fase sólida. Durante a incubação, o antígeno presente na amostra liga-se ao anticorpo monoclonal presente na fase sólida e ao anticorpo conjugado com peroxidase de rábano, formando uma espécie de "sanduíche".

Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, adiciona-se o substrato para a peroxidase. A reação enzimática é posteriormente bloqueada pela adição da Solução Bloqueadora devido à qual a solução fica amarela.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos Chorus TRIO.

Os resultados são expressos em Index (OD amostra/OD cut-off)

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contém materiais de origem humana testados e encontrados negativos quer para HBsAg quer para os anticorpos anti-VIH 1, anti-VIH 2 e anti-VHC. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infectado. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação dos resíduos: amostras, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infectados e, portanto, eliminados de acordo com as normas de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a ficha de segurança (disponível a pedido).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Exposição a hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 minutos, deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infectado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se houver algum ácido presente, o hipoclorito de sódio não deve ser usado antes da referida área estar seca.

Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infectados.

Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes da utilização, deixar o saco que contém os dispositivos à temperatura ambiente (18-30 °C) durante pelo menos 30 minutos.

Utilizar os dispositivos dentro de 60 minutos.

1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.

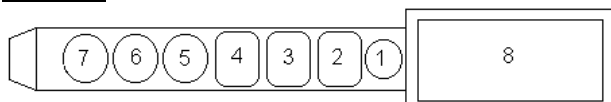
3. Verificar a presença efetiva de reagentes no dispositivo e a integridade deste último. Não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.
O uso do kit só é possível apenas com o CHORUS TRIO com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou é superior à Release (Rel.) mostrada na tabela publicada no site da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras imperfeitos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipêmicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade
12. **Verificar se o instrumento tem ligação estabelecida com a Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com anticorpos monoclonais anti-galactomanano

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina estabilizada em tampão citrato

Posição 3: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: Solução de ácido sulfúrico a 0.3 M

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: Anticorpos monoclonais anti-galactomanano marcado com peroxidase, em solução tampão de fosfato contendo fenol 0.05% e Bronidox 0.02%

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde a amostra é transferida.

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém sílica-gel, expulsar o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.950 ml**

Conteúdo: Soro humano contendo galactomanano e conservante. Líquido, a ser tratado como amostras de teste.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO **2 x 1.250 ml**

Conteúdo: Soro humano contendo galactomanano e conservante. Líquido, a ser tratado como amostras de teste.

SAMPLE DILUENT DILUENTE DE AMOSTRA **1 x 7 ml**

Conteúdo: solução de EDTA. Líquido, pronto a usar

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Instrumento Chorus TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infectados
- Vortex
- Tubos de centrifugação de 1.5 ml
- Termobloco até 100°C ou banho-maria a 100 °C.
- Centrífuga de bancada para tubos de 1.5 ml capaz de atingir 10 000 xg

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8°C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do controlo positivo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo exterior da embalagem.

Após abertura e/ou preparação, os reagentes têm estabilidade limitada:

	Após abertura	Após tratamento
DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C	-
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C	5 dias
CONTROLLO POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C	5 dias
DILUENTE PARA AMOSTRAS	8 semanas a 2/8 °C	-

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório ou por fluido de lavagem broncoalveolar (BAL) que deve ser recolhido em solução salina estéril.

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados (pelo menos até 3 meses), congelar a -20°C. A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação microbiana ou por esporos fúngicos, que podem gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

O teste CHORUS Aspergillus galactomannan Ag (REF 81178) pode ser realizado em simultâneo SOMENTE com os seguintes testes:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	REF 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	REF 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	REF 81098

PREPARAZIONE AMOSTRAS

O Controlo Positivo e o Calibrador devem ser processados da mesma forma que as amostras de soro/fluido BAL:

- Pipetar 300 µl de Calibrador, Controlo Positivo e de cada amostra em tubos de centrifugação de 1.5 ml (não fornecidos)
- Adicionar 100 µl de Diluente Amostra a cada tubo.
- Misturar bem
- Aquecer os tubos durante 3 minutos num termobloco a 100 °C ou 3 minutos em banho-maria a 100 °C.
- Centrifugar os tubos a 10 000xg durante 10 minutos
- Retirar o sobrenadante e utilizá-lo como amostra.

A amostra tratada pode ser armazenada durante 48 h a 2-8 °C.

PROCEDIMENTO

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo 75 µl de amostra a analisar. A cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste como indicado no Manual do Utilizador do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controlo positivo, para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o controlo positivo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar a Assistência Científica.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus TRIO fornece o resultado em Index (OD amostra/OD cut-off).

O teste da amostra em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for > 1.1

NEGATIVO: quando o resultado for <0.9

DÚBIO/EQUÍVOCO: quando o resultado estiver entre 0.9 e 1.1

Se o resultado for dúbio/equívoco, repetir o teste. Se o resultado continuar dúbio/equívoco, repetir a colheita.

11. LIMITES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa que não prescindia de outros indicadores relativos ao mesmo doente.

O teste, de facto, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados provenientes da anamnese do doente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 4 amostras (1 Negativas, 1 a Cut-Off e 2 Positivas) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44-110 UI/ml)
Bilirrubina (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl - 150 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 15 mg/ml)
Ibuprofeno (2.19 mg/dl)
Acetaminofeno (1.56 mg/dl)
Oximetazolina (1.25 mg/dl)

A presença no soro examinado das substâncias interferentes acima referidas (com a exceção da hemoglobina ao nível 15 mg/ml) não altera o resultado do teste.

13. REATIVIDADE CRUZADA

Foram testadas 81 amostras, positivas para Citomegalovírus (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), Rubéola (11), Micoplasma (4), SARS-CoV-2 (10), ANA (25).

Foram também testadas as suspensões bacterianas em solução salina de Candida krusei, Candida albicans, Candida tropicalis, Candida glabrata, Saccharomyces cerevisiae, Cryptococcus neoformans e o antígeno viral SARS-CoV-2.

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 305 amostras com kit Diesse e com outro kit disponível no mercado.

Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

Referência

		+	-	Total
Diesse	+	85	11	96
	-	6	203	209
	Total	91	214	305

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade de diagnóstico):

93.4% CI_{95%}: 86.3 - 96.9

Percent Negative Agreement: (~Especificidade de diagnóstico):

94.4% CI_{95%}: 91.0 - 97.1

Valor Preditivo Positivo: 88.5 CI_{95%}: 84.9 - 92.1

Valor Preditivo Negativo: 97.1 CI_{95%}: 95.2 - 99.0

O grau de concordância entre os dois métodos é ótimo com valor de K (Coeficiente de Cohen) igual a 0.86.

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média Índice	CV%	Média Índice	CV%
1	0.2	5.0	0.3	-
2	0.3	3.3	0.4	12.5
3	2.0	2.5	1.8	2.8
4	2.8	3.6	2.9	4.1
5	0.8	3.8	0.8	5.0

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média Índice	CV%	Média Índice	CV%
1	0.3	13.3	0.3	13.3
2	0.3	13.3	0.4	12.5
3	1.8	6.7	1.7	7.1
4	2.8	11.1	2.8	3.9
5	0.8	-	0.8	6.3

16. BIBLIOGRAFIA

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against Aspergillus Galactomannan. Infect.Immun, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. Infect.Immun, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. Jour.Clin.Mic, May 1987. Vol 25: p.863-867



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

**Pentru determinarea calitativă a antigenului
galactomannan de *Aspergillus***

Numai pentru diagnosticare in vitro

1. UTILIZARE

Metodă imunoenzimatică pentru determinarea calitativă a antigenului galactomannan de *Aspergillus* în serul uman și în lichidul de lavaj bronhoalveolar (BAL) cu ajutorul unui dispozitiv de unică folosință aplicat la instrumentele Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Aspergiloza este o infecție oportunistă cauzată de inhalarea sporilor fungici *Aspergillus*, întâlniți frecvent în mediul înconjurător.

Formele invazive, care au crescut în ultimii 10 ani, reprezintă cele mai grave infecții.

Aspergillus tinde să infecteze spațiile deschise, cum ar fi cavitățile pulmonare cauzate de afecțiuni anterioare (de exemplu, bronșiectazie, cancer, tuberculoză), sinusurile sau canalele auditive externe. În special, *A. fumigatus* reprezintă cea mai frecventă cauză a bolii pulmonare invazive.

Metodele tradiționale de diagnostic se bazează adesea pe teste diagnostice sau radiologice nespecifice (simptome clinice, tomografie computerizată, radiografie toracică etc.). Deoarece *Aspergillus* este răspândit în mediul înconjurător, culturile pozitive de spută se pot datora contaminării mediului.

Testarea antigenului galactomannan în ser și în lichidul de lavaj bronhoalveolar (BAL) pare a fi o metodă care poate ajuta la diagnosticarea aspergilozei invazive. În aspergiloza pulmonară invazivă, testarea galactomannanului în BAL este adesea singura opțiune pentru pacienții cu trombocitopenie, pentru care biopsia este contraindicată.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul se bazează pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Anticorpus monoclonal specific pentru antigen este legat de faza solidă. În timpul incubăției, antigenul prezent în probă se leagă de anticorpus monoclonal prezent în faza solidă și de cel conjugat cu peroxidază de hrean, formând un „sandwich”.

După spălări, pentru a îndepărta proteinele care nu au reacționat, se adaugă substratul pentru peroxidază. Reacția enzimatică este blocată ulterior pentru adăugarea Soluției de Blocare care îngălbenește soluția.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului când sunt aplicate la instrumentele Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în Index (probă OD/cut-off OD)

4. PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și s-au dovedit negative atât pentru prezența HBsAg, cât și pentru prezența anticorpilor împotriva HIV-1, HIV-2 și HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o asigurare completă privind lipsa agenților infecțioși, orice material de origine umană ar trebui considerat ca fiind potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele în materie de siguranță adoptate în mod normal în laborator.

Eliminarea reziduurilor: probele, calibratoarele și benzile folosite trebuie tratate ca reziduuri contaminate și prin urmare, trebuie eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele.
3. Spălați-vă bine mâinile după introducerea dispozitivelor în instrumentul Chorus TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă la cerere).
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu într-un volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la hipoclorit de sodiu 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfecție eficientă.
6. Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă este prezent un acid, hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat până când zona nu a fost uscată.
Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase.
Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, aduceți punga care conține dispozitivele la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute. Utilizați dispozitivele în interval de 60 de minute.

1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența efectivă a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză. Nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi și/sau corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul Chorus TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.

Utilizarea kitului este posibilă numai cu CHORUS TRIO cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument coincide sau are o Versiune (Ver.) mai recentă decât cea prezentată în tabelul publicat pe site-ul Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

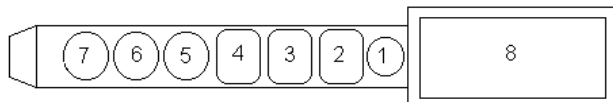
5. Verificați dacă instrumentul Chorus TRIO este setat corect (vezi Manualul de utilizare).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului, pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de utilizare).
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. O sursă de erori ar putea fi reprezentată de utilizarea de probe puternic hemolizate, lipemice, icterice, ser incomplet coagulat sau de probe cu contaminare microbiană.
11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare
12. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare (Ref. 83606)**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 8: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 7: Goală

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ

Sensibilizat cu anticorp monoclonal anti-galactomannan

Poziția 5: GODEU DE MICROPLACĂ

Nesensibilizat.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină stabilizată în tampon citrat

Poziția 3: SOLUȚIE DE BLOCARE

Conținut: Soluție de acid sulfuric 0,3 M

Poziția 2: CONJUGAT

Conținut: Anticorp monoclonal anti-galactomannan marcat cu peroxidază, în soluție tamponată cu fosfat care conține 0,05% fenol și 0,02% Bronidox

Poziția 1: GODEU GOL

Unde este transferată proba.

Utilizare: echilibrați o pungă la temperatura camerei, deschideți punga și scoateți dispozitivele necesare; introduceți-le pe celelalte la loc în punga care conține silicagel, lăsați aerul să iasă și **sigilați** apăsând pe închidere. A se păstra la 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,950 ml

Conținut: Ser uman care conține galactomannan și conservant. Lichid, de tratat la fel ca probele examinate.

CONTROL + CONTROL POZITIV 2 x 1,250 ml

Conținut: Ser uman care conține galactomannan și conservant. Lichid, de tratat la fel ca probele examinate.

SAMPLE DILUENT DILUANT PROBE 1 x 7 ml

Conținut: soluție EDTA. Lichid, gata de utilizare

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Instrumentul Chorus TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticla normală de laborator: cilindri, eprubete etc.
- Micropipete capabile să extragă cu precizie volume de 50-200 µl.
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu 5%
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate
- Vortex
- Eprubete pentru centrifugă de 1,5 ml
- Bloc termic până la 100°C sau baie de apă la 100°C.
- Centrifugă de banc pentru eprubete de 1,5 ml capabilă să obțină 10.000 xg

6. METODE DE PĂSTRARE ȘI STABILITATE A REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi de depozitare incorecte, calibrarea trebuie repetată și trebuie verificată corectitudinea rezultatului prin intermediul controlului pozitiv (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta exterioară a ambalajului.

Reactivii au stabilitate limitată după deschidere și/sau preparare:

	După deschidere	După tratament
DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8°C	-
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8°C	5 zile
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8°C	5 zile
DILUANT PROBE	8 săptămâni la 2/8°C	-

7. TIPUL DE PROBE ȘI DEPOZITARE

Tipul de probă constă în serul obținut din sângele recoltat prin puncție venoasă normală și manipulat în conformitate cu cerințele cuprinse în procedurile standard de laborator, sau în lichidul de lavaj bronhoalveolar (BAL) care trebuie colectat în soluție salină sterilă.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 4 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare (de până la cel puțin 3 luni), congelați-l la -20°C. Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări.

Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. După decongelare, agitați cu atenție proba înainte de dozare.

Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană sau cu spori fungici, care poate conduce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

Testul CHORUS Aspergillus galactomannan Ag (REF 81178) poate fi efectuat simultan NUMAI cu următoarele teste:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	REF 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	REF 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	REF 81098

PREGĂTIREA PROBELOR

Controlul pozitiv și Calibratorul trebuie procesate la fel ca probele de ser/fluid BAL:

- Pipetați 300 µl de Calibrator, de Control Pozitiv și de fiecare probă în eprubete de centrifugă de 1,5 ml (nu sunt furnizate)
- Adăugați în fiecare eprubetă 100 µl de Diluant pentru Probe.
- Amestecați bine
- Încălziți eprubetele timp de 3 minute într-un bloc termic la 100°C sau 3 minute într-o baie de apă la 100°C.
- Centrifugați eprubetele la 10.000xg timp de 10 minute
- Colectați supernatantul și utilizați-l ca probă.

Proba tratată poate fi păstrată timp de 48 de ore la 2-8°C.

PROCEDURA

1. Deschideți punga (partea care conține sigiliul de presiune), scoateți numărul de dispozitive necesare efectuării testelor și păstrați-le pe celelalte închizând punga la loc după eliberarea aerului.
2. Verificați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Distribuiți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv 75 µl de probă pentru a fi analizată. La fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.
4. Introduceți dispozitivele pe instrumentul Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesar) și testarea după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l așa cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că controlul pozitiv are o valoare în afara limitei acceptabile, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

Dacă rezultatul controlului pozitiv continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați Serviciul de asistență științifică.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul Chorus TRIO oferă rezultatul în Index (OD probă/cut-off OD).

Testul pe proba examinată poate fi interpretat astfel:

POZITIV: când rezultatul este > 1,1

NEGATIV: când rezultatul este < 0,9

ÎNDOIELNIC/ECHIVOC: când rezultatul este cuprins între 0,9 și 1,1

În cazul unui rezultat îndoielnic/echivoc, repetați testul. Dacă rezultatul rămâne îndoielnic/echivoc, repetați prelevarea.

11. LIMITĂRILE TESTULUI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă, care nu trebuie să facă abstracție de alți indicatori referitori la același pacient.

De fapt, testul nu poate fi folosit singur pentru un diagnostic clinic iar rezultatul obținut trebuie să fie evaluat întotdeauna împreună cu datele obținute din anamneza pacientului și/sau din alte investigații diagnostice.

12. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 4 probe (1 Negativă, 1 cu Cut-Off și 2 Pozitive) la care s-au adăugat următorii interferenți:

Factorul reumatoid (44 – 110 UI/ml)

Bilirubină (4,5 mg/dl – 18 mg/dl)

Trigliceride (10 mg/dl – 150 mg/dl)

Hemoglobină (5 mg/ml – 15 mg/ml)

Ibuprofen (2,19 mg/dl)

Acetaminofen (1,56 mg/dl)

Oximetazolină (1,25 mg/dl)

Prezența în serul examinat a substanțelor interferente de mai sus (cu excepția hemoglobinei la nivelul de 15 mg/ml) nu modifică rezultatul testului.

13. CROS-REACTIVI

Au fost testate 81 de probe, pozitive la Citomegalovirus (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), Rosolia (11), Mycoplasma (4), SARS-CoV-2 (10), ANA (25)

În plus, au fost testate suspensii bacteriene în soluție salină de Candida krusei, Candida albicans, Candida Tropicalis, Candida glabrata, Saccharomyces cerevisiae, Cryptococcus neoformans și antigen viral SARS-CoV-2.

Nu au fost detectate reacții încrucișate.

14. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment au fost analizate 305 probe cu kitul Diesse și cu un alt kit disponibil în comerț.

În continuare sunt prezentate pe scurt datele obținute în urma experimentului:

		Referință		
		+	-	Total
Diesse	+	85	11	96
	-	6	203	209
	Total	91	214	305

Procent de acord pozitiv (~Sensibilitate de Diagnostic):

93,4% CI_{95%}: 86,3 - 96,9

Procent de acord negativ (~Specificitate de Diagnostic):

94,4% CI_{95%}: 91,0 - 97,1

Valoare predictivă pozitivă: 88,5 CI_{95%}: 84,9 - 92,1

Valoare predictivă negativă: 97,1 CI_{95%}: 95,2 - 99,0

Gradul de concordanță între cele două metode este optim cu o valoare a K (Coeficientul lui Cohen) de 0,86

15. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În timpul ședinței		Între ședințe	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0,2	5,0	0,3	-
2	0,3	3,3	0,4	12,5
3	2,0	2,5	1,8	2,8
4	2,8	3,6	2,9	4,1
5	0,8	3,8	0,8	5,0

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0,3	13,3	0,3	13,3
2	0,3	13,3	0,4	12,5
3	1,8	6,7	1,7	7,1
4	2,8	11,1	2,8	3,9
5	0,8	-	0,8	6,3

16. BIBLIOGRAFIE

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against Aspergillus Galactomannan. Infect.Immun, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. Infect.Immun, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. Jour.Clin.Mic, May 1987. Vol 25: p.863-867



INSTRUKCJA OBSŁUGI

CHORUS ASPERGILLUS GALACTOMANNAN Ag

Do jakościowego oznaczania antygenu galaktomannanu z *Aspergillus*

Wyłącznie do użytku w diagnostyce in vitro

1. ZASTOSOWANIE

Metoda immunoenzymatyczna do jakościowego oznaczania antygenu galaktomannanu z *Aspergillus* w ludzkiej surowicy i płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) za pomocą jednorazowego urządzenia zastosowanego w aparatach Chorus TRIO.

2. WPROWADZENIE

Aspergiloza jest oportunistyczną infekcją spowodowaną wdychaniem zarodników grzybów *Aspergillus*, powszechnie występujących w środowisku.

Formy inwazyjne, których liczba wzrasta w ciągu ostatnich 10 lat, stanowią najpoważniejsze infekcje.

Aspergillus ma tendencję do infekowania otwartych przestrzeni, takich jak jamy płucne spowodowane wcześniejszymi chorobami (np. rozstrzenie oskrzeli, nowotwory, gruźlica), zatoki lub przewody słuchowe zewnętrzne. W szczególności *A. fumigatus* jest najczęstszą przyczyną inwazyjnej choroby płuc.

Tradycyjne metody diagnozowania często opierają się na niespecyficznych dowodach diagnostycznych lub radiologicznych (objawy kliniczne, tomografia komputerowa, prześwietlenie klatki piersiowej itp.). Ponieważ *Aspergillus* jest szeroko rozpowszechniony w środowisku, dodatnie posiewy płwociny mogą być spowodowane zanieczyszczeniem środowiska.

Badanie antygenu galaktomannanu w surowicy i płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) wydaje się być metodą, która może pomóc w rozpoznaniu inwazyjnej aspergilozy. W inwazyjnej aspergiliozie płucnej test galaktomannanu w BAL jest często jedyną opcją dla pacjentów z małopłytkowością, u których biopsja jest przeciwwskazana.

3. ZASADA METODY

Test oparty jest na technice ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Specyficzne dla antygenu przeciwciała monoklonalne jest związane z fazą stałą. Podczas inkubacji antygen w próbce wiąże się z przeciwciałem monoklonalnym obecnym w fazie stałej oraz z przeciwciałem sprzężonym z peroksydazą chrzanową, tworząc „kanapkę”.

Po przemyciu w celu usunięcia nieprzereagowanych białek dodawany jest substrat dla peroksydazy. Reakcja enzymatyczna jest następnie blokowana przez dodanie roztworu blokującego, który zmienia kolor roztworu na żółty.

Wyroby jednorazowe zawierają wszystkie odczynniki do badań w aparatach Chorus TRIO.

Wyniki są wyrażone w indeksie (OD próbki/OD cut-off)

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU W DIAGNOSTYCE IN VITRO.

Ten zestaw zawiera materiały pochodzenia ludzkiego, które zostały przetestowane i uznane za ujemne zarówno dla HBsAg, jak i przeciwciał anty-HIV-1, anty-HIV-2 i anty-HCV. Ponieważ żaden test diagnostyczny nie może dać całkowitej gwarancji braku czynników zakaźnych, każdy materiał pochodzenia ludzkiego należy uznać za potencjalnie zakażony. Ze wszystkimi odczynnikami i próbkami należy obchodzić się zgodnie z zasadami bezpieczeństwa przyjętymi zwykle w laboratorium.

Usuwanie pozostałości: zużyte próbki, kalibratory i paski należy traktować jak zakażone pozostałości, a następnie usunąć zgodnie z przepisami.

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

1. Nie należy pipetować ustami.
 2. Podczas pracy z próbkami należy używać jednorazowych rękawic i ochrony oczu.
 3. Po włożeniu wyrobu do aparatu Chorus TRIO należy dokładnie umyć ręce.
 4. W celu zapoznania się z charakterystyką bezpieczeństwa odczynników zawartych w zestawie należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki (dostępna na życzenie).
 5. Zneutralizowane kwasy i inne odpady płynne należy zdezynfekować przez dodanie podchlorynu sodu w ilości wystarczającej do uzyskania końcowego stężenia co najmniej 1%. Ekspozycja na 1% podchloryn sodu przez 30 minut powinna być wystarczająca do zapewnienia skutecznej dezynfekcji.
 6. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy odkazić, np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru.
- Wszystkie materiały użyte do odkażania przypadkowych wycieków, w tym rękawice, muszą być wyrzucone jako odpady potencjalnie zakażone.
- Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

Przed użyciem należy doprowadzić torbę zawierającą wyroby do temperatury pokojowej (18-30°C) przez co najmniej 30 minut.

Wyroby należy zużyć w ciągu 60 minut.

1. **Wyrzucić wyroby z substratem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko.**
2. Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie rozprowadzona na dnie.
3. Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w wyrobie oraz stan samego urządzenia. Nie należy używać wyrobów, które przy kontroli wzrokowej wykazują brak jakiegokolwiek odczynnika i/lub ciał obcych w studzienice reakcyjnej.

4. Wyroby muszą być używane w połączeniu z aparatem Chorus TRIO, ściśle przestrzegając Instrukcji obsługi aparatu oraz Instrukcji dla użytkownika.

Korzystanie z zestawu jest możliwe tylko z CHORUS TRIO z zaktualizowaną wersją oprogramowania.

Upewnić się, że oprogramowanie zainstalowane w wyrobie jest zgodne lub ma wersję Release (Rel.) wyższą niż w tabeli opublikowanej na stronie internetowej Diesse.

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

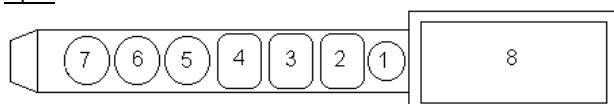
5. Sprawdzić, czy aparat Chorus TRIO jest ustawiony prawidłowo (patrz Instrukcja obsługi).
6. Nie należy zmieniać kodu kreskowego na uchwycie urządzenia, aby umożliwić jego prawidłowy odczyt przez urządzenie.
7. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek.
8. Wadliwe kody kreskowe mogą być ręcznie wprowadzone do urządzenia (patrz Instrukcja obsługi).
9. Podczas przechowywania i użytkowania nie należy narażać urządzeń na działanie silnego światła lub oparów podchlorynu.
10. Stosowanie silnie zhemolizowanej, lipemicznej, żółtaczkowej, niekompletnie zakrzepłej surowicy lub próbek skażonych mikrobiologicznie może być źródłem błędów.
11. Nie należy używać wyrobu po upływie terminu ważności.
12. **Sprawdzić, czy aparat ma połączenie z Washing Buffer (Odn. 83606)**

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na 36 oznaczeń

DD WYROBY 6 opakowania po 6 wyrobów w każdym

Opis:



Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: Puste

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ

Uczulona przeciwciałem monoklonalnym przeciwko galaktomannanowi

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ

Nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

Zawartość: Tetrametylobenzodyna stabilizowana w buforze cytrynianowym

Pozycja 3: ROZTWÓR BLOKUJĄCY

Zawartość: Roztwór kwasu siarkowego 0,3 M

Pozycja 2: SKONIUGOWANY

Zawartość: Znakowane peroksydazą przeciwciała monoklonalne przeciwko galaktomannanowi w roztworze buforowanym fosforanem zawierającym fenol 0,05% i Bronidox 0,02%.

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA

Gdzie jest przenoszona próbka.

Sposób użycia: doprowadzić kopertę do temperatury pokojowej, otworzyć kopertę, wyjąć wymagane wyroby; pozostałe umieścić w kopercie zawierającej żel krzemionkowy, wypuścić powietrze i **zakleić**, naciskając na zamknięcie. Przechowywać w temperaturze 2/8°C.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.950 ml

Zawartość: Ludzka surowica zawierająca galaktomannan i środek konserwujący. Płyn, który należy traktować w taki sam sposób jak próbki testowe.

CONTROL + KONTROLA DODATNIA 2 x 1.250 ml

Zawartość: Ludzka surowica zawierająca galaktomannan i środek konserwujący. Płyn, który należy traktować w taki sam sposób jak próbki testowe.

SAMPLE DILUENT ROZCIEŃCZALNIK DO PRÓBEK 1 x 7 ml

Zawartość: roztwór EDTA. Płyn, gotowy do użycia.

INNE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE MATERIAŁY:

- WASHING BUFFER **ODN.** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **ODN.** 83609
- SANITIZING SOLUTION **ODN.** 83604
- Aparat Chorus TRIO
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykłe szkło laboratoryjne: cylindry, próbki itp.
- Mikropipety umożliwiające dokładne pobieranie objętości 50-200 µl.
- Rękawice jednorazowe
- 5% roztwór podchlorynu sodu
- Pojemniki do zbierania potencjalnie zakażonych materiałów
- Vortex
- Probówki wirówkowe o pojemności 1,5 ml
- Blokada termiczna do 100°C lub bimar w temperaturze 100°C.
- Wirówka stacjonarna do probówek o pojemności 1,5 ml o prędkości 10 000xg

6. PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW

Odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2/8°C. W przypadku nieprawidłowej temperatury przechowywania należy powtórzyć kalibrację i sprawdzić poprawność wyniku za pomocą kontroli pozytywnej (patrz rozdział 9: Walidacja badania).

Data ważności jest wydrukowana na każdym elemencie oraz na zewnętrznej etykiecie opakowania.

Odczynniki mają ograniczoną stabilność po otwarciu i/lub przygotowaniu:

	Po otwarciu	Po zabiegu
WYROBY	8 tygodni w temperaturze 2/8°C	-
KALIBRATOR	8 tygodni w temperaturze 2/8°C	5 dni
KONTROLA DODATNIA	8 tygodni w temperaturze 2/8°C	5 dni

ROZCIEŃCZALNIK PRÓBEK	DO	8 tygodni w temperaturze 2/8°C	-
--------------------------	----	-----------------------------------	---

7. RODZAJ PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

Typ próbki to surowica uzyskana z krwi pobranej przez normalne nakłucie żyły i traktowana zgodnie ze standardowymi procedurami laboratoryjnymi lub płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL), który należy pobrać w sterylnym roztworze soli fizjologicznej.

Świeża surowica może być przechowywana przez 4 dni w temperaturze 2/8°C; w przypadku dłuższego okresu przechowywania (co najmniej 3 miesiące) należy ją zamrozić w temperaturze -20°C. Próbkę może być poddana maksymalnie 3 rozmrożeniom.

Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek. Po rozmrożeniu, przed dozowaniem należy dokładnie wstrząsnąć próbką.

Na jakość próbki może poważnie wpływać zanieczyszczenie mikrobiologiczne lub zarodniki grzybów, co może prowadzić do błędnych wyników.

8. PROCEDURA

Test CHORUS Aspergillus galaktomannan Ag (REF 81178) może być wykonywany WYŁĄCZNIE jednocześnie z następującymi testami:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY	ODN. 81092
CHORUS RUBELLA IgG AVIDITY	ODN. 81095
CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY	ODN. 81098

PRZYGOTOWYWANIE PRÓBK

Kontrola pozytywna i kalibrator muszą być przetwarzane w taki sam sposób jak próbki surowicy/płynu BAL:

- Odmierzyć pipetą 300 µl kalibratora, kontroli pozytywnej i każdej próbki do probówek wirówkowych o pojemności 1,5 ml (nieufornowanych).
- Dodać 100 µl rozcieńczalnika do próbek do każdej probówki.
- Dobrze wymieszać.
- Podgrzewać probówki przez 3 minuty w bloku termicznym w temperaturze 100°C lub przez 3 minuty w kąpielii wodnej w temperaturze 100°C.
- Wirować probówki z prędkością 10 000xg przez 10 minut.
- Pobrać supernatant i użyć go jako próbki.

Przetworzona próbka może być przechowywana przez 48 godzin w temperaturze 2-8°C.

PROCEDURA

- Otworzyć kopertę (strona zawierająca zamknięcie zaciskowe), wyjąć wyroby potrzebne do wykonania badań, a pozostałe zachować, zamykając ponownie kopertę po wypuszczeniu powietrza.
- Wzrokowo sprawdzić stan urządzenia zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale 4 Ostrzeżenia analityczne.
- Dozować 75 µl analizowanej próbki do studzienki nr 1 każdego wyrobu. Przy każdej zmianie partii należy użyć kalibratora.
- Umieścić wyroby na aparacie Chorus TRIO. Przeprowadzić kalibrację (jeśli jest wymagana) i test zgodnie z Instrukcją obsługi aparatu.

9. WALIDACJA BADANIA

Użyć kontroli dodatniej do sprawdzenia poprawności uzyskanego wyniku poprzez przetworzenie go zgodnie z instrukcją obsługi aparatu. Jeśli aparat wskaże, że wartość kontroli dodatniej znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, należy ponownie przeprowadzić kalibrację. Poprzednie wyniki zostaną skorygowane automatycznie.

Jeśli wynik kontroli dodatniej nadal znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, należy się skontaktować z Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Faks: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACJA BADANIA

Aparat Chorus TRIO podaje wynik w Index (OD próbki/OD cut-off).

Badanie na badanej próbce można zinterpretować w następujący sposób:

DODATNI: gdy wynik jest > 1.1

UJEMNY: gdy wynik jest < 0,9

WĄTPLIWY/NIEJEDNOZNACZNY: gdy wynik jest pomiędzy 0,9 a 1,1

W przypadku wątpliwego/niejednoznacznego wyniku badanie należy powtórzyć. Jeśli wynik pozostaje wątpliwy/niejednoznaczny, należy powtórzyć pobieranie próbek.

11. OGRANICZENIA BADANIA

Wszystkie uzyskane wartości wymagają ostrożnej interpretacji bez pomijania innych wskaźników dotyczących tego samego pacjenta.

Badanie nie może być stosowane samodzielnie do diagnozy klinicznej, a wynik badania musi być oceniany łącznie z danymi z wywiadu z pacjentem i/lub innymi badaniami diagnostycznymi.

12. SWOISTOŚĆ ANALITYCZNA

Przebadano 4 próbki (1 negatywna, 1 Cut-Off i 2 pozytywne), do których dodano następujące interferenty:

Czynnik reumatoidalny (44 – 110 IU/ml)

Bilirubina (4,5 mg/dl - 18 mg/dl)

Trójglicerydy (10 mg/dl - 150 mg/dl)

Hemoglobina (5 mg/ml - 15 mg/ml)

Ibuprofen (2,19 mg/dl)

Acetaminofen (1,56 mg/dl)

Oksymetazolina (1,25 mg/dl)

Obecność powyższych substancji zakłócających w badanej surowicy (z wyjątkiem hemoglobiny na poziomie 15 mg/ml) nie zmienia wyniku badania.

13. REAKCJA KRZYŻOWA

Przebadano 81 próbek, dodatnich w kierunku wirusa cytomegalii (11), Toxoplasma (10), Treponema (10), różyczki (11), Mycoplasma (4), SARS-CoV-2 (10), ANA (25).

Przebadano również zawiesiny bakterii *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* i antygeny wirusowego SARS-CoV-2 w roztworze soli fizjologicznej.

Nie wykryto żadnych istotnych reakcji krzyżowych.

14. BADANIA PORÓWNAWCZE

W jednym badaniu 305 próbek zostało przeanalizowanych za pomocą zestawów Diesse i innego komercyjnego zestawu.

Poniżej przedstawiono zarys danych eksperymentalnych:

		Odnosnik		
		+	-	Razem
Diesse	+	85	11	96
	-	6	203	209
	Razem	91	214	305

Percent Positive Agreement (~Czułość diagnostyczna):

93,4% CI_{95%}: 86.3 - 96.9

Percent Negative Agreement: (~swoistość diagnostyczna):

94,4% CI_{95%}: 91.0 - 97.1

Dodatnia wartość predykcyjna: 88.5 CI_{95%}: 84.9 - 92.1

Ujemna wartość predykcyjna: 97.1 CI_{95%}: 95.2 - 99.0

Stopień zgodności pomiędzy obiema metodami jest doskonały z wartością K (Cohen's Coefficient) wynoszącą 0,86.

15. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ

Próbka	W ramach sesji		Między sesjami	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.2	5.0	0.3	-
2	0.3	3.3	0.4	12.5
3	2.0	2.5	1.8	2.8
4	2.8	3.6	2.9	4.1
5	0.8	3.8	0.8	5.0

Próbka	Między partiami		Między przyrządami	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	13.3	0.3	13.3
2	0.3	13.3	0.4	12.5
3	1.8	6.7	1.7	7.1
4	2.8	11.1	2.8	3.9
5	0.8	-	0.8	6.3

16. BIBLIOGRAFIA

1. D.Stynen, J.Sarfati, A.Goris, M.C. Prevost, M.Lesourd, H.Kamphuis, V.Darras, J.P. Latge - Rat Monoclonal Antibodies against *Aspergillus* Galactomannan. *Infect.Immun*, June 1992. Vol 60: p.2237-2245
2. E.Reiss, P.F.Lehmann – Galactomannan Antigenemia in Invasive Aspergillosis. *Infect.Immun*, July 1979. Vol 25: p.357-365
3. L.De Repentigny, M.Boushira, L.Ste-Marie, G.Bosisio – Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay in Experimental Invasive Aspergillosis. *Jour.Clin.Mic*, May 1987. Vol 25: p.863-867

	IT	Data di fabbricazione	ES	Fecha de fabricación
	EN	Date of manufacture	FR	Date de fabrication
	CZ	Datum výroby	PT	Data de fabrico
	DE	Herstellungsdatum	RO	Data fabricatiei
	EL	Ημερομηνία Παραγωγής	PL	Data produkcji
	IT	Utilizzare entro	ES	Fecha de caducidad
	EN	Use By	FR	Utiliser jusque
	CZ	Použitelné do	PT	Prazo de validade
	DE	Verwendbar bis	RO	A se folosi pana la
	EL	Ημερομηνία λήξης	PL	Data minimalnej trwałości
	IT	Non riutilizzare	ES	No reutilizar
	EN	Do not reuse	FR	Ne pas réutiliser
	CZ	Nepoužívejte opakovaně	PT	Não reutilizar
	DE	Nicht wieder verwenden	RO	A nu se refolosi
	EL	Μην κάνετε επαναληπτική χρήση	PL	Nie używać ponownie
	IT	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES	Atención, ver instrucciones de uso
	EN	Caution, consult accompanying documents	FR	Attention voir notice d'instructions
	CZ	Pozor, čtěte příložené dokumenty	PT	Atenção, consulte a documentação incluída
	DE	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Atentie, consultați documentele însoțitoare
	EL	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα	PL	Uwaga, patrz instrukcja obsługi
	IT	Fabbricante	ES	Fabricante
	EN	Manufacturer	FR	Fabricant
	CZ	Výrobce	PT	Fabricante
	DE	Hersteller	RO	Productator
	EL	Κατασκευαστής	PL	Producent
	IT	Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
	EN	Contains sufficient for <n> tests	FR	Contenu suffisant pour "n" tests
	CZ	Obsah stačí na < n > testů	PT	Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	DE	Inhalt reicht für „n“ Tests	RO	Continut suficient pt <n> teste
	EL	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	PL	Zawiera wystarczającą ilość do „n” próbek
	IT	Limiti di temperatura	ES	Límite de temperatura
	EN	Temperature limitation	FR	Limites de température
	CZ	Teplotní omezení	PT	Limites de temperatura
	DE	Temperaturgrenzwerte	RO	Limita da temperatura
	EL	Περιορισμοί θερμοκρασίας	PL	Wartości graniczne temperatury
	IT	Consultare le istruzioni per l'uso	ES	Consulte las instrucciones de uso
	EN	Consult Instructions for Use	FR	Consulter les instructions d'utilisation
	CZ	Čtěte návod k použití	PT	Consulte as instruções de utilização
	DE	Die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Pentru a utiliza consultați instrucțiunile
	EL	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	PL	Patrz instrukcja obsługi
	IT	Rischio biologico	ES	Riesgo biológico
	EN	Biological risks	FR	Risques biologiques
	CZ	Biologická rizika	PT	Risco biológico
	DE	Biologisches Risiko	RO	Risk biologic
	EL	Βιολογικοί κίνδυνοι	PL	Zagrożenie biologiczne
REF	IT	Numero di catalogo	ES	Número de catálogo
	EN	Catalogue number	FR	Référence du catalogue
	CZ	Katalogové číslo	PT	Referência de catálogo
	DE	Katalognummer	RO	Numar de catalog
	EL	Αριθμός καταλόγου	PL	Numer katalogowy
IVD	IT	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN	In Vitro Diagnostic Medical Device	FR	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CZ	Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	DE	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum	RO	Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro
	EL	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	PL	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
LOT	IT	Codice del lotto	ES	Código de lote
	EN	Batch code	FR	Code du lot
	CZ	Kód šarže	PT	Código do lote
	DE	Chargennummer	RO	Lot
	EL	Αριθμός Παρτίδας	PL	Kod partii