

clarus
ASPERGILLUS GM
ENZYMELMMUNOASSAY

For the Qualitative Detection of *Aspergillus* Galactomannan – REF AGM101

R_x ONLY

IVD For In Vitro
Use Only

2°C  8°C



VORGESEHENE VERWENDUNG

Clarus *Aspergillus* Galactomannan EIA (AGM EIA) ist ein nicht automatisierter immunenzymatischer Sandwich-Mikroplatten-Test, der für den qualitativen Nachweis von *Aspergillus* galactomannan in Serum- und bronchoalveolären Lavage (BAL)-Proben von Patienten mit einem Risiko für invasive Aspergillose verwendet wird.

Der clarus AGM EIA ist ein Test, der bei der Diagnose von Aspergillose in Verbindung mit anderen diagnostischen Verfahren wie mikrobiologische Kultur, histologische Untersuchung von Biopsieproben sowie dem Röntgennachweis als Hilfsmittel eingesetzt werden kann. Er ist für den professionellen Einsatz im Labor vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Aspergillus spp. sind weltweit vorkommende Fadenpilze, die sowohl in Innen- als auch in Außenbereichen überleben können. Die invasive Aspergillose (IA) wird durch das Einatmen dieser Pilzsporen verursacht. IA stellt eine der größten Bedrohungen für Empfänger von hämatopoetischen Stammzellen und festen Organtransplantaten dar. Auch für Menschen, bei denen das Immunsystem aufgrund von Krankheiten wie einer HIV/AIDS-Infektion geschwächt ist, stellt sie ein hohes Risiko dar.¹⁻³ Zu den nicht-traditionellen Risikofaktoren, die unlängst für IA identifiziert wurden, gehören Intensivaufenthalte und Virusinfektionen der Atemwege⁴. In den letzten zwei Jahrzehnten ist die Häufigkeit von IA aufgrund des breiten Einsatzes von Behandlungsmaßnahmen bei einigen dieser Erkrankungen, wie Chemotherapie und Immunsuppressiva, deutlich gestiegen⁵⁻⁶. Berichten zufolge machen *Aspergillus*-Infektionen bis zu 41 % der Infektionen bei allen Transplantationspatienten aus und verursachen innerhalb dieser Gruppe eine extrem hohe Sterblichkeitsrate von bis zu 92 %.² IA ist diagnostisch schwierig und erfordert daher einen multidimensionalen Ansatz, der Patientenmerkmale, klinische und radiologische Befunde und mykologische Beweise umfasst⁷⁻⁹. Die frühzeitige Erkennung und Behandlung von Infektionen ist entscheidend, um die mit dieser Krankheit verbundene Sterblichkeit zu senken¹⁰⁻¹¹.

Der clarus AGM EIA ist ein nicht automatisierter immunenzymatischer Sandwich-Mikroplatten-Test, der *Aspergillus* galactomannan in Serum- und BAL-Proben nachweist. Er kann bei der Diagnose von Aspergillose in Verbindung mit anderen diagnostischen Verfahren wie mikrobiologische Kultur, histologische Untersuchung von Biopsieproben sowie dem Röntgennachweis als Hilfsmittel eingesetzt werden.



BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Clarus AGM EIA ist ein nicht automatisierter immunenzymatischer Sandwich-Mikroplatten-Test, der *Aspergillus* galactomannan in Serum- und BAL-Proben nachweist. Vor dem Test ist eine Hitze-Vorbehandlung der Kontrollen, Serum- und BAL-Proben erforderlich. Nach der Vorbehandlung wird der Probenüberstand und der Überstand der Kontrollen in mit Anti-*Aspergillus*-Antikörpern beschichtete Mikrotiter-Wells pipettiert. Die Mikrotiter-Wells werden bei 37 °C inkubiert und dann vor der Zugabe des Konjugats gewaschen. Nach einer zweiten Inkubation (37°C) und Waschen, wird 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) zugegeben. Die Mikrotiter-Wells werden einer abschließenden Inkubation unterzogen (37 Grad), wonach Stop Solution hinzugefügt wird. Der clarus AGM EIA kann

in weniger als 3 Stunden durchgeführt werden, wobei die Ergebnisse innerhalb von 15 Minuten nach Abschluss des Tests abgelesen werden können.

Monoklonale Anti-*Aspergillus* -IgG-Antikörper werden an Mikrotiter-Wells gebunden und als Capture-Antikörper verwendet. Meerrettichperoxidase (HRP)-konjugierte monoklonale Anti-*Aspergillus*-IgG-Antikörper werden als Nachweisreagenzien verwendet. Galactomannan ist ein Polysaccharid, das in der Zellwand vorkommt. Wenn die Patientenprobe *Aspergillus* Galactomannan enthält, binden diese Antigene an die Capture-Antikörper in den Mikrotiter-Wells. Vor der Zugabe des Konjugats werden die Mikrotiter-Wells gewaschen, wodurch ungebundenes Antigen aus den Wells entfernt wird. Dies reduziert das Risiko falsch-negativer Ergebnisse aufgrund des High-Dose-Hook-Effekts. Nach Zugabe des Konjugats bindet der Komplex aus Capture-Antikörper und Antigen an die HRP-gebundenen Nachweisantikörper in der Konjugatlösung. Die Mikrotiter-Wells werden ein zweites Mal gewaschen, um ungebundenes Material zu entfernen. Wenn Antigen in der Patientenprobe vorhanden ist, entwickelt sich bei Zugabe von TMB eine blaue Farbe. Die Reaktion wird durch die Zugabe von Stop Solution gestoppt, wobei sich eine gelbe Farbe entwickelt. Die optische Dichte wird unter Verwendung eines Mikroplattenlesegeräts bei 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 620/630 nm ermittelt. Korrigierte OD-Werte werden berechnet und dann ausgeblendet, bevor die EIA-Einheiten berechnet werden.

BEREITGESTELLTE REAGENZIEN

REAGENZ	REF#	Menge	BESCHREIBUNG	Etikett Symbol	Gefahrensymbol
Mikrotiterplatte	AGMMW1	96 Mikrotiter-Wells	1 mit Anti- <i>Aspergillus</i> -Antikörpern beschichtete 96-Well-Platte, verpackt in einen Mylarbeutel mit einem Trockenmittel-Beutel	1	K. A.
20x Waschpuffer	AGMWB2	50 ml	20X EIA Waschpuffer; enthält 0,4 % Tween20, 0,2 % ProClin	2	K. A.
Probenvorbehandlungspuffer	AGMSTB	10 ml	Enthält 4 % EDTA-Lösung; 0,2 % ProClin	3	
Kalibrator-Grenzwert	AGMCC1	1,5 ml	1-5 ng/ml Asp. Galactomannan in einer BSA-Lösung; enthält < 0,2 % ProClin	4	K. A.
Positivkontrolle	AGMPC1	1,5 ml	5-15 ng/ml Asp. Galactomannan in einer BSA-Lösung; enthält < 0,2 % ProClin	+	K. A.
Negativkontrolle	AGMNC1	1,5 ml	BSA-Lösung enthält < 0,2 % ProClin	-	K. A.
Konjugat	AGMDA1	10 ml	< 0,3 mg/ml HRP-konjugierte <i>Aspergillus</i> -Antikörper	5	K. A.
Substrat	EIATUS	10 ml	Gepufferte Lösung, die Tetramethylbenzidin (TMB) enthält	6	K. A.
Stop Solution	EIASS2	10 ml	< 5 % Methansulfonsäure	7	

LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

- Das gesamte AGM-EIA-Testkit sollte bei 2–8 °C bis zu den auf den Etiketten angegebenen Verfallsdaten gelagert werden. Alle Reagenzien sollten sofort nach Gebrauch auf 2–8 °C zurückgestellt werden.
- Vermeiden Sie längere Lichteinwirkung auf das Substrat (6).
- Unbenutzte Mikrotiter-Wells (1) sollten wieder in den wiederverschließbaren Mylar-Beutel gelegt, sofort nach dem Öffnen verschlossen und bei 2-8°C gelagert werden. Darauf achten, dass der Trockenmittel-Beutel in der Tüte mit den nicht verwendeten Mikrotiter-Wells verbleibt.
- 1x Waschpuffer (2 auf 1x verdünnt) kann 14 Tage lang verwendet werden, wenn es bei 2-30 °C gelagert wird, wenn es nicht verwendet wird. Prüfen Sie an jedem neuen Testtag auf sichtbare Anzeichen von Kontamination.

REAGENZIENVORBEREITUNG

- Das gesamte Kit, einschließlich der Streifen der Mikrotiterplatte (1), sollte vor und während der Verwendung auf 18-25 °C temperiert sein. Brechen Sie genügend Streifen ab, die Sie an diesem Tag testen möchten, und legen Sie nicht verwendete Streifen zurück in den wiederverschließbaren Beutel (siehe oben).
- Bereiten Sie 1X Waschpufferlösung vor, indem Sie 19 Teilen deionisiertes Wasser mit 1 Teil AGMWB2 (2) mischen. Verwenden Sie 1x Waschpuffer als Blindprobe.
- AGMCC1 (4), AGMPC1 (+) und AGMNC1 (-) muss mit AGMSTB behandelt werden (3). Die Blindprobe wird nicht behandelt.
- Folgende Reagenzien sind gebrauchsfertig: AGMSTB (3), AGMDA1 (5), EIATUS (6) und EIASS2 (7).

VORSICHTSMAßNAHMEN IN BEZUG AUF REAGENZIEN

- A. IMMY übernimmt keine Garantie für die Leistung seiner Produkte, wenn sie mit Materialien verwendet werden, die von anderen Herstellern bezogen wurden. **Keine Reagenzien mit unterschiedlichen Kit-Chargennummern oder von unterschiedlichen Herstellern gegeneinander austauschen.**
- B. Der Benutzer trägt die volle Verantwortung für alle Änderungen an den hier veröffentlichten Verfahren. Verwenden Sie nur die in dieser Packungsbeilage beschriebenen Protokolle. Andere Inkubationszeiten oder -temperaturen als die im unten aufgeführten Verfahren angegebenen wurden nicht bewertet und können zu ungenauen Ergebnissen führen.
- C. Nach dem angegebenen Verfallsdatum das Kit und die Reagenzien des Kits nicht mehr verwenden.
- D. Der Vorbehandlungspuffer (REF Nr.: AGMSTB) und Stop Solution (REF Nr.: EIASS2), sind gekennzeichnet mit:



H319	Führt zu schweren Augenreizungen.
P264	Die Hände nach der Handhabung gründlich waschen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P305 + P351 + P338	BEI AUGENKONTAKT einige Minuten lang vorsichtig mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls diese vorhanden sind und sich einfach entfernen lassen. Weiter spülen.
P337 + P317	Wenn die Augenreizung weiter besteht, ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
H402	Schädlich für Wasserorganismen.
P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P501	Inhalt/Behälter gemäß örtlichen Vorschriften entsorgen.
H290	Kann korrosiv auf Metalle reagieren.

P234	Nur im Originalbehälter aufbewahren.
P390	Beseitigen Sie ausgelaufene Flüssigkeiten, um Materialschäden zu vermeiden.
P406	In einem korrosionsbeständigen Behälter mit widerstandsfähiger Innenbeschichtung lagern.

GEFAHREN- UND VORSICHTSHINWEISE

Die Gefahren- und Vorsichtshinweise finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern (SDS, Safety Data Sheets) des Produkts.

WARNHINWEISE FÜR BENUTZER

- A. **Nur zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik.**
- B. Verschreibungspflichtig
- C. Schutzkleidung, einschließlich Laborkittel, Augen-/Gesichtsschutz und Einmalhandschuhe tragen und bei der Handhabung der Reagenzien des Kits sowie der Patientenproben die erforderliche Gute Laborpraxis einhalten. Die Hände nach der Durchführung des Tests gründlich waschen.
- D. Angemessene Pipettiertechniken und -muster während des gesamten Verfahrens einhalten, um optimale und reproduzierbare Ergebnisse sicherzustellen.
- E. Spritzer bei Hinzugabe oder Aspirieren von Reagenzien aus den Mikrotiter-Wells vermeiden, da dies zu Fehlern führen kann.
- F. Verschüttete biologische Substanzen sollten gründlich mit einem wirksamen Desinfektionsmittel abgewischt werden. Zu den geeigneten Desinfektionsmitteln zählt unter anderem eine Lösung aus 10 % Bleichmittel, 70 % Ethanol oder 0,5 % Wescodyne Plus™. Material, das zum Aufwischen von verschütteten Substanzen verwendet wird, muss ggf. als biologisch gefährlicher Abfall entsorgt werden.
- G. Unangemessenes Waschen kann zu einer übermäßigen Hintergrundreaktivität in allen EIA-Protokollen führen.
- H. Alle Proben und sämtliches Material, das zur Durchführung des Tests verwendet wurde, als infektiöses Material entsorgen. Chemische und biologisch gefährliche Laborabfälle sind in Übereinstimmung mit allen örtlichen, regionalen und nationalen Vorschriften zu handhaben und zu entsorgen.
- I. Kontakt mit Stop Solution (Methansulfonsäure) vermeiden. Bei Kontakt mit Haut oder Augen umgehend mit reichlich Wasser spülen.
- J. Für Gefahren, die von bestimmten Reagenzien ausgehen, lesen Sie den Abschnitt „Gefahren und Vorsichtshinweise“. Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich.

VORSICHTSMASSNAHMEN FÜR BENUTZER

- A. Dieser Test sollte nur von geschulten Laborfachleuten durchgeführt werden.
- B. **GEFRORENE SERUM- ODER BAL-PROBEN, DIE UNTER UNBEKANNTEN BEDINGUNGEN GELAGERT WERDEN, KÖNNEN AUFGRUND DER KONTAMINATION MIT PILZEN UND/ODER BAKTERIEN FALSCH-POSITIVE ERGEBNISSE LIEFERN.**
- C. Nach dem angegebenen Verfallsdatum das Kit und die Reagenzien des Kits nicht mehr verwenden.
- D. Um das Risiko einer Kontamination mit *Aspergillus* Sporen aus der Umwelt zu verringern, saubere, staubfreie Materialien verwenden. Da Galaktomannan hitzebeständig ist, garantiert die Sterilisation des verwendeten Materials nicht, dass kein kontaminierendes Antigen mehr vorhanden ist. Optimal ist

pyrogenfreies Material, aber mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen kann auch Standardmaterial verwendet werden.

- E. Gießen Sie kein unverbrauchtes Reagenz zurück in den Originalbehälter.
- F. Angemessene Pipettiertechniken und -muster während des gesamten Verfahrens einhalten, um optimale und reproduzierbare Ergebnisse sicherzustellen. Verwenden Sie beim Pipettieren von Kontrollen und Proben einzelne Pipettenspitzen, um die Verschleppung von Proben zu verhindern.
- G. Proben und Kitkomponenten (Seren, BAL-Flüssigkeit, Puffer, Kontrollen) oder offene Behälter (Platten, Schläuche, Pipettenspitzen) so kurz wie möglich der Luft aussetzen.
- H. Verwenden Sie keine Mikrotiter-Wells, die in einem offenen Mylar-Beutel gelagert wurden, da die Einwirkung von Nässe/Feuchtigkeit zu ungenauen Ergebnissen führen kann.
- I. Ein Lesegerät mit zwei Wellenlängen ist erforderlich, wobei die Absorptionen bei 450 nm und 620/630 nm abgelesen werden. Dieser Test wurde nicht mit einem Einzelwellenlängen-Lesegerät oder bei anderen Referenzwellenlängen validiert.
- J. Verlassen Sie sich nicht auf die vom Heizgerät angezeigte Temperatur. Die Heizblock-/Wasserbadtemperatur sollte mit einem separaten, kalibrierten Thermometer bestätigt werden, um die tatsächliche Heiztemperatur unabhängig zu ermitteln. Im Heizblock müssen 120 °C und im Wasserbad 100 °C erreicht werden.
- K. Wechseln Sie nicht zwischen Wärmebehandlungsmethoden hin und her. Entsprechend den Kapazitäten des Labors sollte nur eine Methode durchgeführt werden.
- L. Treffen Sie Vorsichtsmaßnahmen, um Verbrennungen zu vermeiden, wenn Sie ein Wasserbad zur Durchführung der Wärmebehandlung verwenden.
- M. Nur so viele Proben vorbehandeln, wie in die Zentrifuge in einer ausgewogenen Konfiguration passen. Vermeiden Sie Verzögerungen bei der Verarbeitung während der Vorbehandlung. Für eine optimale Reaktivität sollten die Proben **sofort** zentrifugiert werden.
- N. Ergebnisse, die nach dem 15-minütigen Zeitraum abgelesen werden, sind ungültig.
- O. Die Ergebnisse verschiedener *Aspergillus* -Galactomannan-Tests können nicht verglichen werden.

PROBENNAHME

Proben aseptisch mit bewährten Verfahren durch qualifiziertes Personal entnehmen. Beim Umgang mit Patientenproben geeignete Maßnahmen ergreifen, um die Exposition gegenüber potenziell vorhandenen Krankheitserregern zu verhindern. Die Verwendung von anderen Proben als Serum oder BAL ist nicht gesichert. Für optimale Ergebnisse sollten aseptisch gesammelte Proben verwendet werden.

Bei Transporten zwischen Labors sollten die Proben auf einer Temperatur von 2-8 °C gehalten werden. Proben sofort nach Erhalt bearbeiten und testen. Bei Verzögerungen in der Probenbearbeitung ist eine Lagerung bis zu 2 Wochen bei <-20 °C oder 10 Tagen bei 2-8 °C zulässig. Bei längerer Lagerung Probe bei -80 °C lagern. Proben können maximal 5 Einfrier-/Auftauzyklen unterzogen werden. Eine sehr schwach positive Probe kann nach der Lagerung negativ werden. Zuvor eingefrorene Proben sollten nach dem Auftauen vor dem Testen gründlich gemischt werden. Die Proben sind vor dem Test auf Raumtemperatur zu bringen (18-25 °C).

PROBENVORBEREITUNG

Kalibrator, Positiv- und Negativkontrollen müssen vor dem Test behandelt werden. Die Blindprobe wird vor dem Test nicht vorbehandelt. Alle Kontrollen (AGMCC₁, AGMPC₁, AGMNC₁, Blindprobe) müssen bei jedem Durchlauf getestet werden. Die Ergebnisse von AGMCC₁, AGMPC₁, AGMNC₁ und Blindprobe werden zur Validierung des Durchlaufs verwendet (siehe Qualitätskontrolle und erwartete Ergebnisse). Behandeln Sie geeignete Kontrollen für jeden Durchlauf gleichzeitig mit Serum-/BAL-Proben. **Zwei Verfahren zur Wärmebehandlung sind nachstehend beschrieben. Entsprechend den Kapazitäten des Labors sollte nur eine Methode durchgeführt werden.** Der Erfolg des Tests erfordert die strikte Einhaltung der vorgeschriebenen Temperatur und Gerätekapazität.

Vorbehandlung von Kontrollen, Serum und BAL:

1. Geben Sie 100 µl Vorbehandlungspuffer (3) in einzelne hitzebeständige Mikrozentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss (oder andere Verschlussröhrchen).
2. Fügen Sie jedem Vorbehandlungsröhrchen 300 µl AGMCC₁, AGMPC₁, AGMNC₁, frisches Serum oder BAL hinzu. Die Blindprobe ist nicht vorbehandelt.
3. Schrauben Sie die Deckel fest zu, um ein Öffnen während des Erhitzens zu verhindern, und mischen Sie die Proben.
4. Behandeln Sie alle Proben und geeigneten Kontrollen mit **einer der folgenden Methoden** entsprechend den Kapazitäten des Labors*:

Heizblock-Option: Geben Sie das Röhrchen 6-8 Minuten lang bei 120 °C in einen Heizblock.

ODER

Option Wasserbad: Stellen Sie die Röhrchen für 6-8 Minuten bei 100 °C in ein Wasserbad.

5. Die Röhrchen aus dem Heizblock oder dem kochenden Wasserbad nehmen und **sofort** in die Zentrifuge stellen.
6. Die Probe sofort 5 Minuten lang bei 10.000-14.000 x g bei Raumtemperatur (18-25 °C) zentrifugieren.
7. Entfernen Sie die Mikrozentrifugenröhrchen und testen Sie die Probenüberstände gemäß dem Testverfahren. Bei Bedarf können vorbehandelte Proben (Überstand mit Pellet) und Kontrollen bei 2-8 °C für bis zu 24 Stunden vor dem Test gelagert werden.

**Siehe Vorsichtsmaßnahmen für Benutzer*

TESTVERFAHREN

Schritt 1	<p>Aliquotieren Sie genügend Reagenzien, die für die an diesem Tag durchgeführten Tests erforderlich sind. Bringen Sie die restlichen Reagenzien in den Kühlraum (2-8 °C).</p> <p>Temperieren Sie alle aliquotierten Reagenzien und den Mylarbeutel mit der Mikrotiterplatte (1) auf 18-25 °C.</p> <p><i>(HINWEIS: Beim Aliquotieren von Substrat (6) Reagenz vor Licht schützen)</i></p>
Schritt 2	<p>Genügend mit Fängerantikörpern beschichtete Streifen (1) für Positivkontrolle (+), Negativkontrolle (-), Blindprobe (2 auf 1x verdünnt), Kalibrator-Grenzwert (4) und Patientenproben von der Mikrotiterplatte abbrechen und in den Mikrotiter-Well-Halter einsetzen. Unbenutzte Mikrotiter-Wells sollten wieder in den wiederverschließbaren Mylar-Beutel gelegt, sofort nach dem Öffnen verschlossen und bei 2-8 °C gelagert werden. Darauf achten, dass der Trockenmittel-Beutel in der Tüte mit den nicht verwendeten Mikrotiter-Wells verbleibt.</p> <p>Verwenden Sie ein Mikrotiter-Well für die Positivkontrolle (+), ein Mikrotiter-Well für die Negativkontrolle (-), ein Mikrotiter-Well für die Blindprobe (2 verdünnt auf 1X) und zwei Mikrotiter-Wells für den Kalibrator-Grenzwert (4).</p>

	Geeignete Kontrollen müssen vor dem Test behandelt werden. Blindprobe <u>nicht</u> behandeln.
Schritt 3	Bereiten Sie 1x Waschpuffer vor (2 mit destilliertem oder deionisiertem Wasser auf 1x verdünnt). Dies wird für die Blindprobe und den Waschpuffer verwendet.
Schritt 4	Die Kontrollen (AGMCC1 4 , AGMPC1 + und AGMNC1 -) und Proben mit dem Vorbehandlungspuffer (3) gemäß den oben aufgeführten Anweisungen zur „Vorbehandlung von Kontrollen, Serum und BAL“ behandeln. Blindprobe nicht vorbehandeln.
Schritt 5	Nach Abschluss der Probenvorbehandlung und -vorbereitung 100 µl der folgenden Substanzen in separate Mikrotiter-Wells geben: <ul style="list-style-type: none"> • 1x Waschpuffer (2 verdünnt auf 1x), der als Blindprobe für den Test dient • Positivkontrolle (+) • Negativkontrolle (-) • Kalibrator-Grenzwert (4) - 2 Wells • Patientenproben <p>Notieren Sie die Position jeder Kontrolle, Blindprobe und Probe.</p>
Schritt 6	Bedecken Sie die Platte mit Plattenversiegler oder anderen Mitteln, um Verdunstung zu verhindern, und stellen Sie sicher, dass die gesamte Oberfläche wasserdicht abgedeckt ist.
Schritt 7	Platte bei 37 °C ± 1 °C für 60 Minuten ± 5 Minuten inkubieren.
Schritt 8	Entfernen Sie den Plattenversiegler und saugen Sie den Inhalt mit einer Pipette aus den Mikrotiter-Wells und entsorgen Sie ihn in einem Behälter für biologische Gefahrenstoffe, wobei Sie die Spitzen zwischen den Mikrotiter-Wells wechseln.
Schritt 9	Füllen Sie mit einem EIA-Plattenwascher oder einer Mehrkanalpipette alle Mikrotiter-Wells mit 300 µl 1X Waschpuffer (2), der in Schritt 3 vorbereitet wurde. Entleeren Sie den Platteninhalt nach dem Befüllen. Wiederholen Sie dies für insgesamt 5 Wäschen.
Schritt 10	Klopfen Sie die Platte nach dem letzten Waschvorgang auf einem sauberen Stapel Papierhandtücher oder einem anderen sauberen, saugfähigen Material aus, das hart genug ist, um so viel wie möglich vom restlichen 1X-Waschpuffer (2) zu entfernen.
Schritt 11	100 µL Konjugat (5) zu jedem Mikrotiter-Well hinzufügen.
Schritt 12	Decken Sie die Platte mit dem Plattenversiegler oder einem anderen Mittel ab, um Verdunstung zu verhindern, und stellen Sie sicher, dass die gesamte Oberfläche bedeckt und wasserdicht ist.
Schritt 13	Platte bei 37 °C ± 1 °C für 30 Minuten ± 5 Minuten inkubieren.
Schritt 14	Entfernen Sie den Plattenversiegler und saugen Sie den Inhalt mit einer Pipette aus den Mikrotiter-Wells und entsorgen Sie ihn in einem Behälter für biologische Gefahrenstoffe, wobei Sie die Spitzen zwischen den Mikrotiter-Wells wechseln.
Schritt 15	Füllen Sie mit einem EIA-Plattenwascher oder einer Mehrkanalpipette alle Mikrotiter-Wells mit 300 µl 1X Waschpuffer (2), der in Schritt 3 vorbereitet wurde. Entleeren Sie den Platteninhalt nach dem Befüllen. Wiederholen Sie dies für insgesamt 5 Wäschen.
Schritt 16	Klopfen Sie die Platte nach dem letzten Waschvorgang auf einem sauberen Stapel Papierhandtücher oder einem anderen sauberen, saugfähigen Material aus, das hart genug ist, um so viel wie möglich vom restlichen 1X-Waschpuffer (2) zu entfernen.

Schritt 17	100 µl Substrat (6) zu jedem Mikrotiter-Well hinzufügen. Starten Sie einen Timer für 30 Minuten (± 5 Minuten), wenn 6 in die erste Mikrotiter-Well gegeben wird.
Schritt 18	Decken Sie die Platte mit dem Plattenversiegler oder einem anderen Mittel ab, um Verdunstung zu verhindern, und stellen Sie sicher, dass die gesamte Oberfläche bedeckt und wasserdicht ist.
Schritt 19	Für den Rest des 30-Minuten-Timers bei $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubieren.
Schritt 20	Plattenversiegler entfernen und 100 µl Stop Solution (7) zu jeder Mikrotiter-Well in der gleichen Reihenfolge wie in Schritt 17 dazugeben.
Schritt 21	Lesen Sie die Ergebnisse ab (siehe „Ablezen des Tests“) und halten Sie diese fest. (HINWEIS: Das Ablezen sollte innerhalb von 15 Minuten erfolgen.)

ABLESEN DES TESTS

- A. **Ergebnisse, die nach dem 15-minütigen Zeitraum abgelesen werden, sind ungültig.**
- B. Durch leichtes Klopfen auf die Seite der Platte oder Schütteln auf der Arbeitsfläche 1-5 Sekunden lang mischen.
- C. Die Unterseite der Mikrotiter-Wells vorsichtig mit einem sauberen, fusselfreien Tuch abwischen.
- D. Die optische Dichte jedes Mikrotiter-Wells sowohl bei 450 nm als auch bei 620/630 nm messen. Blindprobe auf dem 1X Waschpuffer (2 auf 1X verdünnt).
 1. Es ist ein Zweiwellenlängen-Lesegerät mit Absorptionen bei 450 nm und 620/630 nm erforderlich. Dieser Test wurde nicht mit einem Einzelwellenlängen-Lesegerät oder bei anderen Referenzwellenlängen validiert.
- E. Die Ergebnisse müssen innerhalb von 15 Minuten nach dem Hinzugeben der Stop Solution abgelesen werden.
- F. Alle gebrauchten Testmaterialien als gefährlichen Abfall entsorgen und den Mikrotiter-Well-Halter behalten.
- G. Den Mikrotiter-Well-Halter mit einem Desinfektionsmittel desinfizieren, z. B:
 1. Einer 10%igen Bleichlösung
 2. 70 % Ethanol
 3. 1 % Lysol Marke IC™

NOTE: Berechnungen und Erwartete Ergebnisse sind unter „Qualitätskontrolle und Ergebnisse“ zu finden.

ENTHALTENE MATERIALIEN

Siehe Abschnitt REAGENZIEN

BENÖTIGTE MATERIALIEN, DIE NICHT ENTHALTEN SIND

- A. Destilliertes oder entionisiertes Wasser zur Verdünnung des konzentrierten Waschpuffers
- B. Saugfähiges Papier
- C. Timer

- D. Vortexmischer
- E. Pipettierer, die zur Abgabe von 100-300 µl geeignet sind, und Einwegspitzen
- F. Plattenversiegler oder andere Mittel, um Verdunstung zu verhindern
- G. 1,5-2,0-ml-Mikrozentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss (IMMY Ref.-Nr. SCT050 oder gleichwertig), die eine Erwärmung auf 120 °C (Heizblock) oder 100 °C (kochendes Wasserbad) zur Behandlung von Proben unterstützen können
- H. Heizblock, der 120 °C erreichen kann, oder Wasserbad, das 100 °C zur Probenbehandlung erreichen kann
- I. Laborzentrifuge für 1,5-2,0-ml-Röhrchen widersteht 10.000-14.000 × g
- J. Inkubator auf 37 °C eingestellt
- K. Mikrotiterplatten-Waschanlage oder Mehrkanalpipettierer zum Waschen
- L. Mikrotiterplatten-Lesegerät, geeignet zum Ablesen von Absorptionen bei 450 und 620/630 nm

QUALITÄTSKONTROLLE & ERGEBNISSE

1. Qualitätskontrolle

Ein Test gilt als gültig, wenn der Kalibrator-Grenzwert (CC), die Positivkontrolle (PC), die Negativkontrolle (NC) und die Blindprobe (1X Waschpuffer) innerhalb der akzeptablen Bereiche liegen, wie in den Tabellen im Abschnitt „*Erwartete Ergebnisse*“ definiert.

Die Positivkontrolle, die Negativkontrolle, der Kalibrator-Grenzwert und die Blindprobe müssen jeder Charge von Patientenproben beigelegt werden, um die Qualität der Reagenzien zu gewährleisten. Die Positiv- und Negativkontrollen dienen der Überwachung auf schwerwiegende Reagenzienfehler. Die Positivkontrolle sollte nicht als Präzisionsindikator verwendet werden. Wenn die Ergebnisse der Positivkontrolle und/oder Negativkontrolle und/oder Kalibrator-Grenzwert und/oder Blindprobe nicht innerhalb dieser Parameter liegen, sollten die Patiententestergebnisse als ungültig betrachtet werden und der Test sollte mit einem neuen Satz vorbehandelter Kontrollen und Proben wiederholt werden.

Es können zusätzliche Kontrollen gemäß den Richtlinien oder Anforderungen der örtlichen, regionalen und/oder nationalen Vorschriften oder gemäß den Akkreditierungsorganisationen getestet werden.

2. Berechnungen:

Berechnen Sie EIA-Einheiten wie folgt:

1. Berechnen Sie die korrigierten ODs der Kontrollen, Blindproben und Patientenproben aus den Rohdaten:

$$\text{Korrigierte OD} = \text{Proben} - \text{OD 450 nm} - \text{Proben} - \text{OD 630 nm}$$

2. Berechnen Sie die Blindwert-ODs der Kontrollen, Blindproben und Patientenproben aus den korrigierten ODs:

$$\text{Blindproben OD} = \text{Probe korrigiert OD} - \text{korrigierte Blindproben} - \text{OD}$$

3. Berechnen Sie den Durchschnittswert (Mittelwert) für die beiden Kalibrator-Grenzwert-Mikrotiter-Wells unter Verwendung der Blindproben-ODs.
4. Probe EIA-Einheiten berechnen:

$$EIA - \text{Einheiten} = \frac{\text{Blindprobe} - OD}{\text{Mittlere Blindproben Kalibrator} - \text{Grenzwert OD}}$$

3. Erwartete Ergebnisse:

KONTROLLEN	AKZEPTABLE WERTE
Kalibrator-Grenzwert	0,150-0,300 Blindprobe-OD
PC	2,5-4,0 EIA-Einheiten
NC	≤ 0,1 EIA-Einheiten
Blindprobe	≤ 0,06 Korrigierte OD

ERGEBNISSE	EIA-EINHEITEN
Negativ	< 0,20 EIA-Einheiten
Positiv	≥ 0,20 EIA-Einheiten

EINSCHRÄNKUNGEN

- A. Ein negatives Ergebnis schließt die Diagnose einer Aspergillose **nicht** aus.
- B. AGM101 ist für die Verwendung mit Serum- und BAL-Proben vorgesehen. Dieser Test wurde nicht bei anderen Proben als Serum und BAL validiert.
- C. Die Leistungsfähigkeit der Reagenzien wurde nicht ermittelt, wenn sie Temperaturschwankungen ausgesetzt werden, die über die für das Testverfahren erforderlichen hinausgehen.
- D. Verwenden Sie nur die in dieser Packungsbeilage beschriebenen Protokolle. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten oder -temperaturen können zu ungenauen Ergebnissen führen.
- E. Die Leistungsfähigkeit von AGM101 wurde nicht für das manuelle Ablesen und/oder die visuelle Ergebnisbestimmung ermittelt.
- F. Unzureichendes Waschen während des Testverfahrens kann zu übermäßiger Hintergrundreaktivität führen.
- G. Es ist möglich, dass Mikrotiter-Wells für negative Patientenproben durch Mikrotiter-Wells für positive Kontrollen/Patientenproben kontaminiert werden, wenn der Inhalt eines Mikrotiter-Wells in ein anderes Mikrotiter-Well überläuft. Dies kann auf eine grobe Handhabung der Mikrotiterplatte oder eine schlechte Pipettiertechnik beim Hinzufügen von Reagenzien zurückzuführen sein.
- H. Positive Tests sollten in Gebieten oder Patientengruppen bestätigt werden, in denen Organismen bekanntermaßen mit *Aspergillus spp.* endemisch oder ein Risiko sind. Bei *Histoplasma*-positiven Proben wurde eine gewisse Kreuzreaktivität beobachtet und sollte daher in endemischen Gebieten, einschließlich Teilen der Vereinigten Staaten, berücksichtigt werden.
- I. AGM101 wurde nicht auf Kreuzreaktivität mit BAL-Proben untersucht.
- J. AGM101 wurde nicht auf mögliche Interferenzen mit BAL-Proben untersucht.
- K. AGM101 kann bei Patienten mit chronischer granulomatöser Erkrankung (CGD) und Job-Syndrom eine verringerte Erkennung von Galactomannan aufweisen.^{12,13}

- L. Von Pilzorganismen wie *Talaromyces marneffe*, *Candida*, *Blastomyces*, *Histoplasma* und *Cryptococcus* ist bekannt, dass sie mit anderen Galactomannan-Tests kreuzreagieren¹⁴. AGM101 wurde nicht auf Kreuzreaktivität mit anderen Pilzen, mit Ausnahme von *Histoplasma*, untersucht.
- M. AGM101 wurde nicht auf Kreuzreaktivität mit PLASMA-LYTE™ untersucht. In mehreren Beobachtungen wurde über positive Reaktionen auf Galaktomannan in Verbindung mit PLASMA-LYTE™ berichtet, die auf Kreuzreaktivität oder Kontaminationsprobleme zurückzuführen sind¹⁵⁻¹⁷. Daher sollte bei der Interpretation der Ergebnisse dieses Tests jede Verabreichung von PLASMA-LYTE™ berücksichtigt werden.
- N. Die Kreuzreaktivität von BAL-Flüssigkeitsproben mit *Mycoplasma pneumoniae* oder Anästhetika/Gleitmitteln, die zur Betäubung des Hals-/Nackensbereichs für den Aspirationsprozess verwendet werden, wurde nicht bewertet.
- O. AGM101 wurde nicht auf Kreuzreaktivität mit Lipoglycan aus Bifidobakterien untersucht.¹⁸
- P. AGM101 ist nicht zur Therapieüberwachung vorgesehen.
- Q. Die Anwendung einer schimmelaktiven Antimykotikatherapie bei einigen Patienten mit invasiver Aspergillose kann zu einer verringerten Empfindlichkeit gegenüber AGM101 führen.
- R. Die Tests dürfen nicht als Screeningverfahren für die allgemeine Bevölkerung durchgeführt werden. Der prädiktive Wert eines positiven oder negativen Ergebnisses hängt von der Vortest-Wahrscheinlichkeit ab, dass eine Aspergillose vorliegt. Ein Test sollte nur dann durchgeführt werden, wenn ein klinischer Nachweis auf die Diagnose von Aspergillose hindeutet.
- S. Die Ergebnisse verschiedener *Aspergillus* -Galactomannan-Tests können nicht verglichen werden.

LEISTUNGSMERKMALE

1. Erwartete Werte

Die Häufigkeit der Aspergillose hängt von mehreren Faktoren ab, darunter der Patientenzahl, der Art der Einrichtung und der Epidemiologie. Die erwartete Prävalenz der invasiven Aspergillose bei immungeschwächten Patienten kann zwischen 5 und 20 % liegen¹⁹.

2. Analytische Sensibilität (C95)

Clarus AGM EIA wurde hinsichtlich analytischer Sensitivität bewertet, indem Serum und BAL-Flüssigkeit mit *Aspergillus* Galactomannan-Antigen zu 3,00 ng/ml versetzt und in 8x seriell verdünnten (1:2) Konzentrationen getestet wurde. Jede der Serumkonzentrationen wurde für insgesamt 27 Wiederholungen getestet, während BAL-Flüssigkeitskonzentrationen für insgesamt (jeweils) 10 Wiederholungen getestet wurden.

Die analytische Sensitivität wurde bestimmt, indem der Abschnitt ermittelt wurde, bei dem 95 % der Ergebnisse positiv waren, und beträgt ungefähr 0,40-0,50 ng/ml für Serum und BAL.

3. High-Dose-Hook-Effekt

Der High-Dose-Hook-Effekt wurde intern bewertet, indem Humanserum und BAL, versetzt mit *Aspergillus* GM Antigen, auf dem clarus AGM EIA getestet wurden. Der AGM-EIA zeigte keinen

vollständigen Hook-Effekt (falsch-negative Ergebnisse) beim Testen von Serum- und BAL-Proben mit extrem hohen Konzentrationen (bis zu 260 µg/ml).

PROBENKONZENTRATION	MITTLERE EIA-EINHEITEN	ERGEBNIS
260 µg/ml BAL	11,810	Positiv
130 µg/ml BAL	11,852	Positiv
65 µg/ml BAL	11,664	Positiv
32 µg/ml BAL	11,975	Positiv
260 µg/ml Serum	12,487	Positiv
130 µg/ml Serum	12,565	Positiv
65 µg/ml Serum	12,633	Positiv
32 µg/ml Serum	12,280	Positiv

4. Interferenz

Der clarus AGM EIA wurde auf mögliche Interferenzen mit hämolysiertem, ikterischem und lipämischem Serum untersucht. Diese Seren stören den Test nicht.

5. Kreuzreaktivität

Der clarus AGM EIA wurde auf Kreuzreaktivität mit einer Reihe von Patientenserumproben bei einer Vielzahl unterschiedlicher Pathologien untersucht. Die Ergebnisse dieser Testuntersuchungen sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

PATHOLOGIE	ANZAHL DER PROBEN	% POSITIV
<i>Syphilis</i>	10	0 % (0/10)
<i>Toxoplasmose</i>	8	0 % (0/8)
<i>HAV</i>	10	0 % (0/10)
<i>ANA</i>	10	0 % (0/10)
<i>Röteln</i>	10	0 % (0/10)
<i>CMV</i>	5	0 % (0/5)
<i>Rheumafaktor</i>	10	0 % (0/10)
<i>Mycoplasma</i>	10	0 % (0/10)
<i>HCV</i>	10	0 % (0/10)
<i>Krebs*</i>	15	0 % (0/15)
<i>Histoplasma**</i>	8	12 % (1/8)

*Ausgewertete Krebsarten: 1x Sarkom, 5x Lymphome, 1x Neuroblastom, 5x Myelom, 1x Lungenkrebs und 1x Nierenkrebs

**Die einzelne *Histoplasma*-kruzreaktive Serumprobe war auch bei einem anderen im Handel erhältlichen *Aspergillus* GM EIA positiv, mit einem GM-Index von 7,524, verglichen mit 0,498 EIA-Einheiten beim clarus A GM101. Bemerkenswerterweise war auch eine zweite *Histoplasma*-Serumprobe (2,269 GM-Index) bei demselben im Handel erhältlichen GM-EIA positiv, was zu einer *Histoplasma*-Kreuzreaktivitätsrate von 25 % (2/8) führte, verglichen mit 12 % für clarus AGM101.

6. Präzision

Die Präzision (Reproduzierbarkeit) des clarus AGM EIA wurde durch Kontrollen und ein Panel von drei Serum- und vier BAL-Proben bewertet. Das Probenpanel wurde einmal täglich für insgesamt fünf Tage in zwei verschiedenen Chargen von drei Bedienern getestet (insgesamt 30 Bewertungen pro Probe). Getestete Proben: Test-Kontrollen (AGMCC₁, AGMPC₁, AGMNC₁, 1x Waschpuffer/Blindprobe), zwei schwach positive (1x Serum, 1x BAL), zwei mäßig positive (1x Serum, 1x BAL) und drei negative (1x Serum, 2x BAL).

Für eine genaue Ermittlung der Ergebnisse der EIA-Einheiten wurden der Mittelwert, die Standardabweichung, der CV-%, der Positiv-% und der Negativ-% berechnet. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt:

PROBENTYP	MITTELWERT (EIA-EINHEIT)	SD	% CV	% POSITIV	% NEGATIV
Mod. Positives Serum	0,834	0,082	10 %	(30/30) 100 %	(0/30) 0 %
Niedrig-positiv Serum	0,443	0,041	9 %	(28/28) 100 %	(0/28) 0 %
Mod. Positiv BAL	0,614	0,086	13 %	(30/30) 100 %	(0/30) 0 %
Niedrig-positiv BAL	0,293	0,051	17 %	(30/30) 100 %	(0/30) 0 %
Negativ BAL 1	0,039	0,037	K. A.	(0/30) 0 %	(30/30) 100 %
Negativ BAL 2	-0,008	0,035	K. A.	(0/30) 0 %	(30/30) 100 %
Negativ Serum	0,003	0,038	K. A.	(0/30) 0 %	(30/30) 100 %

7. Methodenvergleich

Der clarus AGM EIA wurde in einer externen Studie mit retrospektiven Proben mit einem kommerziell erhältlichen *Aspergillus* GM Antigen EIA verglichen. Insgesamt 319 Proben (272 Serum, 47 BAL) wurden mit beiden Tests getestet. Eine Analyse dieser Daten wurde durchgeführt, um die prozentuale Übereinstimmung positiv und die prozentuale Übereinstimmung negativ zu bestimmen. Die Ergebnisse dieses Vergleichs sind in den nachstehenden Tabellen aufgeführt:

<u>Serum</u>		GM EIA	
		Pos.	Neg.
IMMY clarus AGM EIA	Pos.	32	1
	Neg.	13	226

<u>Serum</u>	Berechnet	95 % CI
% pos. Übereinstimmung	71,1 %	56,6–82,3 %
% neg. Übereinstimmung	99,6 %	97,5–99,9 %

<u>BAL-Flüssigkeit</u>		GM EIA	
		Pos.	Neg.
IMMY clarus AGM EIA	Pos.	16	1
	Neg.	3	27

BAL-Flüssigkeit	Berechnet	95 % CI
% pos. Übereinstimmung	84,2 %	62,4–94,5 %
% neg. Übereinstimmung	96,4 %	82,3–99,4 %

8. Klinische Leistung

Eine externe Studie auf Grundlage der 2020 EORTC/MSG Clinical Criteria for IA wurde durchgeführt, um die Empfindlichkeit und Spezifität des clarus AGM EIA zu bestimmen, indem 290 retrospektive Proben (254 Serum, 36 BAL-Flüssigkeit) von Patienten mit Risiko für IA ausgewertet wurden. Die Ergebnisse dieses Vergleichs sind in den nachstehenden Tabellen aufgeführt:

Serum		EORTC/MSG	
		Bewiesen/ Wahrscheinlich	Kein IA
IMMY clarus	Pos.	32	0
Asp. GM EIA	Neg.	6	216

Serum	Berechnet	95 % CI
Empfindlichkeit	84,2 %	69,6%-92,6%
Spezifität	100,0 %	98,3%-100%

BAL-Flüssigkeit		EORTC/MSG	
		Bewiesen/ Wahrscheinlich	Kein IA
IMMY clarus	Pos.	14	1
Asp. GM EIA	Neg.	2	19

BAL-Flüssigkeit	Berechnet	95 % CI
Empfindlichkeit	87,5 %	64,0–96,5 %
Spezifität	95,0 %	76,4%-99,1%

9. Referenzverfahren und Materialien














Es gibt keine verfügbaren Referenzmessverfahren oder -materialien für den Benutzer.

FEHLERBEHEBUNG

PROBLEM	LÖSUNG
Variable Ergebnisse bei Wiederholungen	<ul style="list-style-type: none"> • Kontrollen und Proben in einer separaten, sauberen, unbeschichteten 96-Well-Platte ansetzen • Verwenden Sie Multichannel, um von der 96-Well-Platte in die Mikrotiter-Wells zu pipettieren
Verdacht auf Kontamination von Mikrotiter-Wells	<ul style="list-style-type: none"> • Klopfen Sie vorsichtig auf die Platte, um die Reagenzien in den Mikrotiter-Wells zu mischen, um Spritzer zu vermeiden • Achten Sie beim Pipettieren darauf, dass keine Spritzer oder Übertragungen aus benachbarten Mikrotiter-Wells auftreten • Wechseln Sie die Spitzen zwischen den Mikrotiter-Wells

PROBLEM	LÖSUNG
Geringere ODs als erwartet (Reagenzien zu kalt)	<ul style="list-style-type: none"> Stellen Sie sicher, dass alle Reagenzien vor dem Test auf 18-25 °C temperiert sind.

SYMBOLE

	Enthält ausreichend für <n> Tests		Katalognummer/Referenznummer
	Lesen Sie die Gebrauchsanweisung		Chargencode/Lot-Code
	Hersteller		Für In-vitro-Diagnostik
	Mindesthaltbarkeitsdatum/ Verfallsdatum		Temperaturgrenze
	Positivkontrolle		CE-Konformitätszeichen
	Negativkontrolle		Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union
	Nur zur Einmalverwendung		

LITERATURVERZEICHNIS

- Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin North Am.* 2006;20(3):545-61.
- Singh N, and Paterson DL. Aspergillus infections in transplant recipients. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(1):44-69.
- Soubani AO, Qureshi MA. Invasive pulmonary aspergillosis following bone marrow transplantation: risk factors and diagnostic aspect. *Haematologia (Budap).* 2002;32(4):427-37.
- Thompson GR 3., Young JH. *Aspergillus*- Infektionen. *N Engl J Med.* 2021;385(16):1496-1509
- Chamilos G, Luna M, Lewis RE, Bodey GP, Chemaly R, Tarrand JJ, et al. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica.* 2006;91(7):986-9.
- McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan MA, Conn LA, Plikaytis BD, et al. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis.* 2001;33(5):641-7.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. 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 Infect Dis.* 2008;46(12):1813-1821.

8. Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, et al. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis.* 2020;71(6):1367-1376.
9. Patterson TF, Thompson GR 3rd, Denning DW, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2016;63(4):e1-e60.
10. Mercier T, Dunbar A, de Kort E, Schauwvlieghe A, Reynders M, Guldentops E, et al. Lateral flow assays for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in adult hematology patients: A comparative multicenter study. *Med Myc.* 2019;1-9.
11. van der Peppel RJ, Visser LG, Dekkers OM, de Boer MGJ. The burden of Invasive Aspergillosis in patients with haematological malignancy: A meta-analysis and systematic review. *Journal of Infect.* 2018;76(6):550-562.
12. Walsh T. J., R.L. Schaufele, T. Sein, J. Gea-Banacloche, et al. Reduced expression of galactomannan antigenemia in patients with Invasive Aspergillosis and chronic granulomatous disease or Job's syndrome. Präsentiert zur 40. Jahrestagung der Infectious Diseases Society of America; Oktober 2002; Arlington, Virginia. P. 105; Abstr. 345.
13. King J, Henriët SSV, Warris A. Aspergillosis in Chronic Granulomatous Disease. *J Fungi (Basel).* 2016;2(2):15.
14. Min Z, Baddley JW, Rodriguez JM, Moser SA, Patel M. Cross-reactivity of *Aspergillus* galactomannan in an HIV-infected patient with histoplasmosis. *Med Mycol Case Rep.* 2012;1(1):119-122.
15. Hage CA, et al. Plasmalyte as a cause of false-positive results for *Aspergillus* GM in BAL Fluid. *J Clin Microbiol* 2007; 45:676-677.
16. Racil Z, et al. Intravenous PLASMA-LYTE as a major cause of false-positive results of Platelia *Aspergillus* test for GM detection in serum. *J Clin Microbiol* 2007; 45:3141-3142.
17. Spriet I, Lagrou K, Maertens J, Willems L, Wilmer A, Wauters J. Plasmalyte: No Longer a Culprit in Causing False-Positive Galactomannan Test Results. *J Clin Microbiol.* 2016;54(3):795-797.
18. Mennink-Kersten MA, Ruegebrink D, Klont RR, et al. Bifidobacterial lipoglycan as a new cause for false-positive platelia *Aspergillus* enzyme-linked immunosorbent assay reactivity. *J Clin Microbiol.* 2005;43(8):3925-3931.
19. Denning DW. Invasive Aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 1998; 26:781-803


 IMMY, Inc.
 2701 Corporate Centre Drive
 Norman, OK 73069 USA
 (405) 360-4669/(800) 654-3639
 Fax: (405) 364-1058
 E-Mail: info@immy.com
 Internet: www.immy.com



 MDSS
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover, Germany