

PLATELIA™ ASPERGILLUS Ag

1 piastra - Σ 96

REF

62794

Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag è un dosaggio immunoenzimatico a sandwich per l'individuazione dell'antigene *galattomannano* di *Aspergillus* in campioni di siero pediatrici e di adulti e in campioni di liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL)



881115 - 2013/10

BIO-RAD

SOMMARIO

1-	USO PREVISTO	109
2-	INDICAZIONI PER L'USO.....	109
3-	CARATTERISTICHE GENERALI	109
4-	PRINCIPIO DELLA PROCEDURA.....	109
5-	REAGENTI	109
6-	AVVERTENZE PER GLI UTENTI	111
7-	PRECAUZIONI PER GLI UTENTI	112
8-	PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI.....	112
9-	PRELIEVO DEI CAMPIONI	113
10-	PROCEDURA.....	114
11-	CONTROLLO DI QUALITA (CRITERI DI VALIDITA).....	116
12-	INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI	117
13-	LIMITI DELLA PROCEDURA.....	118
14-	VALORI ATTESI	120
15-	CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI SISTEMA.....	123
16-	BIBLIOGRAFIA	131

1- USO PREVISTO

Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag è un dosaggio immunoenzimatico a sandwich per l'individuazione dell'antigene galattomannano di *Aspergillus* in campioni di siero pediatrici e di adulti e in campioni di liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL).

Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag è un test che, se utilizzato insieme ad altre procedure diagnostiche quali colture microbiologiche, esami istologici di campioni di biopsia e prove radiografiche, può essere utilizzato come un supporto nella diagnosi dell'Aspergillosi Invasiva.

2- INDICAZIONI PER L'USO

Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag è un dosaggio immunoenzimatico a sandwich per l'individuazione dell'antigene galattomannano di *Aspergillus* in campioni di siero pediatrici e di adulti e in campioni di liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL).

Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag è un test che, se utilizzato insieme ad altre procedure diagnostiche quali colture microbiologiche, esami istologici di campioni di biopsia e prove radiografiche, può essere utilizzato come un supporto nella diagnosi dell'Aspergillosi Invasiva.

3- CARATTERISTICHE GENERALI

Le infezioni da *Aspergillus* iniziano solitamente nei polmoni che sono la porta d'ingresso dell'inalazione di spore di *Aspergillus* presenti nell'ambiente. Le forme invasive, in aumento negli ultimi 10 anni, rappresentano le infezioni più gravi. Insorgono principalmente in pazienti neutropenici (a seguito di trattamento antitumorale) e in pazienti trattati con immunosoppressori (nei trapianti d'organo, in particolare trapianti di midollo osseo) e corticosteroidi¹⁰.

L'Aspergillosi viene raramente isolata da colture ematiche. I metodi tradizionali per la diagnosi spesso si basano su prove diagnostiche o radiologiche non specifiche (sintomi clinici, TAC, radiografia del torace, ecc.)

Il test per l'antigene solubile galattomannano nel siero sembra essere un metodo sierologico in grado di supportare la diagnosi di Aspergillosi Invasiva^{9, 12, 23, 54, 62}.

Inoltre, per i destinatari di Trapianto di Organo Solido, l'individuazione di antigene galattomannano nel lavaggio broncoalveolare (BAL) si è dimostrata vantaggiosa per la diagnosi dell'aspergillosi in questa popolazione^{8, 17, 18}.

4- PRINCIPIO DELLA PROCEDURA⁴⁵

Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag è un test immunoenzimatico a sandwich su micropiastro, one step, in grado di rilevare il galattomannano nel siero umano e nel fluido BAL. Il test utilizza gli anticorpi monoclonali di ratto EBA-2 diretti contro l'antigene di galattomannano di *Aspergillus* e sono stati caratterizzati in studi precedenti^{25, 46}. Gli anticorpi monoclonali sono utilizzati (1) per rivestire i pozzetti della micropiastro e legare l'antigene e (2) per rilevare l'antigene legato alla micropiastro sensibilizzata (reagente coniugato: anticorpi monoclonali legati alla perossidasi). I campioni di siero o di fluido BAL sono trattati termicamente in presenza di EDTA al fine di scindere i complessi immuni e precipitare le proteine suscettibili di interferire con il test.²⁴ I campioni di siero trattati e il coniugato vengono aggiunti nei pozzetti sensibilizzati con anticorpo monoclonale e incubati. In presenza dell'antigene galattomannano, si forma un complesso anticorpo monoclonale, galattomannano, anticorpo monoclonale marcato con perossidasi. Le strip vengono lavate per rimuovere eventuale materiale non legato. Successivamente, viene aggiunta la Soluzione TMB Cromogena che reagirà con i complessi legati al pozzetto fino a generare una reazione di colore blu. La reazione enzimatica viene interrotta mediante l'aggiunta di acido con conseguente variazione del colore da blu a giallo. L'assorbanza (densità ottica) dei campioni e dei controlli viene determinata mediante uno spettrofotometro impostato su una lunghezza d'onda di 450 e 620/630 nm.

5- REAGENTI

Platelia™ *Aspergillus* Ag: Cod. 62794 (96 Test)

Conservare il kit a 2-8°C. Prima dell'uso, i reagenti devono raggiungere la temperatura ambiente (18-25°C). Dopo l'uso, riportare immediatamente tutti i reagenti a 2-8°C **per almeno 30 minuti**. Riporre le strip/piastre inutilizzate nell'involucro protettivo e richiudere.

Non rimuovere l'essiccante. Dopo la diluizione, la soluzione di lavaggio di lavoro può essere conservata per 14 giorni a 2-30°C. Tutti gli altri reagenti, ad eccezione della Soluzione di Lavaggio Concentrata (R2) e della Soluzione di Arresto (R10) devono essere utilizzati entro 8 settimane dall'apertura. La Soluzione di Lavaggio Concentrata (R2) e la Soluzione bloccante (R10) sono stabili fino alla scadenza anche dopo l'apertura. Una volta aperti, tutti i reagenti devono essere utilizzati entro 8 settimane. I reagenti sono forniti in quantità sufficiente per eseguire 96 test in un massimo di 9 sedute analitiche.

Componente		Contenuto	Quantità
R1	Microwell Strip Plate	Micropiastra: - 96 pozzetti (12 strip con 8 pozzetti ciascuna), sensibilizzati con anticorpi monoclonali anti-galattomannano - Linghette strip etichettate "85"	1 piastra / 12 x 8 pozzetti
R2	Concentrated Washing Solution (20X)	Soluzione di lavaggio concentrata (20X): - Tampone Tris NaCl (pH 7,4) - 2% Tween® 20 - Conservante: 0,04% ProClin™ 300	1 x 70 mL
R3	Negative Control Serum	Siero di controllo negativo: - Siero negativo umano - Negativo per gli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2, anti-HCV e l'antigene HBs. - Conservante: 0,3% ProClin™ 300	2 x 1,7 mL
R4	Cut-off Control Serum	Siero di controllo Cut-off: - Siero umano contenente galattomannano - Negativo per gli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2, anti-HCV e l'antigene HBs. - Conservante: 0,3% ProClin™ 300	2 x 1,7mL
R5	Positive Control Serum	Siero di Controllo Positivo: - Siero umano contenente galattomannano - Negativo per gli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2, anti-HCV e l'antigene HBs. - Conservante: 0,3% ProClin™ 300	2 x 1,7 mL
R6	Conjugate	Coniugato (pronto per l'uso): - Anticorpo monoclonale anti-galattomannano marcato con perossidasi - Conservante: 0,3% ProClin™ 300	1 x 8 mL
R7	Sample Treatment Solution	Soluzione per il Trattamento del Campione (pronta per l'uso): - Soluzione acida EDTA	1 x 13 mL
R9	Chromogen: TMB Solution	Soluzione TMB Cromogena (pronta per l'uso): - 3,3',5,5'-tetrametilbenzidine* (<0.1%) - H ₂ O ₂ (<1.0 %)	1 x 28 mL
R10	Stopping Solution	Soluzione bloccante (pronta per l'uso): - 1 N soluzione acido solforico (H ₂ SO ₄)	1 x 28 mL

***Nota: la TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) è un cromogeno non cancerogeno e non mutageno per la perossidasi**

6- AVVERTENZE PER GLI UTENTI

1. Per uso diagnostico *in vitro*.
2. Solo per uso professionale.
3. Si sconsiglia l'utilizzo di questo kit di analisi con campioni che non siano siero umano e fluido BAL.
4. Il controllo positivo, il controllo di Cut-off e il controllo negativo vengono preparati a partire dal siero umano che è stato testato e trovato non-reattivo all'antigene HBs e agli anticorpi HIV-1, HIV-2 e HCV con test marcati CE. Tuttavia, tutti i reagenti devono essere maneggiati come se fossero potenzialmente infettivi. Tutti i test devono essere condotti in conformità con gli standard OSHA per i patogeni presenti nel sangue, a livello di biosicurezza 2 o altre pratiche di biosicurezza appropriate.
5. Indossare un abbigliamento protettivo comprendente camice da laboratorio, protezione per occhi/viso e guanti monouso (si raccomandano guanti sintetici non di lattice) e trattare i reagenti del kit e i campioni dei pazienti conformemente alla Buone Pratiche di Laboratorio. Al termine del test, lavarsi accuratamente le mani.
6. Non pipettare con la bocca.
7. Non fumare, bere né mangiare nei locali in cui vengono utilizzati i campioni o i reagenti del kit.
8. Evitare di schizzare campioni o soluzioni
9. Asciugare accuratamente eventuali fuoriuscite di materiale biologico non contenente acido con un disinfettante efficace. I disinfettanti che possono essere utilizzati comprendono (in via non limitativa) una soluzione di candeggina al 10% (soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5%), etanolo al 70% o Wescodyne™ allo 0,5%. Tutti i materiali utilizzati per asciugare eventuali fuoriuscite sono considerati rifiuti a rischio biologico, soggetti alle relative procedure di smaltimento.

ATTENZIONE: non introdurre soluzioni contenenti candeggina nell'autoclave.

10. Asciugare o neutralizzare eventuali fuoriuscite di materiale contenente acido con bicarbonato di sodio, quindi risciacquare e asciugare l'area; se gli schizzi contengono materiale a rischio biologico, pulire l'area con uno dei disinfettanti chimici.
11. Smaltire tutti i campioni e i materiali utilizzati per eseguire il test come potenzialmente infettivi. I rifiuti a rischio infettivo e chimici di laboratorio devono essere maneggiati e smaltiti in conformità con le normative nazionali, regionali e locali.
12. Per le raccomandazioni su precauzioni e rischi correlati ad alcuni componenti chimici del presente kit, consultare i simboli riportati sulle etichette e le informazioni fornite alla fine delle istruzioni per l'uso. La Scheda di Sicurezza è disponibile su www.bio-rad.com.

7- PRECAUZIONI PER GLI UTENTI

1. CAMPIONI DI SIERO O LIQUIDI BAL CONGELATI CONSERVATI IN CONDIZIONI NON SPECIFICHE POSSONO PRODURRE RISULTATI FALSI POSITIVI A CAUSA DELLA CONTAMINAZIONE CON FUNGHI E/O BATTERI.
2. Non utilizzare il kit o reagenti del kit dopo la data di scadenza indicata.
3. Non mescolare reagenti di altri kit con numeri di lotto diversi, ad eccezione della Soluzione di lavaggio (R2, identificazione*: 20x colore verde), Cromogeno (R9, identificazione*: TMB color turchese) e soluzione bloccante (R10, identificazione*: 1N colore rosso), a condizione che questi reagenti siano strettamente equivalenti e che venga utilizzato lo stesso numero di lotto all'interno di un dato run di test.

**sull'etichetta della provetta*

NOTE: The Washing Solution (R2, identified* in green as 20x) may not be mixed with the Washing Solution (R2 identified* in blue as 10X) provided in Bio-Rad reagent kits.

*** on the vial label**

4. **Prima dell'uso, attendere circa 30 minuti per consentire al reagente di raggiungere la temperatura ambiente.**
5. Miscelare con cura ogni reagente prima dell'uso.
6. Miscelare con cura la Soluzione di Lavaggio Concentrata (R2) prima di preparare la Soluzione di Lavaggio di Lavoro, avendo cura di evitare contaminazioni microbiche.
7. Non eseguire il test in presenza di vapori reattivi (acidi, alcalini e aldeidi) o di polvere che potrebbe alterare l'attività enzimatica del coniugato.
8. Per il pipettaggio manuale dei controlli e dei campioni, utilizzare puntali singoli per evitare residui di campioni precedenti.
9. Per un lavaggio adeguato dei pozzetti, eseguire i cicli di lavaggio raccomandati e assicurarsi che i pozzetti, una volta riempiti, vengano completamente svuotati. Non egeffetturæ i lavaggi con bottiglie a spruzzo.
10. Tra la fine del ciclo di lavaggio e la fase di aggiunta di reagenti la micropiastra non deve asciugarsi.
11. Non utilizzare lo stesso contenitore per il coniugato e la soluzione TMB cromogena.
12. Evitare che il coniugato o la soluzione TMB cromogena entrino in contatto con metallo o ioni metallici.
13. Evitare l'esposizione della soluzione cromogena TMB alla luce intensa durante la conservazione o l'incubazione. Evitare che le soluzioni di cromogeno entrino in contatto con agenti ossidanti.
14. Evitare che la soluzione bloccante entri in contatto con agenti ossidanti. Evitare che la soluzione bloccante entri in contatto con metallo o ioni metallici.
15. Utilizzare materiali puliti e privi di polvere (provette, puntali, contenitori, ecc.) per ridurre al minimo la possibilità di contaminazione con spore di *Aspergillus* presenti nell'ambiente. Poiché il galattomannano è termicamente stabile, la sterilizzazione dei materiali utilizzati non garantisce l'assenza di antigene contaminante. I materiali apirogeni sono ottimali, ma è possibile utilizzare materiale standard con adeguate precauzioni.
16. Limitare l'esposizione all'aria delle soluzioni (sierii, soluzione per il trattamento del siero, coniugato) o dei contenitori aperti (piastre, provette, pipette).
17. Non riversare i coniugati inutilizzati nel contenitore originale.
18. La soluzione cromogena TMB deve essere incolore. La comparsa di una colorazione blu indica che il reagente è contaminato e non deve essere utilizzato.

8- PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

Piastra a strip con micropozzetti (R1)

Ogni supporto contenente 12 strip è confezionato in un involucri. Tagliare l'involucro con le forbici appena sotto la giunzione. Aprire l'involucro ed estrarre il supporto. Riporre il supporto contenente le strip inutilizzate all'interno dell'involucro originale. Sigillare nuovamente con cura l'involucro e conservare a +2-8°C.

Dopo che l'involucro sotto vuoto è stato aperto, le strip conservate a +2-8°C nel loro involucro originale accuratamente sigillato restano stabili per 8 settimane. Controllare che l'essiccante sia sempre presente.

Soluzione di lavaggio (R2)

Preparare la soluzione di lavaggio di lavoro secondo le proprie esigenze aggiungendo una parte di soluzione di lavaggio concentrata (R2) a 19 parti di acqua distillata o deionizzata. La Soluzione di Lavaggio di Lavoro può essere conservata per 14 giorni a 2-30°C. Preparare una quantità sufficiente di Soluzione di Lavaggio di Lavoro per completare il run (80 mL per una strip: 4 mL R2 + 76 mL di acqua distillata).

Dopo l'apertura, la Soluzione di Lavaggio Concentrata conservata a +2-30°C, in assenza di contaminazione è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Siero di controllo negativo (R3), Siero di Controllo di Cut-off (R4) e Siero di Controllo Positivo (R5)

I controlli devono essere trattati termicamente con la Soluzione di Trattamento del Campione (R7) come campioni di pazienti, anche allo scopo di monitoraggio del trattamento.

Dopo l'apertura, questi reagenti conservati a +2-8°C, restano stabili per 8 settimane in assenza di contaminazione.

Coniugato (R6), Soluzione di Trattamento Campione (R7), Cromogeno: Soluzione TMB (R9)

Tutti i reagenti sono pronti per l'uso.

Dopo l'apertura, questi reagenti conservati a +2-8°C, restano stabili per 8 settimane in assenza di contaminazione.

Reazione bloccante (R10)

Questo reagente è pronto per l'uso.

Dopo l'apertura, questo reagente conservato a +2-8°C resta stabile fino alla data di validità indicata sull'etichetta in assenza di contaminazione.

9- PRELIEVO DEI CAMPIONI

Questo test è eseguito su siero o su fluido BAL.

I. SIERO

Prelevare i campioni di sangue secondo le procedure standard di laboratorio. I campioni di siero non devono essere contaminati da spore fungine e/o batteri. Trasferire e conservare i campioni in provette sigillate, evitandone l'esposizione all'aria. I campioni non aperti possono essere conservati a 2-8°C fino ad un massimo di 5 giorni prima di essere analizzati. Dopo l'apertura iniziale, i campioni possono essere conservati a 2-8°C per 48 ore prima del test. Per una conservazione più prolungata, tenere il siero a -70°C.

I campioni di siero possono essere soggetti a un massimo di 4 cicli di congelamento / scongelamento.. I campioni precedentemente congelati devono essere miscelati accuratamente dopo lo scongelamento e prima del test.

I campioni contenenti 20 mg/L di bilirubina, i campioni lipemici contenenti l'equivalente di 2 g/L di trioleina (trigliceridi) o i campioni emolizzati contenenti 500 mg/dL di emoglobina non influenzano i risultati. Le interferenze relative all'eccesso di albumina non sono state testate.

Non scomplementare i sieri.

II. FLUIDO BAL

Prelevare i campioni di sangue secondo le procedure standard di laboratorio. I campioni di fluido BAL devono essere raccolti in una soluzione salina sterile e possono essere testati su campioni integri (così come sono) o supernatanti da campioni centrifugati (10.000 rpm per 10 min) prima di procedere al trattamento del campione secondo la Sezione 10.

I campioni di liquido BAL non devono essere contaminati da spore fungine e/o batteri. Trasferire e conservare i campioni in provette sigillate, evitandone l'esposizione all'aria. Dopo l'apertura iniziale, i campioni possono essere conservati a 2-8°C fino ad un massimo di 24 ore. I campioni BAL congelati (-20°C o temperatura inferiore) possono essere conservati più a lungo, fino a un massimo di 5 mesi.

I campioni di BAL possono essere soggetti a un massimo di 4 cicli di congelamento / scongelamento. I campioni precedentemente congelati devono essere miscelati accuratamente dopo lo scongelamento e prima del test.

10- PROCEDURA

Materiale fornito

Vedere la sezione REAGENTI..

Materiale necessario, ma non fornito

1. Acqua distillata o deionizzata per la diluizione della soluzione di lavaggio concentrata.
 2. Carta assorbente.
 3. Guanti monouso.
 4. Occhiali di protezione.
 5. Ipoclorito di sodio (candeggina) e bicarbonato di sodio.
 6. Pipette o multipipette, regolabili o fisse, per misurare e dispensare 50 µL, 100 µL, 300 µL e 1.000 µL.
 7. Provette per microcentrifuga in polipropilene da 1,5 mL con tappi ermetici, in grado di sopportare una temperatura di 120°C (blocco termico) o 100°C (bagnomaria bollente).
 - Provette con tappo a vite: provette coniche da 1,5 mL,
- OPPURE**
- Provette con tappo a scatto: microprovette test EZ, 1,5 mL,
 - Chiusure a tappo per microprovette. Queste chiusure sigillano in modo sicuro le provette con tappo a scatto impedendone l'apertura durante le variazioni di temperatura e di pressione, semplificando inoltre il prelievamento delle provette dal blocco termico o dal bagnomaria bollente.
8. Centrifuga da banco per uso di laboratorio per provette in polipropilene da 1,5 mL in grado di ottenere 10.000g (Brinkman Cat. # 22-36-280-1 o VWR Scientific Cat. n. 20901-051 o equivalente).
 9. **Se viene utilizzato un blocco termico per il trattamento dei sieri/fluidi BAL:**
 - Blocco termico. Si consigliano i seguenti modelli di blocchi termici:
 - Modello a 1 blocco: Grant Cat. # QBD-1L - fuori dagli Stati Uniti: Grant Cat. # QBD1 distribuito da VWR sotto la Cat. # 460-0074)
 - Modello a 2 blocchi: Grant Cat. # QBD-2L - fuori dagli Stati Uniti: Grant Cat. # QBD2 distribuito da VWR sotto la Cat. # 460-0076)
 - Blocco per blocchi termici: entrambi i blocchi termici (QBD-1 L, QBD1 e QBD-2L, QBD2) devono essere utilizzati con il blocco Grant Cat. # QB-E1 distribuito fuori dagli Stati Uniti da VWR sotto la Cat. # 460-8517
- Se si utilizza acqua bollente per il trattamento dei sieri/fluidi BAL:**
- Rack rotondo galleggiante per microcentrifuga per becher da 1 L (negli Stati Uniti: VWR Scientific Cat. # 60986-100 o Nalgene Cat # 5974-1015 o equivalente).
 - Bagnomaria bollente a 100°C
10. Agitatore tipo Vortex.
 11. Incubatore di micropiastre impostato su 37±1°C.
 12. Sistema di lavaggio automatico o semi-automatico per micropiastre.
 13. Lettore di micropiastre dotato di filtri 450 nm e 620/630 nm.

Commenti alla procedura

I controlli negativi, positivi e i controlli Cut-off devono essere analizzati in ogni ciclo per convalidare i risultati del test.

Trattamento dei sieri/Fluido BAL

Tutti i sieri di controllo: negativo (R3), cut-off (R4) e positivo (R5) devono essere processati contemporaneamente ai campioni di siero/fluido BAL:

1. Pipettare 300 µl di ogni siero/fluido BAL test e controllo in singole provette in polipropilene da 1,5 mL.

2. Aggiungere 100 µl di soluzione per il trattamento del siero (R7) in ogni provetta.
3. Miscelare bene agitando energicamente a mano o con un vortex. Chiudere saldamente la provetta onde evitarne l'apertura durante il riscaldamento.

4. Opzione blocco termico

Riscaldare le provette per **6 minuti in un blocco termico a 120°C**. Le provette devono essere introdotte nel blocco solo al raggiungimento della temperatura stabilita (*).

OPPURE

Opzione bagnomaria

Se si utilizza un bagnomaria bollente: riscaldare le provette per 3 minuti a 100°C (*). Le provette devono essere messe a bagnomaria solo al raggiungimento della temperatura stabilita.

5. Rimuovere con cura le provette riscaldate dal blocco termico o dal bagnomaria bollente e trasferirle in una centrifuga. Centrifugare le provette a 10.000 x g per 10 minuti. Il surnatante viene utilizzato per l'individuazione dell'antigene galattomannano.
6. Analizzare i surnatanti con la seguente procedura. Dopo la preparazione, il surnatante può essere prelevato e conservato a 2-8°C per 48 ore prima del test. Se l'analisi dei risultati indica la necessità di ripetere il test, trattare un'altra aliquota di siero per l'analisi.

(*) Il rispetto della temperatura e del turn-around time stabiliti nonché l'utilizzo del materiale raccomandato sono essenziali per la riuscita del test.

Non fare affidamento sulla temperatura visualizzata dallo strumento, ma controllare che la temperatura corrisponda alle specifiche mediante un termometro calibrato che verrà inserito in una provetta contenente olio minerale: 120°C all'interno delle provette in un blocco termico e 100°C in un bagnomaria bollente.

Procedura EIA

Attenersi strettamente al protocollo fornito.

Rispettare le buone norme di laboratorio.

1. **Prima dell'uso, attendere circa 30 minuti che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (+18-25°C).**
2. Preparare la Soluzione di Lavaggio di Lavoro.
3. Preparare una tabella per l'identificazione dei sieri, dei campioni di fluido BAL e dei controlli nella micropiastra. Utilizzare un pozzetto per il Siero di Controllo Negativo (R3), due pozzetti per il Siero di Controllo di Cut-off (R4) e un pozzetto per il Siero di Controllo Positivo (R5).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R5	S5	S13									
B	R4	S6										
C	R4	S7										
D	R3	S8										
E	S1	S9										
F	S2	S10										
G	S3	S11										
H	S4	S12										

4. Rimuovere il supporto della piastra e le strip dei micropozzetti (R1) dall'involucro protettivo della piastra. Riporre le strip inutilizzate nell'involucro protettivo, insieme all'essiccante, e richiudere.
5. Miscelare il contenuto del flacone di coniugato (R6) agitolandolo prima dell'uso. Aggiungere 50 µL di coniugato (R6) in ogni pozzetto. Successivamente, aggiungere 50 µL di surnatante del siero trattato in ogni pozzetto come descritto sopra. Non aggiungere campioni di siero/fluido BAL nei pozzetti prima del coniugato.
6. **Ricoprire la micropiastra con pellicola adesiva** o altro materiale per impedirne l'evaporazione, assicurandosi che l'intera superficie sia coperta e a tenuta stagna.
7. Incubare la micropiastra in un incubatore per micropiastra a secco per 90 ± 5 minuti a 37°C (± 1°C).
8. Rimuovere la pellicola sigillante. Aspirare il contenuto di tutti i pozzetti in un contenitore per rifiuti (contenente ipoclorito di sodio). Lavare la piastra **5 volte con un washer per micropiastre** (utilizzando 800 µL di soluzione di lavaggio di lavoro). Dopo l'ultimo lavaggio, capovolgere la micropiastra e picchiettare delicatamente su carta assorbente per rimuovere il liquido in eccesso.

9. Aggiungere rapidamente 200 µL di soluzione di reazione substrato-cromogeno (R9) in ogni pozzetto, evitando l'esposizione alla luce diretta.
10. Incubare la micropiastra al buio a temperatura ambiente (+18-25°C) per 30 ± 5 minuti. **Non utilizzare pellicola adesiva durante questa fase di incubazione.**
11. Aggiungere 100 µL di soluzione bloccante (R10) in ogni pozzetto, utilizzando lo stesso ordine per aggiungere la soluzione TMB cromogena. Miscelare bene.
12. Asciugare accuratamente il fondo di ogni piastra.
13. Leggere la densità ottica di ogni pozzetto a 450 nm (filtro di riferimento di 620/630 nm). Le micropiastre devono essere lette **entro 30 minuti** dall'aggiunta della soluzione bloccante.

11- CONTROLLO DI QUALITÀ (CRITERI DI VALIDITÀ)

Controllo di Cut-off: La D.O. di ciascun Siero di controllo di Cut-off Control deve essere ≥ 0.300 e ≤ 0.800 .

Controllo positivo: L'indice del siero di controllo positivo deve essere maggiore di 1.50.

$$I = \frac{\text{Controllo positivo DO (R5)}}{\text{DO di Controllo di Cut-off media}} > 1.50$$

Controllo negativo: L'indice del siero di controllo negativo deve essere minore di 0.40.

$$I = \frac{\text{Controllo negativo DO (R3)}}{\text{DO di Controllo di Cut-off media}} < 0.40$$

Il fallimento di uno dei controlli rispetto ai criteri di validità sopra descritti invalida il test e i risultati del campione paziente non devono essere riportati. L'operatore può decidere di ripetere il test dopo aver rivisto la procedura oppure può contattare il produttore per assistenza. Se il test viene ripetuto, è necessario utilizzare una nuova aliquota dello stesso campione.

Calcolo di esempio:

Campione	Assorbenza (DO)
Controllo negativo (R3)	0,116
Controllo di Cut-off (R4)	0,513
	0,533
Controllo positivo (R5)	1,834

Calcoli

Valore di Controllo di Cut-off medio

Per calcolare il valore medio di DO del Controllo di Cut-off (R4), aggiungere i valori di DO per ciascuna replica di controllo di Cut-off e dividere il risultato per 2:

$$(0.513 + 0.533) \div 2 = 0.523$$

Indice di Controllo negativo

Per calcolare l'indice del Controllo Negativo, dividere la DO del Controllo Negativo per il valore di DO del Controllo di Cut-off medio:

$$I = \frac{0.116}{0.523} = 0.22$$

Indice di Controllo positivo

Per calcolare l'indice del Controllo Positivo, dividere la DO del Controllo Positivo per il valore di DO del Controllo di Cut-off medio:

$$I = \frac{1.834}{0.523} = 3.51$$

Validità

Nell'esempio sopra:

- Ciascun valore di DO di Controllo di Cut-off è ≥ 0.300 and ≤ 0.800 , il che indica che il Controllo di Cut-off è valido.
 - L'indice del Controllo Negativo è < 0.40 , il che indica che il Controllo Negativo è valido.
 - L'indice del Controllo Positivo è > 1.50 , il che indica che il Controllo Positivo è valido.
- La seduta di test in questo esempio è considerata valida poiché i risultati corrispondono al criterio di validità per ciascun controllo.

12- INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La presenza o l'assenza di antigene galattomannano nel campione di test è determinata dal calcolo di un indice per ciascun campione di paziente. L'Indice (I), è il valore di DO del campione diviso per la densità ottica media dei pozzetti che contengono il Siero di Controllo di Cut-off.

Calcolo della densità ottica del Controllo di Cut-off media:

Aggiungere le densità ottiche dei due pozzetti contenenti il Siero di Controllo di Cut-off (R4) e dividere il totale per 2.

Calcolo di un indice (I) per ciascun campione di test:

Calcolare il seguente rapporto per ciascun campione di test:

$$I = \frac{\text{Campione DO}}{\text{DO media di Controllo di Cut-off}}$$

Interpretazione di sieri/fluido BAL con un indice < 0.50 :

Sieri/fluido BAL con un indice < 0.50 sono considerati negativi per l'antigene galattomannano.

Nota: Un risultato negativo può indicare che il risultato del paziente è al di sotto del livello rilevabile del test. Risultati negativi non sono sufficienti a escludere la diagnosi di aspergillosi invasiva. Si raccomanda di ripetere il test quando il risultato è negativo ma si sospetta la malattia.

Interpretazione di sieri/fluido BAL con un indice ≥ 0.50

Sieri/fluido BAL con un indice ≥ 0.50 sono considerati positivi per l'antigene galattomannano.

Per tutti i pazienti positivi, si raccomanda di ripetere il test con una nuova aliquota dello stesso campione (siero/BAL).

Nota: Un valore di assorbanza 0.000 può indicare un errore procedurale o strumentale che deve essere valutato. Questo risultato non è valido e il campione deve essere nuovamente analizzato.

Si raccomanda lo screening regolare (due volte alla settimana) dei campioni di siero dei pazienti ad alto rischio per aumentare la sensibilità e la positività precoce del test.

Nota : Il test Platelia™ Aspergillus Ag è concepito per essere utilizzato quale supporto nella diagnosi dell'aspergillosi invasiva. I risultati positivi ottenuti con il test Platelia™ Aspergillus devono essere valutati congiuntamente ad altre procedure diagnostiche quali colture microbiologiche, esami istologici di campioni di biopsia e prove radiografiche.

Esempio di calcolo:

Campione	Assorbanza (DO)
Controllo negativo (R3)	0,116
Controllo di Cut-off (R4)	0,513 0,533
Controllo positivo (R5)	1,834
Campione paziente #1	0,134
Campione paziente #2	0,436
Campione paziente #3	1,196

Calcoli

Fare riferimento alla sezione Controllo Qualità (Criteri di Validità) per un esempio di calcoli per determinare la validità dei controlli del test.

Valore di Controllo di Cut-off medio

Per calcolare il valore medio di DO del Controllo di Cut-off (R4), sommarei valori di DO per ciascuna replica di controllo di Cut-off e dividere il risultato per 2: $(0.513 + 0.533) \div 2 = 0.523$

Campione paziente #1

Per calcolare l'indice del Campione Paziente #1, dividere la DO del Campione Paziente #1 per il valore di DO del Controllo di Cut-off medio:

$$I = \frac{0.134}{0.523} = 0.26$$

In questo esempio, il Campione Paziente #1 è negativo poiché l'Indice di 0.26 è < 0.50.

Campione paziente #2

Per calcolare l'indice del Campione Paziente #2, dividere la DO del Campione Paziente #2 per il valore di DO del Controllo di Cut-off medio:

$$I = \frac{0.436}{0.523} = 0.83$$

In questo esempio, il Campione Paziente #2 è positivo poiché l'Indice di 2.29 è ≥ 0.50.

Campione paziente #3

Per calcolare l'indice del Campione Paziente #3, dividere la DO del Campione Paziente #3 per il valore di DO del Controllo di Cut-off medio:

$$I = \frac{1.196}{0.523} = 2.29$$

In questo esempio, il Campione Paziente #3 è positivo poiché l'Indice di 2.29 è ≥ 0.50.

Riferirsi all'Interpretazione di Risultati Positivi nella Sezione 12.

13- LIMITI DELLA PROCEDURA

- Risultati negativi di campioni di siero o BAL non sono sufficienti a escludere la diagnosi di aspergillosi invasiva. I campioni di siero per pazienti a rischio di Aspergillosi Invasiva devono essere sottoposti a test due volte alla settimana.**
- Quando si analizzano i campioni per individuare la presenza dell'antigene galattomannano è necessario attenersi alla procedura di test Platelia™ *Aspergillus* Ag. Si consiglia agli utilizzatori del kit di leggere attentamente l'inserito all'interno della confezione prima di effettuare il test. In particolare, la procedura di test deve essere seguita attentamente per il pipettaggio dei campioni e dei reagenti, il lavaggio della piastra e la scelta dei tempi delle fasi di incubazione.
- Nel caso in cui il campione o il reagente non siano stati aggiunti conformemente alle istruzioni, il test può produrre un falso negativo. **In caso di sospetto clinico di aspergillosi invasiva o errore procedurale, potrebbe essere necessario ripetere il test su altri campioni.**
- La contaminazione dei pozzetti di un campione paziente negativo con pozzetti di un campione controllo/paziente positivo è possibile se il contenuto di un pozzetto viene versato in un altro a causa di una errata manipolazione della micropiastra o di una tecnica di pipettaggio poco accurata durante la fase di aggiunta dei reagenti.
- La performance del test Platelia™ *Aspergillus* Ag non è stata valutata con campioni neonatali. Nella letteratura europea è stata registrata un'incidenza più elevata del numero di risultati falsi positivi dell'antigene galattomannano in campioni prelevati dalla popolazione neonatale ^{13, 15, 33, 44}.
- Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag può dare un rilevamento ridotto di galattomannano in pazienti affetti da granulomatosi (CGD) e da sindrome di Job ^{56, 58}.
- L'uso concomitante di terapie antimuffa antifungine in alcuni pazienti affetti da aspergillosi Invasiva possono determinare una sensibilità ridotta al test Platelia™ *Aspergillus* Ag ^{30, 31}.
- Il test Platelia™ *Aspergillus* Ag non è stato valutato per l'uso con il plasma o altri tipi di campione come urina o CSF.
- Non è stata definita la performance del test Platelia™ *Aspergillus* Ag per la lettura manuale e/o la determinazione visuale del risultato.

10. Altri generi di funghi come *Penicillium*, *Alternaria Paecilomyces*, *Geotrichum* e *Histoplasma* hanno mostrato reattività con anticorpi monoclonali di ratto EBA-2 utilizzati nel test per l'individuazione del galattomannano di *Aspergillus*. L'istoplasmosi dovrebbe essere considerata nelle aree endemiche comprese alcune aree degli Stati Uniti ^{36, 50, 59}.
11. La reattività crociata di campioni di fluido BAL con *Mycoplasma pneumoniae* o farmaci anestetici/lubrificanti utilizzati per intorpidire l'area di collo/gola per il processo di aspirazione non è stata valutata.
12. Reazioni positive senza segni clinici:

Quanto segue dovrebbe essere considerato rispetto al rilevamento precoce di antigeni di galattomannano nel siero o nel BAL prima della comparsa di segni clinici e/o radiologici. I risultati positivi di test senza segni clinici, solitamente osservati, corrispondono a test «veri positivi» in pazienti per i quali più tardi viene pronunciata la diagnosi di aspergillosi invasiva probabile o dimostrata ³⁰. Tuttavia, in alcuni casi particolari, nell'interpretazione del test vanno presi in considerazione alcuni fattori specifici:

 - a. Sono stati riportati risultati positivi di test senza segni clinici specialmente in bambini piccoli ⁴⁴. Sebbene alcuni di questi casi potrebbero essere correlati alla reale circolazione di antigeni di *Aspergillus*, la maggior parte dei casi può essere considerata come falsi positivi ⁷.
 - b. La galattotofuranosi è stata dimostrata in diversi alimenti, in particolare cereali, prodotti derivati dai cereali ^{1, 27}. A differenza del latte umano le formulazioni a base di latte vaccino spesso contengono alte concentrazioni di galattomannano ¹³. Fattori dietetici devono perciò essere presi in considerazione nell'interpretazione del corso dell'antigenemia nei bambini piccoli e più generalmente in tutti i pazienti con una barriera intestinale alterata ^{6, 13}. Qualsiasi caso di antigenemia positiva non accompagnata da segni clinici dovrebbe essere interpretata persino più cautamente in questa popolazione di pazienti.
 - c. Sono stati riportati risultati di test positivi per il galattomannano in pazienti che assumevano piperacillina/tazobactam. Sono stati inoltre riportati casi di alcuni lotti o batch di piperacillina/tazobactam che sono stati trovati positivi per l'antigene galattomannano. Pertanto, risultati di test positivi in pazienti che assumono piperacillina / tazobactam vanno interpretati con cautela e confermati con altri metodi diagnostici. Il rilevamento del galattomannano è stato inoltre riportato in alcuni lotti di amoxicillina associati con preparazioni parenterali di acido clavulanico. Pertanto, i trattamenti β-lattam semi-sintetici dovrebbero essere presi in considerazione quando si interpreta il test ^{1, 3, 32}.

Tuttavia, poiché il test Platelia™ *Aspergillus* Ag può individuare l'antigene galattomannano ben prima della comparsa di segni clinici o radiologici, l'occorrenza dell'aspergillosi invasiva non può essere esclusa. Pertanto i pazienti trattati con piperacillina/tazobactam con risultati di test positivi dovrebbero essere seguiti con attenzione.
 - d. Reazioni positive in assenza di segni clinici possono essere osservate in pazienti che ricevono prodotti contenenti galattomannano, per via parenterale o per via orale (in presenza di un'alterazione della barriera intestinale). La presenza di galattomannano in questi prodotti può essere spesso spiegata dall'uso di un processo di fermentazione sui microrganismi fungini. Tuttavia un risultato positivo potrà essere osservato nel paziente solo se la concentrazione di siero di galattomannano esogeno raggiunge o supera la soglia di rilevamento del test.

Pertanto se si verifica un risultato positivo sospetto in assenza di altri segni clinici, raccomandiamo di appurare quali prodotti il paziente sta assumendo e in particolare i loro processi di produzione e l'origine del materiale grezzo utilizzato ^{14, 41, 49}.
13. La letteratura riporta reazioni positive per il galattomannano nel siero e nel fluido di lavaggio broncoalveolare associati con PLASMA-LYTE™ osservate in diversi studi ^{14, 41}. Pertanto, qualsiasi somministrazione di PLASMA-LYTE™ va presa in considerazione nell'interpretazione dei risultati di questo test.
14. I risultati del test Platelia™ *Aspergillus* Ag in campioni di fluido di lavaggio broncoalveolare (BAL) provenienti da pazienti non immunocompromessi vanno interpretati con cautela. ³⁷
15. I risultati vicini al valore indice di cut-off (0.5), vanno interpretati con cautela e devono essere supportati da altre prove cliniche, radiologiche o di laboratorio di aspergillosi invasiva poiché l'interpretazione del risultato del test non comprende alcuna zona grigia.

16. Inoltre, i risultati del test Platelia™ *Aspergillus* Ag in campioni di liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL) di indice 0.5-1.0 hanno un valore predittivo inferiore ai risultati dei campioni BAL con indice > 1.0, per cui i risultati di indice 0.5-1.0 dovrebbero essere rivisti e supportati da altre prove cliniche, radiologiche o di laboratorio di aspergillosi invasiva >.

14-VALORI ATTESI

I. SIERO

La prevalenza attesa di aspergillosi invasiva varia con la popolazione di pazienti; sono state riportate percentuali dal 5 al 20%^{10, 16}.

I seguenti risultati sono stati ottenuti da studi clinici condotti su pazienti pediatrici (età ≤ 21 anni) negli Stati Uniti e su pazienti adulti nel Nord America.

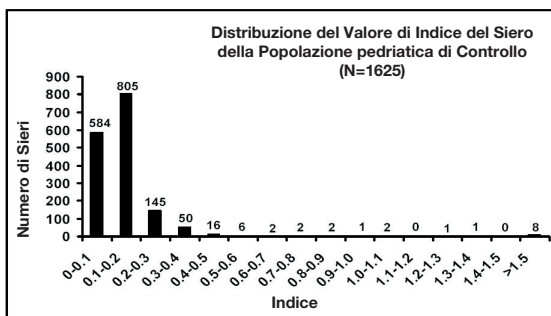
A-Pediatria

Uno studio clinico è stato condotto su un totale di 1954 campioni di siero prelevati da 129 pazienti immunocompromessi in età pediatrica (età ≤ 21 anni), ad alto rischio di aspergillosi invasiva (IA) e in pazienti in cui era stata diagnosticata un'aspergillosi invasiva provata o probabile, in tre centri di analisi negli Stati Uniti per determinare le caratteristiche di performance del test Platelia™ *Aspergillus* Ag. La distribuzione di valori di indice per queste popolazioni è mostrata nei grafici seguenti:

Pazienti pediatrici con diagnosi di assenza di Aspergillosi Invasiva (popolazione di controllo)

Figura 1

Un totale di 1625* campioni di siero pediatrici prelevati da 108 pazienti pediatrici immunocompromessi in tre centri di analisi negli Stati Uniti sono stati sottoposti a test per determinare le caratteristiche di performance del test Platelia™ *Aspergillus* Ag. La distribuzione di valori di indice per questi campioni è mostrata nel grafico seguente:



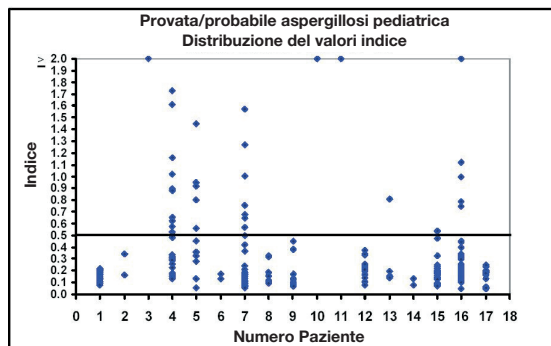
***Nota:** 80 campioni, prelevati da 4 pazienti di controllo con risultati di antigene di galattomannano positivo coincidenti con terapia piperacillina/tazobactam (Zosyn®) sono stati esclusi.

Pazienti pediatrici con diagnosi di Aspergillosi Invasiva

Figura 2

Il grafico a dispersione illustra i risultati di test sul galattomannano per 249 campioni di siero prelevati da 17 pazienti partecipanti allo studio ai quali era stata diagnosticata un'aspergillosi Invasiva provata o probabile in base alle definizioni EORTC/ NIAID. Non tutti i campioni di siero dei pazienti erano attesi come positivi. La prevalenza attesa di Aspergillosi Invasiva varia con la popolazione di pazienti; sono state riportate percentuali dal 5 al 20%^{10, 24}.

La percentuale di prevalenza di questo studio è stata del 13.6%.



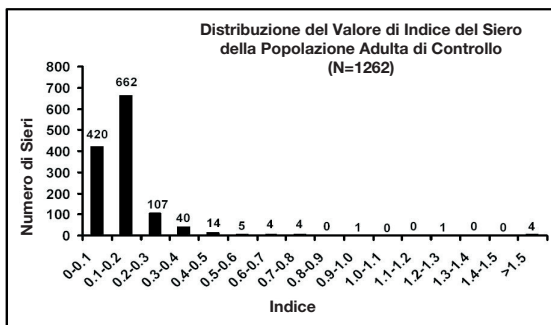
B. Adulti

Uno studio clinico condotto su un totale di 1724 di campioni di siero prelevati da 172 pazienti destinati a trapianto di midollo osseo (BMT) e da pazienti affetti da leucemia, con e senza Aspergilloso Invasiva, in tre centri di analisi nel Nord America per determinare le caratteristiche di performance del test Platelia™ Aspergillus Ag. La distribuzione di valori di indice per queste popolazioni è rappresentata nei grafici seguenti.

Pazienti adulti con diagnosi di assenza di Aspergilloso Invasiva (popolazione di controllo)

Figura 3

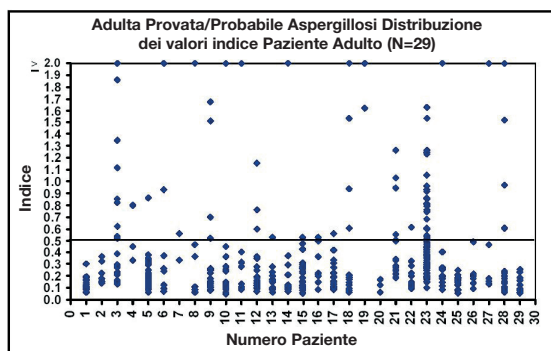
A total of 1262 serum samples obtained from 143 bone marrow transplant (BMT) and leukemic patients at three testing centers in North America were tested with the Platelia™ Aspergillus Ag test. The distribution of index values is shown in the following chart.



Pazienti adulti con diagnosi di aspergilloso Invasiva

Figura 4

Il grafico a dispersione illustra i risultati di test sul galattomannano per 462 campioni di siero prelevati da 29 pazienti partecipanti allo studio ai quali era stata diagnosticata un'Aspergilloso Invasiva provata o probabile in base alle definizioni EORTC/NIAID. Non tutti i campioni di siero dei pazienti erano attesi come positivi. La prevalenza attesa di Aspergilloso Invasiva varia con la popolazione di pazienti; sono state riportate percentuali dal 5 al 20%^{10,24}. La percentuale di prevalente di questo studio è stata del 16,9%.



I grafici seguenti rappresentano esempi rispettivamente di un paziente senza segni clinici o sintomi di Aspergilloso Invasiva (negativo per l'*Aspergillus*) di un paziente con aspergilloso Invasiva provata o probabile (positivo per l'*Aspergillus*).

Figura 5

Paziente negativo:

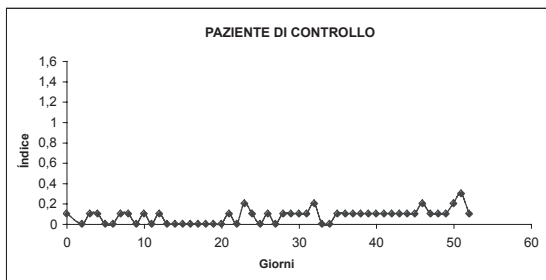
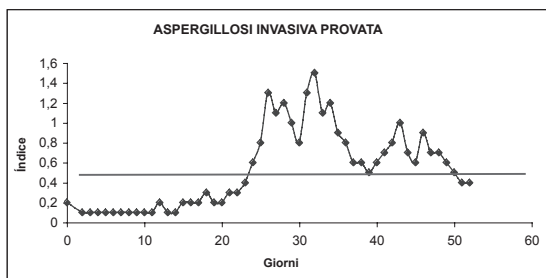


Figura 6

Paziente positivo:



II. FLUIDO BAL

Negli Stati Uniti sono stati condotti due studi su un totale di 449 campioni BAL prelevati da 178 destinatari di Trapianto di Organo Solido e di polmone con e senza aspergilloso per determinare le caratteristiche di performance del kit Platelia™ *Aspergillus* Ag con campioni di Fluido di Lavaggio Broncoalveolare.

Di questi, 403 campioni di fluido BAL erano stati prelevati da 167 destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza aspergilloso invasiva.

È stata inoltre eseguita un'analisi retrospettiva sui campioni di fluido BAL prelevati da 99 pazienti ematologici ad alto rischio in uno studio esterno agli Stati Uniti che comprendeva 58 pazienti affetti da aspergilloso invasiva provata o probabile.

I valori attesi dai campioni di fluido BAL prelevati da destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza Aspergilloso Invasiva sono presentati nella tabella seguente. I risultati sono relativi a campioni prelevati da destinatari di trapianto con e senza colonizzazione di muffa.

Tabella 1

Valori attesi dal campione

Pazienti destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza Aspergilloso Invasiva

N=403 Fluidi BAL

Diagnosi	N	Positivi (%)	Negativi (%)
Controlli senza colonizzazione	341	11/341 (3,2%)	330/341 (96,8%)
Controlli con colonizzazione	62	12/62 (19,4%)	50/62 (80,6%)
Totale Controllo	403	23/403 (5,7%)	380/403 (94,3%)

I valori attesi dai campioni di fluido BAL prelevati da destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza Aspergilloso Invasiva sono presentati per tipo di trapianto nella tabella seguente.

Tabella 2

Valori attesi dal campione

Pazienti destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza Aspergilloso Invasiva per Tipo di Trapianto

N = 403 Fluidi BAL

Tipo di trapianto	N	Positivi (%)	Negativi (%)
Cuore	28	3/28 (10,7%)	25/28 (89,3%)
Rene	25	3/25 (12,0%)	22/25 (88,0%)
Fegato	23	1/23 (4,3%)	22/23 (95,7%)
Polmone	327	16/327 (4,9%)	311/327 (95,1%)
Totale Controllo	403	23/403 (5,7%)	380/403 (94,3%)

I valori attesi sono stati inoltre valutati in un totale di 41 campioni di fluido BAL prelevati da 41 pazienti affetti da patologia ematologica senza Aspergilloso invasiva e sono presentati nella tabella seguente:

Tabella 3

Valori attesi dal campione

Pazienti affetti da patologia ematologica senza Aspergilloso invasiva

N = 41 Fluidi BAL

Diagnosi	N	Positivi (%)	Negativi (%)
Controlli	41	8/41 (19,5%)	33/41 (80,5%)

15. CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI SISTEMA

A- RIPRODUCIBILITÀ

a) Studi di riproducibilità nel siero

Le variabilità di Inter-dosaggio e Intra-dosaggio per il test Platelia™ *Aspergillus* Ag sono state determinate in uno studio che utilizzava un pannello di 6 campioni di siero di un pool di pazienti (uno negativo, uno debolmente positivo, due positivi, e due fortemente positivi) prelevati in tre siti di sperimentazione clinica nel Nord America. Ciascuno dei 6 membri del panel è stato sottoposto ad un test triplice (x3) in 3 giorni diversi, in un lotto, in due siti (numero totale di repliche per ciascun sito = 9). Ciascuno dei 6 membri del panel è stato sottoposto ad un test duplice (x2) in 3 giorni diversi, in un lotto, su un terzo sito (numero totale di repliche per il terzo sito = 6). Tutti i test di precisione in ciascun sito sono stati eseguiti da un (1) operatore. I dati sono stati analizzati in base alle direttive del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (in precedenza National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)). La densità ottica (DO) media e il valore di indice medio, la deviazione standard (SD), il coefficiente di variazione percentuale (%CV), la precisione all'interno del saggio (intradossaggio) e la precisione all'interno del sito (interdosaggio) per ciascun membro del pannello in ciascun sito sono illustrati nelle tabelle seguenti.

Tabella 4

Sito 1 Campione del pannello		Neg.		Pos. basso		Pos. #1		Pos. #2		Pos. alto #1		Pos. alto #2		Controllo neg.		CO controllo		Controllo pos.	
	DO	Indice	g	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice
N			g			g		g		g		g		g		g		g	
Media	0,052	0,09	0,445	0,74	0,702	1,17	0,931	1,563	1,227	2,06	2,887	4,83	0,046	0,08	0,006	1,00	2,216	3,67	
DS nella securita' (nell'analisi) ¹	0,002	0,00	0,022	0,03	0,059	0,09	0,044	0,08	0,051	0,09	0,089	0,17	N/A	N/A	0,02	0,03	N/A	N/A	
%CV	N/A	N/A	4,8%	4,4%	8,4%	7,6%	4,7%	5,1%	4,2%	4,4%	3,1%	3,6%	N/A	N/A	3,7%	3,4%	N/A	N/A	
SD totale (fra le analisi) ²	0,036	0,04	0,051	0,08	0,07	0,14	0,044	0,25	0,058	0,29	0,169	0,58	N/A	N/A	0,102	0,03	0,317	0,12	
%CV	N/A	N/A	11,5%	10,4%	10,0%	11,6%	4,7%	15,7%	4,7%	14,3%	5,9%	11,9%	N/A	N/A	16,9%	2,8%	14,3%	3,3%	

Sito 2 Campione del pannello		Neg.		Pos. basso		Pos. #1		Pos. #2		Pos. alto #1		Pos. alto #2		Controllo neg.		CO controllo		Controllo pos.	
	DO	Indice	g	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice
N			g			g		g		g		g		g		g		g	
Media	0,040	0,10	0,280	0,70	0,364	0,89	0,602	1,49	0,801	2,01	1,361	3,43	0,074	0,18	0,415	1,00	1,197	2,97	
DS nella securita' (nell'analisi) ¹	0,006	0,01	0,041	0,09	0,023	0,07	0,045	0,11	0,046	0,10	0,047	0,11	N/A	N/A	0,00	0,01	N/A	N/A	
%CV	N/A	N/A	14,5%	13,0%	6,4%	7,6%	7,5%	7,1%	5,7%	4,8%	3,5%	3,2%	N/A	N/A	1,1%	1,1%	N/A	N/A	
SD totale (fra le analisi) ²	0,006	0,03	0,058	0,19	0,083	0,18	0,057	0,28	0,042	0,53	0,079	1,00	N/A	N/A	0,094	0,01	0,068	0,54	
%CV	N/A	N/A	20,8%	27,0%	22,7%	19,8%	9,5%	18,7%	5,3%	26,5%	5,8%	29,2%	N/A	N/A	22,7%	0,9%	5,7%	18,2%	

Sito 3 Campione del pannello		Neg.		Pos. basso		Pos. #1		Pos. #2		Pos. alto #1		Pos. alto #2		Controllo neg.		CO controllo		Controllo pos.	
	DO	Indice	g	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice	DO	Indice
N			g			g		g		g		g		g		g		g	
Media	0,049	0,10	0,388	0,81	0,652	1,36	0,830	1,73	1,158	2,41	2,378	4,96	0,059	0,12	0,480	1,00	1,652	3,45	
DS nella securita' (nell'analisi) ¹	0,003	0,01	0,009	0,02	0,082	0,17	0,068	0,14	0,094	0,20	0,126	0,25	N/A	N/A	0,028	0,06	N/A	N/A	
%CV	N/A	N/A	2,4%	2,4%	12,5%	12,2%	8,2%	8,2%	8,1%	8,2%	5,3%	5,1%	N/A	N/A	5,8%	5,8%	N/A	N/A	
SD totale (fra le analisi) ²	0,012	0,03	0,078	0,13	0,068	0,15	0,104	0,25	0,082	0,15	0,111	0,34	N/A	N/A	0,028	0,04	0,056	0,23	
%CV	N/A	N/A	20,0%	15,8%	10,5%	11,1%	12,5%	14,3%	7,1%	6,2%	4,7%	6,8%	N/A	N/A	5,8%	4,1%	3,4%	6,6%	

N/A = non applicabile

¹NCCLS EP5-A, Vol. 19, N. 2, Pag. 24, Equazione (C2)

²NCCLS EP5-A, Vol. 19, N. 2, Pag. 25, Equazione (C3) ed Equazione (C4)

b) Riproducibilità nel liquido BAL

Le variabilità Inter-dosaggio e Intra-dosaggio per il test Platelia™ *Aspergillus* Ag sono state determinate in uno studio che utilizzava un panel di 4 campioni di fluido BAL corretti con galattomannano purificato (uno negativo, uno fortemente negativo, uno debolmente positivo e uno mediamente positivo) prelevati in tre centri di analisi (due siti di analisi cliniche e un sito interno nel Nord America). Ciascuno dei 4 campioni del pannello e i controlli sono stati testati in duplicato (x2) in 2 serie al giorno per 5 giorni diversi su un lotto (Numero totale di risultati per ciascun sito = 120). Tutti i test di precisione in ciascun sito sono stati eseguiti da due (2) operatori. I dati sono stati analizzati in base alle direttive del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (in precedenza National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)). La densità ottica (DO) media e il valore di indice medio, la deviazione standard (SD), il coefficiente di variazione percentuale (%CV), la precisione all'interno del run (intra-dosaggio) e la precisione all'interno del sito (inter-dosaggio) per ciascun membro del panel sono illustrati nella tabella seguente:

Tabella 5 - Riepilogo Siti combinati

Riepilogo		Negativo		Fortemente Negativo		Debolmente Positivo		Mediamente Positivo		Controllo positivo		Controllo negativo	
		N= 60		N=60		N=60		N=60		N=60		N=60	
		OD	Indice	OD	Indice	OD	Indice	OD	Indice	OD	Indice	OD	Indice
Mezzo		0,121	0,29	0,214	0,50	0,375	0,88	0,575	1,35	1,580	3,72	0,047	0,11
Intra-saggio	SD	N/A	N/A	0,037	0,103	0,035	0,078%	0,029	0,067	0,111	0,265	N/A	N/A
	%CV	N/A	N/A	17,4%	20,5%	9,3%	8,9%	5,0%	5,0%	7,0%	7,1%	N/A	N/A
Totale (Inter-saggio)	SD	N/A	N/A	0,042	0,095	0,061	0,122	0,070	0,138	0,190	0,438	N/A	N/A
	%CV	N/A	N/A	19,6%	18,9%	16,2%	13,9%	12,2%	10,2%	12,0%	11,8%	N/A	N/A

*Un (1) outlier statistico è stato rimosso dall'analisi.

B- REATTIVITÀ CROCIATA

Uno studio per valutare l'effetto di condizioni mediche interferenti non correlate con l'*Aspergillo* Invasiva è stato eseguito con un lotto del kit di Platelia™ *Aspergillus* Ag. I seguenti campioni di siero sono stati testati per la reattività crociata con il test Platelia™ *Aspergillus* Ag. È stato analizzato un totale di 151 campioni.

Tabella 6

Patologia	# Campioni testati	# Positivi
Fattore reumatoide	10	0
ANA Positivo	10	0
IgG Ipergammaglobulinemia	10	0
IgM Ipergammaglobulinemia	10	0
Cancro*	11	0
Cirrosi non virale (biliare primaria; indotta da alcol; indotta da farmaci)	10	0
Trasfusioni multiple	10	0
Donne multipare	10	0
HAV	10	0
HCV	10	0
Rosolia	10	0
CMV	10	0
Sifilide (RPR+)	10	0
Toxoplasmosi	10	0
Micoplasma	10	0

* Uno per ciascuno dei seguenti tipi: vescica, mammella (2), colon, endometrio, polmone, prostata, renale e squamoso (3).

C- TEST CLINICI

Studi clinici nel nord america

I. CAMPIONI DI SIERO

Test clinici per valutare la sensibilità, la specificità e il valore di previsione del test Platelia™ *Aspergillus* Ag sono stati condotti su pazienti pediatrici (età ≤ 21 anni) in siti localizzati negli Stati Uniti e su pazienti adulti in tre siti localizzati nel Nord America. Gli studi sono stati condotti utilizzando un totale di 1954 campioni di siero raccolti da 129 pazienti pediatrici e un totale di 1724 campioni di siero raccolti da 172 pazienti adulti delle seguenti popolazioni*:

- Pazienti senza segni di Aspergillosi Invasiva (pazienti di controllo)
- Pazienti con Aspergillosi Invasiva Probabile
- Pazienti con Aspergillosi Invasiva Provata

* Il Gruppo Cooperativo per le Infezioni Fungine Invasive (IFICG) dell'Organizzazione Europea per la Ricerca e i Trattamenti del Cancro (EORTC) e il Gruppo di Studio delle Micosi (MSG) dell'Istituto Nazionale delle Allergie e delle Malattie Infettive (NIAID) nel 2002 hanno definito i criteri per la diagnosi di Aspergillosi Invasiva (IA) in pazienti con malignità ematologica o trapianto di cellule staminali ematopoietiche.²

SENSIBILITÀ

A. Età pediatrica

I risultati di questo studio sono stati analizzati in termini di sensibilità del paziente. Il test di sensibilità è stato condotto utilizzando il test Platelia™ *Aspergillus* Ag nei tre siti su un totale combinato di 17 pazienti pediatrici immunocompromessi con diagnosi di Aspergillosi Invasiva Provata o Probabile.

Tabella 7

Diagnosi	Numero di pazienti	Sensibilità	95% di Intervallo di Confidenza
Aspergillosi provata	9	44,4% (4/9)	18,9-73,3%
Aspergillosi probabile	8	62,5% (5/8)	30,6-86,3%
Aspergillosi Provata e Probabile combinate	17*	52,9% (9/17)	31,0-73,8%

***Nota: 8 dei 17 pazienti sono risultati negativi per l'antigene galattomannano dell'*Aspergillus*. Tutti gli 8 pazienti risultati negativi per l'antigene galattomannano dell'*Aspergillus* hanno ricevuto una terapia con agenti antifungini. L'uso concomitante di terapie antimuffa antifungine in alcuni pazienti affetti da Aspergillosi Invasiva possono determinare una sensibilità ridotta³¹.**

B. Adulti

Il test di sensibilità è stato condotto utilizzando il test Platelia™ *Aspergillus* Ag nei tre siti su un totale combinato di 29 pazienti adulti destinatari di Trapianto di Midollo Osseo (BMT) e affetti da Leucemia con diagnosi di Aspergillosi Invasiva Provata o Probabile.

Tabella 8

Diagnosi	Numero di pazienti	Sensibilità	95% di Intervallo di Confidenza
Aspergillosi provata	11	81,8% (9/11)	52,3-94,9%
Aspergillosi probabile	18	77,8% (14/18)	54,8-91,0%
Aspergillosi Provata e Probabile combinate	29	79,3% (23/29)	61,6-90,2%

SPECIFICITÀ

A. Età pediatrica

Specificità per pazienti pediatrici

Il test di specificità è stato condotto utilizzando il test Platelia™ *Aspergillus* Ag nei tre siti su un totale combinato di 108 pazienti pediatrici immunocompromessi senza segni di Aspergillosi Invasiva (pazienti di controllo).

Tabella 9

Sito	Numero di pazienti	Specificità	95% di Intervallo di Confidenza
1	44	86,4 % (38/44)	73,3-93,6%
2	59	86,4 % (51/59)	75,5-93,0%
3	5	100% (5/5)	56,6-100%
Siti combinati	108	87,0% (94/108)	79,4-92,1%

***Nota: 4 pazienti con risultati di antigene di galattomannano positivo coincidenti con terapia piperacillina/tazobactam sono stati esclusi.**

Specificità per campioni pediatrici

Il test di specificità è stato condotto utilizzando il test Platelia™ *Aspergillus* Ag nei tre siti su un totale combinato di 1625* campioni prelevati da 108 pazienti pediatrici immunocompromessi senza segni di Aspergillosi Invasiva (pazienti di controllo).

Tabella 10

Sito	Numero di pazienti	Specificità	95% di Intervallo di Confidenza
1	794	98,9% (785/794)	97,9-99,4%
2	731	97,8% (715/731)	96,5-98,6%
3	100	100% (100/100)	96,3-100%
Siti combinati	1625	98,5% (1600/1625)	97,7-99,0%

***Nota: 80 campioni prelevati da 4 pazienti risultati positivi per l'antigene di galattomannano con terapia piperacillina/tazobactam sono stati esclusi.**

B. Adulti

Specificità per pazienti adulti

Il test di specificità è stato condotto utilizzando il test Platelia™ *Aspergillus* Ag nei tre siti su un totale combinato di 143 pazienti adulti destinatari di Trapianto di Midollo Osseo (BMT) e affetti da Leucemia senza segni di Aspergillosi Invasiva (pazienti di controllo).

Tabella 11

Sito	Numero di pazienti	Specificità	95% di Intervallo di Confidenza
1	28	78,6% (22/28)	60,5-89,8%
2	77	93,4% (71/77)	84,0-96,4%
3	38	89,5% (34/38)	75,9-95,8%
Siti combinati	143	88,8% (127/143)	82,6-93,0%

Specificità per campioni adulti

Il test di specificità è stato condotto utilizzando il test Platelia™ *Aspergillus* Ag nei tre siti su un totale combinato di 1262 campioni prelevati da 143 pazienti destinatari di Trapianto di Midollo Osseo (BMT) e affetti da Leucemia senza segni di Aspergilloso Invasiva (pazienti di controllo).

Tabella 12

Sito	Numero di campioni	Specificità	95% di Intervallo di Confidenza
1	349	98,0% (342/349)	95,9-99,0%
2	560	98,6% (552/560)	97,2-99,3%
3	353	98,9% (349/353)	97,1-99,6%
Siti combinati	1262	98,5% (1243/1262)	97,7-99,0%

VALORE PREDITTIVO

I valori predittivi negativo e positivo sono stati analizzati per la popolazione di pazienti partecipanti a questo studio. Basato sulla media reale del 13.6% di percentuale di prevalenza in pediatria e sul 16.9% di percentuale di prevalenza negli adulti osservata nel presente studio, i valori predittivi positivo e negativo sono stati calcolati come segue:

A. Età pediatrica

Prevalenza dello studio 13.6%

PPV: 39.1% 95% Intervallo di Confidenza: 22.2-59.2%

NPV: 92.2% 95% Intervallo di Confidenza: 85.3-96.0%

B. Adulti

Prevalenza dello studio 16,9%

PPV: 59.0% 95% Intervallo di Confidenza: 43.4-72.9%

NPV: 95.5% 95% Intervallo di Confidenza: 90.5-97.9%

La prevalenza attesa di Aspergilloso Invasiva varia con la popolazione di pazienti; sono state riportate percentuali dal 5 al 20%^{10, 24}.

Per le popolazioni di pazienti nell'estremità bassa della prevalenza pubblicata, i valori predittivi positivo e negativo sono state ricalcolate utilizzando il 5% di percentuale di prevalenza.

A. Età pediatrica

Prevalenza calcolata 5%

PPV: 17.6% 95% Intervallo di Confidenza: 6.5-39.8%

NPV: 97.2% 95% Intervallo di Confidenza: 92.1-99.1%

B. Adulti

Prevalenza calcolata 5%

PPV: 27.2% 95% Intervallo di Confidenza: 13.7-46.7%

NPV: 98.8% 95% Intervallo di Confidenza: 95.4-99.7%

II. CAMPIONI DI FLUIDO BAL- CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

La sensibilità e la specificità del test Platelia™ *Aspergillus* Ag con campioni di fluido BAL sono state valutate in due studi negli Stati Uniti su 116 campioni prelevati da 62 destinatari di trapianto di organo solido e 333 campioni di 116 destinatari di trapianto del polmone e in uno studio esterno agli Stati Uniti su 99 campioni prelevati da 99 pazienti ematologici ad alto rischio valutabile con o senza aspergilloso invasiva.

A.Sensibilità

La sensibilità è stata valutata in destinatari di trapianto di Organo Solido e di polmone e in pazienti ematologici con diagnosi di aspergilloso invasiva in base ai criteri EORTC/MSG.

I. Destinatari di Trapianto di Organo Solido con Aspergilloso Invasiva

Su un totale di 116 campioni prelevati da 62 destinatari di trapianto di organo in uno studio, la sensibilità è stata valutata in 5 destinatari ai quali era stata diagnosticata un'aspergilloso invasiva come mostrato nella tabella seguente.

Tabella 13

La sensibilità con il test Platelia™ *Aspergillus* Ag

Aspergilloso Invasiva Provata o Probabile in Destinatari di Trapianto di Organo Solido per Paziente

Diagnosi	N	Indice $\geq 0,5$	Sensibilità	95% di Intervallo di Confidenza
Aspergilloso provata	2	2	2/2 (100%)	34,2 - 100%
Aspergilloso probabile	3	3	3/3 (100%)	43,8 - 100%
Aspergilloso Provata e Probabile combinate	5	5	5/5 (100%)	56,5 - 100%

Tabella 14

La sensibilità con il test Platelia™ *Aspergillus* Ag

Aspergilloso Invasiva Provata o Probabile in Destinatari di Trapianto di Organo Solido per Tipo di Trapianto

Tipo di trapianto	N	Indice $\geq 0,5$	Sensibilità	95% di Intervallo di Confidenza
Cuore	1	1	1/1 (100%)	20,6 - 100%
Rene	3	3	3/3 (100%)	43,8 - 100%
Fegato	1	1	1/1 (100%)	20,6 - 100%
Totale	5	5	5/5 (100%)	56,5 - 100%

II. Destinatari di Trapianto di Polmone con aspergilloso invasiva

Su un totale di 333 campioni prelevati da 116 destinatari di trapianto di organo in un altro studio, la sensibilità è stata valutata in 6 destinatari ai quali era stata diagnosticata un'aspergilloso invasiva come mostrato nella tabella seguente.

Tabella 15

La sensibilità con il test Platelia™ *Aspergillus* Ag

Aspergilloso Invasiva Provata o Probabile in Destinatari di Trapianto di Polmone per Paziente

Diagnosi	N	Indice $\geq 0,5$	Sensibilità	95% di Intervallo di Confidenza
Aspergilloso provata	2	1	1/2 (50,0%)	9,4 - 90,6%
Aspergilloso probabile	4	3	3/4 (75,0%)	30,0 - 95,4%
Aspergilloso Provata e Probabile combinate	6	4	4/6 (66,7%)	30,0 - 90,3%

III. Pazienti affetti da patologia ematologica con Aspergilloso invasiva

La sensibilità è stata inoltre valutata in un terzo studio eseguito su 58 campioni prelevati da 58 pazienti affetti da patologia ematologica ai quali era stata diagnosticata un'aspergilloso invasiva come indicato nella tabella seguente. Nello studio è stata eseguita un'analisi retrospettiva sui campioni BAL prelevati da pazienti ematologici ad alto rischio utilizzando il Platelia™ *Aspergillus* EIA. I dati forniti da questo studio pubblicato sono stati valutati per stabilire le caratteristiche di performance del Platelia™ *Aspergillus* EIA su fluido BAL ²⁹.

Tabella 16

Aspergilloso Invasiva provata o probabile in pazienti affetti da patologia ematologica

Diagnosi	N	Indice $\geq 0,5$	Sensibilità	95% di Intervallo di Confidenza
Aspergilloso provata	31	31	31/31 (100%)	89,0 - 100%
Aspergilloso probabile	27	26	26/27 (96,3%)	81,7 - 99,3%
Aspergilloso Probabile e Provata combinate	58	57	57/58 (98,3%)	90,8 - 99,7%

B. Specificità

La specificità è stata valutata in un totale di 98 campioni BAL prelevati da 57 destinatari di trapianto di organo solido e 305 campioni BAL prelevati da 110 destinatari di trapianto di polmone senza Aspergilloso Invasiva ed è illustrata nella tabella seguente.

I risultati sono relativi a campioni prelevati da destinatari di trapianto con e senza colonizzazione di muffa:

Tabella 17

Specificità per campione

Pazienti destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza Aspergilloso Invasiva

N = 403 Fluidi BAL

Diagnosi	N	Indice $< 0,5$	Negativi (%)	95% di Intervallo di Confidenza
Controlli senza colonizzazione	341	330	330/341(96,8%)	94,3 - 98,2%
Controlli con colonizzazione	62	50	50/62 (80,6%)	69,1 - 88,6%
Totale Controlli	403	380	380/403(94,3%)	91,6 - 96,2%

La specificità nei campioni di fluido BAL prelevati da destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza Aspergilloso Invasiva è presentata per tipo di trapianto nella tabella 18 seguente:

Tabella 18

Specificità per campione

Pazienti destinatari di trapianto di organo solido e di polmone senza Aspergilloso Invasiva per Tipo di Trapianto

N = 403 Fluidi BAL

Tipo di trapianto	N	Indice $< 0,5$	Negativi (%)	95% di Intervallo di Confidenza
Cuore	28	25	25/28 (89,3%)	72,8 - 96,3%
Rene	25	22	22/25 (88,0%)	70,0 - 95,8%
Fegato	23	22	22/23 (95,7%)	79,0 - 99,2%
Polmone	327	311	311/327 (95,1%)	92,2 - 97,0%
Controllo Totale	403	380	380/403 (94,3%)	91,6 - 96,2%

La specificità è stata inoltre valutata su un totale di 41 campioni BAL prelevati da 41 pazienti affetti da patologia ematologica senza aspergillosi invasiva. I dati sono illustrati qui di seguito.

Tabella 19

Specificità per campione

Pazienti affetti da patologia ematologica senza Aspergillosi invasiva

N= 41

Diagnosi	N	Indice < 0.5	Negativi (%)	95% di Intervallo di Confidenza
Pazienti di controllo	41	33	33/41 (80,5%)	66,0 – 89,8%

16-BIBLIOGRAFIA

1. **Ansorg, R., R. Van Den Boom, and P.M. Rath. 1997.** Detection of *Aspergillus* galactomannan antigen in foods and antibiotics. *Mycoses* 40 : p. 353-7.
2. **Ascioglu, S., J. H. Rex, B. De Pauw, J. E. Bennett, J. Bille, F. Crokaert, D. W. Denning, J. P. Donnelly, J. E. Edwards, Z. Erjavec, D. Fiere, O. Lortholary, J. Maertens, J. F. Meis, T. F. Patterson, J. Ritter, D. Selleslag, P. M. Shah, D. A. Stevens and T. J. Walsh. 2002.** Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin.Infect.Dis.* 34: p. 7-14.
3. **Aubry, A., R. Porcher, J. Bottero, S. Touratier, T. Leblanc, B. Brethon, P. Rousset, E. Raffoux, J. Menotti, F. Derouin, P. Ribaud and A. Sulhian. 2006.** Occurrence and Kinetics of False-Positive *Aspergillus* Galactomannan Test Results following Treatment with β -Lactam Antibiotics in Patients with Hematological Disorders. *J. Clin. Microbiol.* 44: p. 389-394.
4. **Barnes P. D. and K. A. Marr. 2007** Risks, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Brit. Journ. Haematol.* 139: p. 519-531.
5. **Becker M. J., E. J. Lugtenburg, J. J. Cornelissen, C. V.D. Schee, H. C. Hoogsteden and S. D. Marie. 2003** Galactomannan detection in computerized tomography-based broncho-alveolar lavage fluid and serum in haematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. *Br. J. Haematol.* 121(3): p. 448-457.
6. **Blijlevens, N. M., J. P. Donnelly, J. F. Meis, P. E. Verweij, and B. E. De Pauw. 2002** *Aspergillus* galactomannan antigen levels in allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients given total parenteral nutrition. *Transpl. Infect. Dis.* 4: p. 64-65.
7. **Chambon-Pautas, C., J. M. Costa, M.T. Chaumette, C. Cordonnier, and S. Bretagne. 2001** Galactomannan and polymerase chain reaction for the diagnosis of primary digestive aspergillosis in a patient with acute myeloid leukaemia. *J. Infect.* 43: p. 213-214.
8. **Clancy C., R. A. Jaber, H. L. Leather, J. R. Wingard, B. Staley, J. L. Wheat, C. Cline, K. H. Rand, D. Schain, M. Baz and M. H. Nyugen. 2007** Bronchoalveolar Lavage Galactomannan in Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis among Solid-Organ Transplant Recipients. *J. Clin. Microbiol.* 45(6): p. 1759-1765.
9. **De Repentigny, L., L. Kaufman, G. T. Cole, D. Kruse, J. P. Latge, and R. C. Matthews. 1994.** Immunodiagnosis of Invasive Fungal Infections. *J Med Vet Mycol* 32: p. 239-252.
10. **Denning, D. W. 1998.** Invasive Aspergillosis. *Clin Infect.Dis.* 26: p. 781-803.
11. **Desai R, L.A. Ross and J. A. Hoffman Poster AAA 2008.** The Role of Bronchoalveolar Lavage Galactomannan Assay in the Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Pediatric Populations.
12. **Erjavec, Z. and P. E. Verweij. 2002.** Recent progress in the diagnosis of fungal infections in the immunocompromised host. *Drug Resist. Updat.* 5: p.3-10.
13. **Gangneux, J., D. Lavarde, S. Bretagne, C. Guiguen and V. Gandemer. 2002.** Transient *Aspergillus* antigenaemia: think of milk. *Lancet.* 359(9313):1251.
14. **Hage, C. A., J. M. Reynolds, M. Durkin, L. J. Wheat, K. S. Knox. 2007.** Plasmalyte as a Cause of false-positive results for *Aspergillus* galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid. *J. Clin. Microbiol.* 45: p. 676-677.

15. **Herbrecht, R., V. Letscher-Bru, C. Oprea, B. Lioure, J. Waller, F. Campos, O. Villard, K. L. Liu, S. Natarajan-Ame, P. Lutz, P. Dufour, J. P. Bergerat, and E. Candolfi. 2002.** *Aspergillus* galactomannan detection in the diagnosis of Invasive Aspergillosis in cancer patients. *J Clin. Oncol.* 20: p.1898-1906.
16. **Herbrecht, R., D. Denning, T. Patterson, J. Bennett, R. Greene, J. Oestmann, W. Kern, K. Marr, P. Ribaud, O. Lortholary, R. Sylvester, R. Rubin, J. Wingard, P. Stark, C. Durand, D. Caillot, E. Thiel, P. Chandrasekar, M. Hodges, H. Schlamm, P. Troke, B. DePauw. 2002.** Voriconazole Versus Amphotericin B for Primary Therapy of Invasive Aspergillosis. *N Engl J Med.* 347, 6: p. 408-415.
17. **Hussain S., D.L. Paterson, S. M. Studer, M. Crespo, J. Pilewski, M. Durkin, J.L. Wheat, B. Johnson, L. McLaughlin, C. Bentsen, K. McCurry and N. Singh. 2007** *Aspergillus* Galactomannan Antigen in the Bronchoalveolar Lavage Fluid for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Lung Transplant Recipients. *Transplantation* 83(10): p. 1330-1336.
18. **Hussain S., C. J. Clancy, M.H. Nyugen, S. Swartzentruber, H. Leather, A. M. LeMonte, M.M. Durkin, K. S. Knox, C. A. Hage, C. Bentsen, N. Singh, J.R. Wingard and L.J. Wheat. 2008** Performance Characteristics of the Platelia™ *Aspergillus* AG for detection of *Aspergillus* galactomannan antigen in bronchoalveolar lavage fluid. *Clin. Vaccine Immunol.* 15(12) : p. 1760-1763.
19. **Khan ZU, Ahmad S, and Theyyathel AM. 2008** Detection of *Aspergillus fumigatus*-specific DNA, (1-3)-beta-d-glucan and galactomannan in serum and bronchoalveolar lavage specimens of experimentally infected rats. *Mycoses*; 51: p. 129-35.
20. **Klont R.R., M.A.S.H. Mennink-Kersten and P. E. Verweij. 2004** Utility of *Aspergillus* Antigen Detection in Specimens Other than Serum Specimens. *Clin. Infect. Diseases.* 39: p. 1467-74.
21. **Knox KS, Rose AS, and Hage CA. 2007** Rapid Fungal Diagnosis: The Utility of Bronchoalveolar Lavage for Pneumocystis and Endemic Mycoses. *Current Fungal Infection Reports*; 1: p. 153-8.
22. **Kwak EJ and Nyugen MH. 2008** Galactomannan Detection in Bronchoalveolar Lavage Fluid. *Current Fungal Infection Reports*; 2: p.206-213.
23. **Latge, J. P. 1995.** Tools and trends in the detection of *Aspergillus fumigatus*. *Curr Top Med Mycol* 6: p. 245-281.
24. **Latge, J. P. 1999** *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 12[2], 310-50.
25. **Latge, J. P., H. Kobayashi, J. P. Debeaupuis, M. Diaquin, J. Sarfati, J. M. Wieruszkeski, E. Parra, J. P. Bouchara, and B. Fournet. 1994.** Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of *Aspergillus fumigatus*. *Infect. Immun.* 62: p. 5424-5433.
26. **Letscher-Bru, V., A. Cavalier, E. Pernot-Marino, H. Koenig, D. Eyer, J. Waller and E. Candolfi. 1998.** Recherche d'antigène galactomannane aspergillaire circulant par Platelia™ *Aspergillus*: antigenémies positives persistantes en l'absence d'infection. *J. Med. Mycol.* 8:p. 112-113.
27. **Maertens, J., J. Verhaegen, H. Demuyne, P. Brock, G. Verhoef, P. Vandenberghe, J. Van Eldere, L. Verbist, and M. Boogaerts. 1999.** Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive Aspergillosis. *J.Clin. Microbiol.* 37: p. 3223-3228.
28. **Maertens, J., J. Verhaegen, K. Lagrou, J. Van Eldere, and M. Boogaerts. 2001.** Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for Invasive Aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 97: p. 1604-1610.
29. **Maertens J., V. Maertens, K. Theunissen, W. Meersseman, P. Meersseman, S. Meers, E. Verbeken, G. Verhoef, J. V. Eldere and K. Lagrou. 2009.** Bronchoalveolar Lavage Fluid Galactomannan for the Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Patients with Hematologic Diseases. *Clin. Infect. Diseases.* 49: 1688-93.
30. **Marr K. A., S. A. Balajee, L. McLaughlin, M. Tabouret, C. Bentsen and T.J. Walsh. 2004.** Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis: Variables That Affect Performance. *J. Infect. Dis.* 190 :641-9
31. **Marr K. A., M. Laverdiere, A. Gugel and W. Leisenring. 2005.** Antifungal therapy decreases sensitivity of the *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay. *Clin. Infect. Dis* 40: p. 1762-9.

32. **Mattei, D., D. Rapezzi, N. Mordini, F. Cuda, C. Lo Nigro, M. Musso, A. Arnelli, S. Cagnassi, and A. Gallamini. 2004.** False-positive *Aspergillus* galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay results in vivo during amoxicillin-clavulanic acid treatment. *J. Clin. Microbiol.* 42: p. 5362-5363.
33. **Mennink-Kersten M. A. S. H., D. Ruegebrink, R. Klont, A. Warris, H. J. M. Op den Camp and P. Verweij. 2005** Bifidobacterial Lipoglycan as a New Cause for False-Positive Platelia™ *Aspergillus* Enzyme Immunoabsorbent Assay Reactivity. *J. Clin. Microbiol.* 43(8): 3925-3931.
34. **Meersseman W., K. Lagrou, J. Maertens, A. Wilmer, G. Hermans, S. Vanderschueren, I. Spriet, E. Verbeken and E. V. Wijngaerden. 2008** *galactomannan* in Bronchoalveolar Lavage Fluid. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 177: p. 27-34.
35. **Musher B., D. Fredericks, W. Leisenring, S. A. Balajee, C. Smith and K. Marr. 2004** *Aspergillus galactomannan* Enzyme Immunoassay and Quantitative PCR for Diagnosis of Invasive Aspergillosis with Bronchoalveolar Lavage Fluid. *J. Clin. Microbiol.* 42(12): p. 5517-5522.
36. **Nareddy, S., P. H. Chandrasekar. 2008.** False-positive *Aspergillus galactomannan* (GM) assay in histoplasmosis. *J. Infection* 56: p. 80-81.
37. **Nguyen MH, R. Jaber, H.L. Leather, J. R. Wingard, B. Staley, L. J. Wheat, C. L. Cline, M. Baz, K.H. Rand and C. J. Clancy. 2007** Use of bronchoalveolar lavage to detect *galactomannan* for diagnosis of pulmonary aspergillosis among nonimmunocompromised hosts. *J Clin Microbiol*; 45:2787-92.
38. **Patterson D. L. and N. Singh. 1999.** Invasive Aspergillosis in Transplant Recipients. *Medicine.* 78(2) : p. 123-38.
39. **Pauw B.D., Walsh T. J., Donnelly J. P., Stevens D.A., Edwards J. E., Calandra T., Pappas P. G., Maertens J., Lortholary O., Kauffman C. A., Denning D.W., Patterson T.F., Maschmeyer G., Bille J., Dismukes W.E., Herbrecht R., Hope W. W., Kibbler C.C., Kulberg B. J., Marr K. A., Munoz P., Odds F. C., Perfect J. R., Restrepo A., Ruhnke M., Segal M., Segal B. H., Sobel J. D., Sorell T.C., Viscoli C., Wingard J.R., Zaoutis T. and J.E. Bennett. 2008**
Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG Consensus Group). *Clin. Infectious Disease* 46, p. 1813-1821.
40. **Penack O., P. Rempf, B. Graf, I. W. Blau and E. Thiel. 2008** *Aspergillus galactomannan* testing in patients with long-term neutropenia: implications for clinical management. *Ann Oncol.* 19(5): p. 984-9, Epub 2008.
41. **Racil, Z., I. Kocmanova, M. Lengerova, J. Winterova, J. Mayer. 2007.** Intravenous PLASMA-LYTE as a Major Cause of False-Positive Results of Platelia™ *Aspergillus* Test for *galactomannan* Detection in Serum. *J. Clin. Microbiol.* 45(2): p. 3141-3142.
42. **Salonen J., O-P. Lehtonen, M-R Terasjarvi and J. Nikoskelainen. 2000.** *Aspergillus* Antigen in Serum, Urine and Bronchoalveolar Lavage Specimens of Neutropenic Patients in Relation to Clinical Outcome. *Scand J. Infect. Dis.* 32: p.485-490.
43. **Sanguinetti M., B. Posteraro, L. Pagano, G. Pagliari, L. Fianchi, L. Mele, M. L. Sorda, A. Franco and G. Fadda. 2003.** Comparison of Real-Time PCR, Conventional PCR, and *galactomannan* Antigen Detection by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay using Bronchoalveolar Lavage Fluid Samples from Hematology Patients for Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis. *J. Clin. Microbiol.* 41(8): p.3922-3925.
44. **Siemann M., M. Koch-Dorfler and M. Gaude 1998.** False-positive results in premature infants with the Platelia™ *Aspergillus* sandwich enzyme-linked immunoabsorbent assay. *Mycoses.* 41(9-10): 373-7.
45. **Stynen, D., A. Goris, J. Sarfati, and J. P. Latge. 1995.** A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with Invasive Aspergillosis. *J.Clin. Microbiol.* 33: p. 497-500.
46. **Stynen, D., J. Sarfati, A. Goris, M. C. Prevost, M. Lesourd, H. Kamphuis, V. Darras, and J. P. Latge. 1992.** Rat monoclonal antibodies against *Aspergillus galactomannan*. *Infect.Immun.* 60: p. 2237-2245.

47. **Sulahian, A., F. Boutboul, P. Ribaud, T. Leblanc, C. Lacroix, and F. Derouin. 2001.** Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of Invasive Aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study. *Cancer* 91: p. 311-318.
48. **Sulahian, A., M. Tabouret, P. Ribaud, J. Sarfati, E. Gluckman, J. P. Latge, and F. Derouin. 1996.** Comparison of an enzyme immunoassay and latex agglutination test for detection of *galactomannan* in the diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Eur.J Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15: p. 139-145.
49. **Surmont, J., W. Stockman. 2007.** Gluconate-containing intravenous solutions: Another cause of false-positive *galactomannan* assay reactivity. *J. Clin. Microbiol.* 45: p. 1373.
50. **Swanink, C. M., J. F. Meis, A. J. Rijs, J. P. Donnelly, and P. E. Verweij. 1997.** Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *Aspergillus galactomannan*. *J. Clin. Microbiol.* 35: p. 257-260.
51. **Upton A., A. Gugel, W. Leisenring, A. Limaye, B. Alexander, R. Hayden and K. Marr. 2005.** Reproducibility of Low *galactomannan* Enzyme Immunoassay Index Values Tested in Multiple Laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 43: p 4796-4800.
52. **Verdaguer V., T. J. Walsh, W. Hope and K. Cortez. 2007** *galactomannan* antigen detection in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 7(1):p. 21-32.
53. **Verweij, P. E., E. C. Dompeling, J. P. Donnelly, A. V. Schattenberg, and J. F. Meis. 1997.** Serial monitoring of *Aspergillus* antigen in the early diagnosis of Invasive Aspergillosis. Preliminary investigations with two examples. *Infection* 25: p. 86-89.
54. **Verweij, P. E. and J. F. Meis. 2000.** Microbiological diagnosis of Invasive Fungal Infections in transplant recipients. *Transpl.Infect.Dis.* 2: p. 80-87.
55. **Verweij, P. E., D. Stynen, A. J. Rijs, B. E. de Pauw, J. A. Hoogkamp -Korstanje, and J. F. Meis. 1995.** Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay compared with Pastorex latex agglutination test for diagnosing Invasive Aspergillosis in immunocompromised patients. *J. Clin. Microbiol.* 33: p. 1912-1914.
56. **Verweij, P. E., C. M. Weemaes, J. H. Curfs, S. Bretagne, J. F. Meis. 2000.** Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and Invasive Aspergillosis. *J. Clin. Microbiol.* 38: p. 3900-3901.
57. **Verweij P., J-P Latge, A. J. J. M. Rijs, W. J. G. Melchers, B. E. D. Pauw, J. A. A. Hoogkamp-Korstanje. 1995** Comparison of Antigen Detection and PCR Assay Using Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosing Invasive Pulmonary Aspergillosis in Patients Receiving Treatment for Hematological Malignancies. *J. Clin. Microbiol.* 33(12): p. 3150-3153.
58. **Walsh T. J., R.L. Schaefele, T. Sein, J. Gea-Banacloche, M. Bishop, N. Young, R. Childs, J. Barrett, H. L. Malech, and S.M. Holland. 2002.** Reduced expression of *galactomannan* antigenemia in patients with Invasive Aspergillosis and chronic granulomatous disease or Job's syndrome. Abstracts of the 40th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. Arlington, VA. P. 105 ; Abstr. 345.
59. **Wheat, L. J., E. Hackett, M. Durkin, P. Connolly, R. Petraitiene, T. J. Walsh, K. Knox, C. Hage. 2007.** Histoplasmosis-associated cross-reactivity in the Bio-Rad Platelia™ *Aspergillus* enzyme immunoassay. *Clin. Vaccine Immunol.* 14 (5): p. 638-40.
60. **Wheat J.L., A. M. Monte, M.M. Durkin, S.L. Swartzentruber, K.K. Knox, C.A. Hage, C. Bentsen, S. Husain, N. Singh, C.J. Clancy, M.H. Nyugen AAA 2008.** Poster Detection of *Aspergillus galactomannan* in BAL in the Platelia Aspergillus AG, as performed at MiraVista Diagnostics. <http://www.miravistalabs.com> Site verified June 9, 2008.
61. **Wheat J. and T.J. Walsh. 2008** Diagnosis of Invasive Aspergillosis by *galactomannan* Antigenemia Detection using an enzyme immunoassay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 27:245-51.
62. **Yeo, S. F. and B. Wong. 2002.** Current Status of Nonculture Methods for Diagnosis of Invasive Fungal Infections. *Clin.Microbiol.Rev.* 15: p. 465-484.

- (BG)** • Този продукт съдържа човешки или животински компоненти. Бъдете внимателни при работа с него.
- (CZ)** • Tento výrobek obsahuje lidské nebo zvířecí komponenty. Zacházejte s ním opatrně.
- (DE)** • Dieses Produkt enthält Bestandteile menschlichen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.
- (DK)** • Dette produkt indeholder humane og animalske komponenter. Skal behandles med forsigtighed.
- (EE)** • Käesolev toode sisaldab inim- või loomseid komponente. Käsitseta ettevaatlikult.
- (EN)** • This product contains human or animal components. Handle with care.
- (ES)** • Este producto contiene componentes humanos o animales. Manejar con cuidado.
- (FI)** • Tässä tuotteessa on ihmistä tai eläimistä peräisin olevia osia. Käsittele varovasti.
- (FR)** • Ce produit contient des composants d'origine humaine ou animale. Manipuler avec précaution.
- (GR)** • Αυτό το προϊόν περιέχει ανθρώπινα ή ζωικά στοιχεία. Χειριστείτε το με προσοχή.
- (HR)** • Ovaj proizvod sadrži ljudske ili životinjske sastojke. Pažljivo rukovati.
- (HU)** • A készítmény emberi vagy állati eredetű összetevőket tartalmaz. Óvatosan kezelendő.
- (IT)** • Questo prodotto contiene componenti umane o animali. Maneggiare con cura.
- (LT)** • Šiame produkto yra žmogiškosios arba gyvūninės kilmės sudėtiniai daliai. Elgtis atsargiai.
- (MT)** • Dan il-prodott fih komponenti umani jew tal-annimali. Uża b'attenzjoni.
- (NL)** • Dit product bevat menselijke of dierlijke bestanddelen. Breekbaar.
- (NO)** • Dette produktet inneholder humane eller animalske komponenter. Håndteres med forsiktighet.
- (PL)** • Niniejszy produkt zawiera składniki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Należy obchodzić się z nim ostrożnie.
- (PT)** • Este medicamento contém componentes de origem humana ou animal. Manuseie com cuidado.
- (RO)** • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manevrati-l cu grijă.
- (SE)** • Denna produkt innehåller beståndsdelar från människa eller djur. Hantera produkten varsamt.
- (SI)** • Izdelek vsebuje človeške ali živalske sestavine. Rokujte previdno.
- (SK)** • Tento výrobok obsahuje ľudské alebo zvieracie zložky. Narábajte s ním opatrne.



H314-H317
P280-P305+P351+P338-
P301+P330+P331-P303+P361+P353-
P333+P313-P501

(BG)

опасно

Причинава тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Може да причини алергична кожна реакция.

Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/ предпазни очила/предпазна маска за лице. ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промийвайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължавайте да промивате. ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: изплатнете устата. НЕ предизвиквайте повръщане. ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода/вземете душ. При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ. Изхвърлете съдържанието/ контейнера в съответствие с местните/регионалните/ националните/международните разпоредби.

(CZ)

Nebezpečí

Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci.

Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/ obličejový štít. Při ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Při POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení. Při STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření. Obsah/nádobu likvidujte v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.

(DE)

Gefahr

Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Entsorgung des Inhalts / des Behälters gemäß den örtlichen / regionalen / nationalen / internationalen Vorschriften.

(DK)

Fare

Forårsager svære forbrændinger af huden og øjenskader. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ ansigtsbeskyttelse VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Skyl munden. Fremkald IKKE opkastning. VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilmødnet jø tages straks af/fjernes. Skyl/brus huden med vand. Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. Bortskaffelse af indholdet/beholderen i henhold til de lokale/ regionale/nationale/internationale forskrifter.

(EE)

Ettevaatust

Põhjustab rasket nahasõõvitust ja silmakahjustusi. Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni.

Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski. SILMA SATUMISE KORRAL: loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldada kontaktläätsed, kui neid kasutatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord. ALLANEELAMISE KORRAL: loputada suud. MITTE kutsuda esile oksendamist. NAHALE (või juustele) SATUMISE KORRAL: võtta viivitamata kõik saastunud rõivad seljast. Loputada nahka veega/loputada duši all. Nahaärrituse või -obor kord: pöörduda arsti poole. Sisu/konteineri käitlus vastavuses kohalike/regionaalsete/rahvuslike/rahvusvaheliste nõuetega.

(EN)

Danger

Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic skin reaction.

Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/ face protection. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do NOT induce vomiting. IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/ attention. Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

(ES)

Peligro

Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Llevar guantes que aislen del frío/gafas/máscara. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE INGESTION: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Eliminar el contenido o el recipiente conforme a la reglamentación local/regional/nacional/internacional.

(FI)

Vaara

Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion.

Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/ kasvosuojainta. JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, edellyttäen että ne voidaan poistaa. JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Huuhdo suu. Eie kas oksennuttua. JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOILLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo/suihuta iho vedellä. Jos ilmenee ihoärsytystä tai ihottumaa: Hakeudu lääkäriin. Säilytä säiliö(t) noudattaen paikallisia/alueellisia/kansallisia/ kansainvälisiä määräyksiä.

(FR)

Danger

Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer une allergie cutanée.

Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/du visage. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. EN CAS D'INGESTION: rincer la bouche. NE PAS faire vomir. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. Eliminer le contenu/réceptacle conformément à la réglementation locale/régionale/nationale/internationale.

(GR)

Κίνδυνος

Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.

Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για ταμάτια/πρόσωπο. ΣΕ

ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΗΣΗΣ: Ξεπλύνετε το στόμα. ΜΗΝ ΠΡΟΚΛΕΪΣΤΕ ΕΜΕΤΟ. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Αφαιρέστε αμέσως όλα τα ρούχωντα ενδύματα. Ξεπλύνετε το δέρμα με νερό/στο ντους. Εάν παρατηρήσει ερυθρισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε/γιατρό. Απορρίψτε τα περιεχόμενα/δοχεία σύμφωνα με τους τοπικούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

(HR)

Opasnost

Uzrokuje teške opекline kože i ozljede oka. Моže izazvati алергјску реакцију на кожи. Nositi заштитне рукаvice/заштитну одјелю/заштиту за очи/заштиту за лице. У СЛУЧАЈУ DODIRA S OČIMA: опрезно ispirati vodom nekoliko minuta. Уклонити контактне леће уколико их носите и ако се оне лако уклапају. Наставити ispiranje. АКО SE PROGUTA: ispirati уста. NE izazivati povраćanje. У СЛУЧАЈУ DODIRA S KOŽOM (ili kosom): одмах уклонити/skinuti svу zаgаnеnаu одјелу. Isprati коžu vodom/tuširanjem. У случају nadраđаtи ili osipa на кожи: zаtrаžити savjet/pomoć liječnika. Оdlоžите sadržaje /spremnike у складу s lokalnim/regionalnim/ nacionalnim/međunarodnim одredbаmа.

(HU)

Veszély

Smrkialni nudegina odq ir pažeidžia akis. Allergiás bőrreakciót válthat ki. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használatra kötelező. SZEMBE KERÜLES esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. LENYELÉS esetén: a szájat ki kell öblíteni. TILOS hánytatni. HA BORRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás. Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. Az edény tartalmát / a tartályt a helyi/regionalis/nemzeti/nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell hulladékként elhelyezni.

(IT)

Pericolo

Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare una reazione allergica cutanea. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Il viso. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con le disposizioni locali / regionali / nazionali / internazionali.

(LT)

Pavojinga

Smrkialni nudegina odq ir pažeidžia akis. Gali sukelti alerginę odos reakciją. Mūvēti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/ naudoti akių (veido) apsaugos priemones. PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akių. PRARĖJUS: išskalayti burną. NESKATINTI vėmimo. PATEKUS ANT ODOŠ (arba plaukų): Nedelsiant nuvilti/pasalinėti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu/gydytis. Jeigu sudirginama oda arba ja išberia: kreiptis į gydytoją. Tuinį/talpa išplinti (išmesti) - šalinti pagal vietines / regionines / nacionalines / tarptautines taisykles.

(NL)

Gevaar

Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/ oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien

mogelijk; blijven spoelen. NA INSLIKKEN: de mond spoelen — GEEN braken opwekken. BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken — huid met water afspelen/afdouchen. Bij huidirritatie of uitslag: een arts raadplegen. De inhoud en de verpakking verwerken volgens de plaatselijke/regionale/nationale/internationale voorschriften.

(NO)

Fare

Forårsaker alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. Kan forårsake allergiske hudreaksjoner. Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i opptil flere minutter. Fjern evt. kontaktlinser såfremt dette er lett mulig. Fortsett skyllingen. VED SVELGING: Skyll munnen. IKKE fremkall brekninger. VED HUDKONTAKT (eller kontakt med hår): Alle tilsølte klær må fjernes straks. Vask/dusj huden med vann. Ved hudirritasjon eller -utslett: Kontakt / tilkall lege. Innholdet / emballasjonen skal avhendes i henhold til de lokale / regionale / nasjonale / internasjonale forskrifter.

(PL)

Niebezpieczeństwo

Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. Može powodować reakcję alergiczną skóry. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. W PRZYPADKU POŁKNIECIA: Wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów. W PRZYPADKU KONTAKTU Z SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast usunąć/zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/przyszyścić. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/ zgłosić się pod opiekę lekarza. Zawartość / pojemnik uważać zgodnie z przepisami miejscowymi / regionalnymi / narodowymi / międzynarodowymi.

(PT)

Perigo

Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/ retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. Eliminar o conteúdo/ recipiente de acordo com a legislação local/regional/nacional/ internacional.

(RO)

Pericol

Provocă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Poate provoca o reacție alergică a pielii. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ echipament de protecție a ochilor/ chipament de protecție a feței. ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: clătiți gura. NU provocați vomă. ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau părul): scoateți imediat toată îmbrăcămintea contaminată. Clătiți pielea cu apă/faceți duș. În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: consultați medicul. Aruncați conținutul/ recipientul în acord cu regulamentele locale/regionale/ naționale/internationale.

(SE)

Fara

Orsaker allvariga frätskador på hud och ögon. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Använd skyddshandskar/skyddsskläder/ögonskydd/ ansiktsskydd. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser

om det går lätt. Fortsätt att skölja. VID FÖRTÄRING: Skölj munnen. Framkalla INTE kräkning. VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/duscha. Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. Innehållet / behållaren avfallshanteras enligt lokala / regionala / nationella / internationella föreskrifter.

(SI)

Nevarno

Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Lahko povzroči alergijski odziv kože.

Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščitno za oči/zaščitno za obraz. PRI STIKU Z OČMI: previdno izpirajte z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem. PRI ZAUŽITJU: izprati usta. NE izzvati bruhanja. PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): takoj odstraniti/sleči vsa kontaminirana oblačila. Izprati kožo z vodo/prho. Če nastopi draženje kože ali se pojavi izpuščaj: poiščite zdravniško pomoč/oskrbo. Vsebinsko/vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi/regionalnimi/narodnimi mednarodnimi predpisi.

(SK)

Nebezpečenstvo

Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Măže provoca alergickú kožnú reakciu.

Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ ochranu tváre. PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. PO POŽITÍ: vypláchnite ústa. Nevyvolávajte zvracanie. PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Odstráňte/vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou/sprchou. Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvorí vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Zneškodnenie obsahu/obalu v súlade s miestnymi/oblastnými/národnými/medzinárodnými nariadeniami.

Distributed in the U.S. by:

Bio-Rad Laboratories

6565 185th Avenue NE

Redmond, WA 98052

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré

92430 Marnes-la-Coquette France

Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00

Fax.: +33 (0) 1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



2013/10

881115