


PLATELIA ASPERGILLUS Ag

1 микропланшет -  96

62794

Набор реагентов Platelia Aspergillus Ag для выявления галактоманнанового антигена Aspergillus в сыворотке и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) методом иммуноферментного анализа.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



881115 - 2013/10

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	3
2. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ.....	3
3. ОБЗОР И ОБЪЯСНЕНИЕ	3
4. ПРИНЦИП МЕТОДА ⁴⁵	3
5. РЕАГЕНТЫ	4
6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ.....	5
7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ.....	6
8. ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ	7
9. ЗАБОР ОБРАЗЦОВ	8
10. МЕТОДИКА.....	8
11. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА (КРИТЕРИИ ВАЛИДАЦИИ)	11
12. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	12
13. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА.....	14
14. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ	15
15. ОТДЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ.....	19
16. БИБЛИОГРАФИЯ	29
17. ПРИЛОЖЕНИЕ Информация для обращения медицинского изделия на территории РФ	36

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Для выявления галактоманнанового антигена *Aspergillus* в сыворотке и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) методом иммуноферментного анализа.

Используется в диагностике инвазивного аспергиллеза у взрослых и детей совместно с другими диагностическими процедурами, такими как микробиологическое культивирование, гистологическое исследование биоптатов и рентгеновское исследование.

2. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов Platelia *Aspergillus* Ag для выявления галактоманнанового антигена *Aspergillus* в сыворотке и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) методом иммуноферментного анализа, используется в диагностике инвазивного аспергиллеза у взрослых и детей совместно с другими диагностическими процедурами, такими как микробиологическое культивирование, гистологическое исследование биоптатов и рентгеновское исследование.

3. ОБЗОР И ОБЪЯСНЕНИЕ

Аспергиллезная инфекция обычно начинается в легких, где происходит вдыхание спор грибка *Aspergillus* из окружающей среды. Инвазивные формы, количество которых увеличилось за прошедшие 10 лет, представляют самые опасные инфекции. Они, в основном, встречаются у пациентов с нейтропенией (после противоопухолевой терапии) или после приема иммунодепрессантов (после пересадки органов, особенно костного мозга) или кортикостероидов¹⁰.

Aspergillus редко выделяют из гемокультуры. Диагноз часто основывается на неспецифических диагностических или рентгенологических признаках (клинических симптомах, данных КТ, рентгенограмме грудной клетки и т. д.).

Тест на растворимый галактоманнановый антиген представляет собой серологический метод, облегчающий диагностику инвазивного аспергиллеза^{9, 12, 23, 54, 62}.

Кроме того, у реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов доказана польза выявления галактоманнанового антигена в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) при диагностике инвазивного аспергиллеза^{8, 17, 18}.

4. ПРИНЦИП МЕТОДА⁴⁵

Набор реагентов Platelia *Aspergillus* Ag для выявления галактоманнанового антигена *Aspergillus* в сыворотке и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) методом иммуноферментного анализа это одностадийный тест на основе микропланшета. В тесте используются крысиные моноклональные антитела ЕВА-2 против галактоманнана грибов *Aspergillus*, описанные в ранее проведенных исследованиях^{25, 46}. Моноклональные антитела используются для (1) покрытия лунок микропланшета и связывания антигена и (2) выявления антигенов, связанных с сенсibilизированным микропланшетом (конъюгат: меченые пероксидазой моноклональные антитела). Образцы сыворотки или БАЛ нагревают в присутствии ЭДТА для разрушения иммунных комплексов и осаждения белков, потенциально способных исказить результат²⁴. Обработанные образцы и конъюгат добавляют в лунки, покрытые моноклональными антителами и инкубируют. В присутствии галактоманнанового антигена формируется комплекс моноклональное антитело + галактоманнан + моноклональное антитело/пероксидаза. Стрипы отмывают от несвязанного материала. Затем добавляют раствор хромогена ТМБ, реагирующего со связанными комплексами с образованием синего окрашивания. Ферментативную реакцию останавливают добавлением кислоты, меняющей синее окрашивание на желтое. Поглощение (оптическую плотность) образцов и контроля определяют с помощью спектрофотометра при длине волны 450 и 620/630 нм.

5. РЕАГЕНТЫ

Platelia Aspergillus Ag, номер по каталогу 62794 (96 тестов)

Храните набор при 2–8°C. Перед началом использования выдержите все реагенты при комнатной температуре (18–25°C) **не менее чем 30 мин.** Немедленно после использования поместите все реагенты в холодильник (2–8°C). Поместите неиспользованные стрипы/планшеты обратно в пакет и запечатайте его.

Не вынимайте влагопоглотитель. После разведения раствор для промывки можно хранить в течение 14 дней при 2–30°C. Все остальные реагенты, кроме концентрированного раствора для промывки (R2) и останавливающего раствора (R10) можно хранить в течение 8 недель после вскрытия. Раствор для промывки (R2) и останавливающий раствор (R10) после вскрытия стабильны до истечения срока годности. Реагенты поставляются в количестве, достаточном для проведения 96 тестов не более в чем 9 сериях.

Компонент		Состав	Кол-во
R1	Стрипованный микропланшет с микролунками (Microplate)	Микропланшет 96 лунок (12 стрипов по 8 лунок), покрытых моноклональными антителами к галактоманнану; маркировка стрипов «85».	1 планшет/12x8 лунок
R2	Концентрированный раствор для промывки (20x) (Concentrated Washing Solution (20X))	Концентрированный раствор для промывки (20x) буферный раствор (трис + NaCl) с pH 7,4; 2% Tween® 20; Консервант: 0,04% ProClin™ 300.	1x70 мл
R3	Отрицательная контрольная сыворотка (Negative Control Serum)	Отрицательная контрольная сыворотка отрицательная человеческая сыворотка; не содержит антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С и HBsAg; консервант: 0,3% ProClin™ 300.	2x1,7 мл
R4	Контрольная сыворотка критического значения (Cut-off Control Serum)	Контрольная сыворотка критического значения человеческая сыворотка, содержащая галактоманнан; не содержит антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С и HBsAg; консервант: 0,3% ProClin™ 300.	2x1,7 мл
R5	Положительная контрольная сыворотка (Positive Control Serum)	Положительная контрольная сыворотка человеческая сыворотка, содержащая галактоманнан; не содержит антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С и HBsAg;	2x1,7 мл

		консервант: 0,3% ProClin™ 300.	
R6	Конъюгат (Conjugate)	Конъюгат (готовый) меченые пероксидазой антитела к галактоманнану; консервант: 0,3% ProClin™ 300.	1x8 мл
R7	Раствор для обработки образцов (Sample Treatment Solution)	Раствор для обработки образцов (готовый) кислотный раствор ЭДТА.	1x13 мл
R9	Раствор хромогена ТМБ (Chromogen TMB Solution)	Раствор хромогена ТМБ (готовый) 3,3',5,5'-тетраметилбензидин* (<0,1%); H ₂ O ₂ (<1,0%).	1x28 мл
R10	Останавливающий раствор (Stopping Solution)	Останавливающий раствор (готовый) раствор серной кислоты (H ₂ SO ₄), 1 моль/л.	1x28 мл

***Примечание.** ТМБ (3,3',5,5'-тетраметилбензидин) – неканцерогенный и немутагенный хромоген, взаимодействующий с пероксидазой.

6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

1. Только для диагностики in vitro.
2. Только для профессионального использования.
3. Не рекомендуется использовать набор реагентов с образцами, отличными от сыворотки или БАЛ человека.
4. Положительная контрольная сыворотка, контрольная сыворотка критического значения и отрицательная контрольная сыворотка производятся из человеческой сыворотки, проверенной на отсутствие антигена HBs и антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусу гепатита С с помощью тестов, отмеченных знаком CE. Однако со всеми реагентами следует обращаться как со способными передавать трансмиссивные инфекции. Все анализы должны проводиться в соответствии с требованиями стандарта OSHA по обращению с гемоконтактными патогенами, 2 уровень Biosafety или другими подходящими мерами обеспечения биологической безопасности.
5. Используйте средства защиты, включая лабораторный халат, средства защиты глаз/лица и одноразовые перчатки (рекомендуется использовать перчатки из синтетических материалов, а не латекса). Следует обращаться с реагентами набора и образцами согласно надлежащей лабораторной практике. После проведения теста тщательно вымыть руки.
6. Не пипетируйте ртом.
7. Не курить, не пить и не принимать пищу в помещениях, где работают с образцами или с реагентами из набора.
8. Избегать разливания образцов или растворов.
9. Пролитые образцы и растворы содержащие биологические материалы, не содержащие кислоты, тщательно смывают эффективным дезинфицирующим средством. Допустимы к использованию дезинфицирующие средства, в состав которых может входить (но не ограничивается) 10% хлорная известь (0,5% раствор гипохлорита натрия), 70% этанол или 0,5% Wescodyne Plus™. Для

материалов, используемых для удаления загрязнений, может потребоваться утилизация как для биологически опасных отходов.

ОСТОРОЖНО! Не автоклавируйте растворы, содержащие хлорную известь и растворы гипохлорита натрия

10. Пролитые образцы и растворы содержащие биологические материалы, содержащих кислоты, удаляют или нейтрализуют гидрокарбонатом натрия, промывают и протирают насухо. При содержании биологически опасного материала обработайте поверхность одним из химических дезинфектантов.
11. Все образцы и материалы, использованные в тесте, утилизируют как содержащие возбудитель заболевания. С химическими и представляющими биологическую опасность отходами обращаются и утилизируют согласно местным, региональным и национальным законам.
12. Для определения рисков и мер предосторожности, связанных с использованием некоторых химических компонентов данного набора, пожалуйста, обратитесь к специальным символам на этикетках и информации, предоставленной в конце инструкции по использованию. Паспорт безопасности доступен на веб-сайте www.bio-rad.com.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

- 1. ЗАМОРОЖЕННЫЕ ОБРАЗЦЫ СЫВОРОТКИ ИЛИ БАЛ, ХРАНИВШИЕСЯ В НЕИЗВЕСТНЫХ УСЛОВИЯХ, МОГУТ ДАВАТЬ ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ ВСЛЕДСТВИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГРИБАМИ И/ИЛИ БАКТЕРИЯМИ.**
2. Запрещается использовать набор или любые его компоненты после истечения указанного срока годности.
3. Не смешивайте реагенты из разных наборов с разными номерами серий, за исключением раствора для промывки (R2, 20x, помечен зеленым*), хромогена (R9, ТМБ, помечен бирюзовым*) и останавливающего раствора (R10, помечен* 1N красным), при условии строгой эквивалентности реагентов и использования при каждом проведении теста реагентов из одной серии.
*на этикетке флакона
ПРИМЕЧАНИЕ. Запрещается смешивать раствор для промывки (R2, 20x, помечен зеленым*) с раствором для промывки (R2, 10x, помечен синим*) из наборов реагентов Bio-Rad.
*на этикетке флакона
4. **Перед использованием выдержите все реагенты при комнатной температуре (18–25°C) не менее чем 30 мин**
5. Перед использованием тщательно взболтайте каждый реагент.
6. Тщательно взболтайте концентрированный раствор для промывки (R2) перед приготовлением рабочего раствора для промывки, соблюдая осторожность во избежание микробного загрязнения.
7. Запрещается проводить тест в присутствии активных паров (кислот, щелочей, альдегидов) или пыли, способной повлиять на ферментативную активность конъюгата.
8. Во избежание контаминации используйте отдельные наконечники пипеток при переносе вручную контроля и образцов.
9. Для надлежащей промывки соблюдайте рекомендуемое число циклов и следите за тем, чтобы лунки полностью наполнялись и полностью опустошались. Запрещается проводить промывку вручную с помощью бутылки-пульверизатора.

10. Не допускайте высыхания микропланшета в промежуток между завершением цикла промывки и добавлением реагентов.
11. Запрещается наливать конъюгат и раствор хромогена ТМБ в одну емкость.
12. Не допускайте контакта конъюгата или раствора хромогена ТМБ с металлом или ионами металлов.
13. Не допускайте воздействия интенсивного света на раствор хромогена ТМБ при хранении или инкубации. Не допускайте контакта растворов хромогена с окислителями.
14. Не допускайте контакта останавливающего раствора с любыми окислителями. Не допускайте контакта останавливающего раствора с металлом или ионами металлов.
15. Для уменьшения вероятности загрязнения спорами *Aspergillus* из окружающей среды используйте чистые материалы, очищенные от пыли (пробирки, наконечники, емкости и т. д.). Т. к. галактоманнан устойчив к нагреванию, стерилизация материалов не гарантирует отсутствия загрязнения. Оптимально использование материалов, не содержащих пирогены, но при достаточных мерах предосторожности можно использовать стандартные материалы.
16. Ограничивайте контакт растворов (сывороток, БАЛ, раствора для обработки образцов, конъюгата) и открытых емкостей (планшетов, пробирок, пипеток) с воздухом.
17. Не сливайте неиспользованный конъюгат в исходную емкость.
18. Раствор хромогена ТМБ должен быть бесцветным. Появление синего окрашивания свидетельствует о загрязнении и непригодности реагента.

8. ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Стрипованный микропланшет с микролунками (R1)

Каждая рамка содержит 12 стрипов и упакована в пакет. Вскройте пакет ножницами ниже шва. Откройте пакет и выньте рамку. Рамку с неиспользованными стрипами верните обратно в пакет. **Осторожно запечатайте пакет** и храните при 2–8°C.

После вскрытия вакуумной упаковки стрипы хранят при 2–8°C в исходном пакете, который аккуратно запечатывают, в течение 8 недель. Убедитесь, что влагопоглотитель по-прежнему находится в пакете.

Концентрированный раствор для промывки (R2)

Нужное количество рабочего раствора для промывки готовят путем добавления 1 части концентрированного раствора для промывки (R2) к 19 частям деионизированной или дистиллированной воды. Рабочий раствор для промывки можно хранить в течение 14 дней при температуре 2–30°C. Готовят количество раствора, достаточное для проведения теста (80 мл на каждый стрип: 4 мл R2 + 76 мл дистиллированной воды).

При отсутствии загрязнений открытый концентрированный раствор для промывки можно хранить при 2–30°C до истечения указанного на этикетке срока годности.

Отрицательная контрольная сыворотка (R3), контрольная сыворотка критического значения (R4) и положительная контрольная сыворотка (R5)

Контрольные сыворотки нагревают с раствором для обработки образцов (R7), как и образцы пациентов.

При отсутствии загрязнений открытые реагенты можно хранить при 2–8°C в течение 8 недель.

Конъюгат (R6), раствор для обработки образцов (R7) и раствор хромогена ТМБ (R9)

Реагенты готовы к использованию.

При отсутствии загрязнений открытые реагенты можно хранить при 2–8°C в течение 8 недель.

Останавливающий раствор (R10)

Реагент готов к использованию.

При отсутствии загрязнений открытый реагент можно хранить при 2–8°C в течение 8 недель.

9. ЗАБОР ОБРАЗЦОВ

Тест проводят с сывороткой или БАЛ.

I. СЫВОРОТКА

Проводят забор проб крови согласно стандартным лабораторным процедурам. Образцы сыворотки не должны содержать спор грибов и/или бактерий. Образцы транспортируют и хранят в герметично закрытых пробирках, без доступа воздуха. Закрытые образцы можно хранить при 2–8°C в течение до 5 дней перед тестом. Открытые образцы можно хранить при 2–8°C в течение 48 часов перед тестом. Длительное хранение сыворотки возможно при -70°C.

Возможно исследование сыворотки, прошедшей не более 4 циклов заморозки/разморозки. Замороженные образцы после размораживания тщательно перемешивают перед проведением теста.

Результаты не искажаются при содержании в образцах 20 мг/л билирубина, липемии, эквивалентной 2 г/л триолеина (глицерина триолеата), или гемолизе с содержанием 500 мг/дл гемоглобина. Влияние на тест избыточного содержания альбуминов не исследовалось.

Не декомплементируйте сыворотку.

II. БАЛ

Проводят забор проб БАЛ согласно стандартным лабораторным процедурам. Образцы БАЛ хранят в стерильном физиологическом растворе, также, возможно тестирование чистых образцов (как есть) или надосадочной жидкости после их центрифугирования (10 000 g в течение 10 мин) до проведения обработки согласно разделу 10.

Образцы БАЛ не должны содержать спор грибов и/или бактерий. Образцы транспортируют и хранят в герметично закрытых пробирках, без доступа воздуха. Открытые образцы можно хранить при 2–8°C в течение не более 24 часов. Длительное хранение БАЛ (до 5 месяцев) возможно при -20°C и ниже.

Возможно исследование БАЛ, после не более 4 циклов заморозки/разморозки. Замороженные образцы после размораживания тщательно перемешивают перед проведением теста.

10. МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

См. раздел «Реагенты».

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

1. Дистиллированная или деионизированная вода для разведения концентрированного раствора для промывки.
2. Фильтровальная бумага.
3. Одноразовые перчатки.
4. Защитные очки.
5. Гипохлорит натрия (хлорная известь) и гидрокарбонат натрия.
6. Пипетки или мультипипетки, регулируемые или неподвижные, для измерения и переноса 50, 100, 300 и 1000 мкл жидкости.

7. Полипропиленовые микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл с герметичными пробками, выдерживающие нагревание до 120°C (термоблок) или 100°C (кипящая водяная баня)
 - винтовые крышки и пробирки: конические пробирки объемом 1,5 мл;
 - пробирки с защелкивающимися колпачками EZ Micro объемом 1,5 мл;
 - дополнительные фиксаторы для крышек микропробирок, они надежно фиксируют защелкивающиеся колпачки на пробирках, не давая им открываться при изменении температуры и давления, а также позволяют легко вынимать пробирки из термоблока или водяной бани.
8. Лабораторная настольная центрифуга для полипропиленовых пробирок объемом 1,5 мл способная обеспечить 10 000 g (Brinkman номер по каталогу 22-36-280-1 или VWR Scientific номер по каталогу 20901-0591 или аналогичная).
9. **При использовании термоблока для нагревания сывороток/БАЛ**
 - термоблок, рекомендуются модели:
 - одноблочная модель Grant номер по каталогу QBD-1L, за пределами США – Grant номер по каталогу QBD1, VWR номер по каталогу № 460-0074;
 - двухблочная модель Grant номер по каталогу QBD-2L, за пределами США – Grant номер по каталогу QBD2, VWR номер по каталогу № 460-0076;
 - оба термоблока (QBD-1L, QBD1 и QBD-2L, QBD2) используются с блоком Grant (номер по каталогу QB-E1), продаваемым за пределами США компанией VWR номер по каталогу 460-8517.
- При использовании водяной бани для нагревания сывороток/БАЛ**
 - круглый плавающий штатив микроцентрифуги для стакана емкостью 1 л (в США VWR Scientific номер по каталогу 60986-100, Naglene номер по каталогу 5974-1015 или аналогичный);
 - кипящая водяная баня с температурой 100°C.
10. Устройство для перемешивания реагентов (типа Вортекс).
11. Инкубатор для микропланшетов с температурой 37±1°C.
12. Полуавтоматическая или автоматическая мойка для микропланшетов (**вошер**).
13. Считывающее устройство для микропланшетов с фильтрами для длины волны 450 нм и 620/630 нм.

Примечания к методике

Отрицательную, положительную контрольную сыворотку и контрольную сыворотку критического значения необходимо тестировать каждый раз для валидации результатов.

Обработка сыворотки/БАЛ

Все контрольные сыворотки: отрицательную (R3), положительную (R5) и сыворотку критического значения (R4) необходимо обрабатывать одновременно с образцами сыворотки/БАЛ.

1. Пипетируют по 300 мкл исследуемой сыворотки/БАЛ и контроля в отдельные полипропиленовые пробирки емкостью 1,5 мл.
2. Добавляют в каждую пробирку 100 мкл раствора для обработки образцов (R7).
3. Тщательно перемешивают содержимое пробирок, энергично встряхивая или с помощью устройства для перемешивания реагентов. Плотнo закройте пробирку во избежание ее открывания при нагревании.
4. **Использование термоблока**
Пробирки нагревают **в термоблоке в течение 6 мин при 120°C**. Пробирки помещают в термоблок только после достижения предписанной температуры (*).

ИЛИ

Использование водяной бани

Пробирки нагревают на водяной бане в течение **3 мин при 100°C (*)**. Пробирки помещают на водяную баню только после достижения предписанной температуры.

5. Осторожно извлекают горячие пробирки из термоблока или водяной бани и помещают в центрифугу. Центрифугируют при 10 000 g в течение 10 минут. Для обнаружения галактоманнанового антигена используют надосадочную жидкость.
6. Исследуют надосадочную жидкость следующим образом. После приготовления надосадочную жидкость можно слить и хранить при 2–8°C до 48 часов перед тестом. Если анализ показывает необходимость повторного теста, готовят другую аликвоту образца.

(*) Для успешного проведения теста необходимо строго соблюдать указанную температуру и время цикла, а также использовать рекомендуемые материалы.

Не доверяйте показаниям температурного датчика аппарата, убедитесь в ее соответствии спецификациям с помощью калиброванного термометра в пробирке с минеральным маслом: температура внутри пробирки в термоблоке должна составлять 120°C, на водяной бане – 100°C.

Постановка ИФА

Строго следуйте предложенному протоколу.

Соблюдайте Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP).

1. **Перед началом использования выдержите все реагенты при комнатной температуре (18–25°C) не менее чем 30 мин.**
2. Приготовьте рабочий раствор для промывки.
3. Подготовьте таблицу для идентификации образцов сыворотки/БАЛ и контроля на микропланшете. Одну лунку наполните отрицательной контрольной сывороткой (R3), две – контрольной сывороткой критического значения (R4), одну – положительной контрольной сывороткой (R5).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R5	O5	O13									
B	R4	O6										
C	R4	O7										
D	R3	O8										
E	O1	O9										
F	O2	O10										
G	O3	O11										
H	O4	O12										

4. Достаньте держатель планшета и стрипы с микролунками (R1) из пакета. Верните все неиспользуемые стрипы в пакет с влагопоглотителем и запечатайте его.
5. Перед использованием перемешайте содержимое флакона с конъюгатом (R6), перевернув его. Добавьте 50 мкл конъюгата (R6) в каждую лунку. Затем добавьте 50 мкл обработанной сыворотки/надосадочной жидкости БАЛ в каждую лунку, как указано выше. Не добавляйте сыворотку/БАЛ до конъюгата.
6. **Накройте планшет пленкой** или другим приспособлением во избежание испарения, убедившись в полном и герметичном закрытии.
7. Инкубируйте микропланшет в сухом инкубаторе в течение 90±5 минут при 37±1°C.
8. Снимите пленку с планшета. Слейте содержимое всех лунок в контейнер для отходов (содержащий гипохлорит натрия). Промойте планшет **в вошере 5 раз** (используя 800 мкл рабочего раствора для промывки). После последней промывки переверните микропланшет и аккуратно постучите им о фильтровальную бумагу для удаления остатков жидкости.

9. Быстро добавьте 200 мкл раствора хромогена ТМБ (R9) в каждую лунку, не подвергая действию яркого света.
10. Инкубируйте планшеты в темноте при комнатной температуре (18–25°C) в течение 30±5 минут. **На этом этапе клейкую пленку не используют.**
11. Добавьте 100 мкл останавливающего раствора (R10) в каждую лунку аналогично добавлению раствора хромогена ТМБ. Хорошо перемешайте.
12. Тщательно промойте дно каждой лунки.
13. Определите оптическую плотность каждой лунки при 450 нм (контрольный фильтр на 620/630 нм). Данные микропланшетов считывают **в течение 30 минут** после добавления останавливающего раствора.

11. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА (КРИТЕРИИ ВАЛИДАЦИИ)

Контроль критического значения. Оптическая плотность каждой контрольной сыворотки критического значения должна быть $\geq 0,300$ и $\leq 0,800$.

Положительный контроль. Коэффициент позитивности (I), для положительной контрольной сыворотки должен превышать 1,50.

$$I = \frac{\text{оптическая плотность положительного контроля (R5)}}{\text{средняя оптическая плотность контроля критического значения}} > 1,50$$

Отрицательный контроль. Коэффициент позитивности (I), для отрицательной контрольной сыворотки должен быть меньше 0,40.

$$I = \frac{\text{оптическая плотность отрицательного контроля (R3)}}{\text{средняя оптическая плотность контроля критического значения}} < 0,40$$

Несоблюдение любого из вышеуказанных условий для контроля приводит к недействительности теста и отбраковке результата. Оператор может решить повторить тест после пересмотра процедуры или связаться с производителем с просьбой о помощи. При повторном проведении теста используют новую аликвоту того же образца.

Пример расчета

Образец	Поглощение (оптическая плотность)
Отрицательная контрольная сыворотка (R3)	0,116
Контроль критического значения (R4)	0,513 0,533
Положительная контрольная сыворотка (R5)	1,834

Расчеты

Среднее значение для контроля критического значения

Для расчета средней оптической плотности для контроля критического значения (R4) сложите значения оптической плотности и разделите результат на 2.
 $(0,513+0,533)/2 = 0,523$

Коэффициент позитивности (I) для отрицательного контроля

Для расчета коэффициента позитивности (I), для отрицательного контроля разделите оптическую плотность отрицательной контрольной сыворотки на среднюю оптическую плотность контроля критического значения.

$$I = 0,116/0,523 = 0,22$$

Коэффициент позитивности (I), для положительного контроля

Для расчета коэффициента позитивности (I), для положительного контроля разделите оптическую плотность положительной контрольной сыворотки на среднюю оптическую плотность контроля критического значения.

$$I = 1,834/0,523 = 3,51$$

Валидация

В вышеуказанном примере

- Оптическая плотность каждой контрольной сыворотки критического значения находится в пределах 0,300–0,800 (включительно) – результат достоверный.
- Коэффициент позитивности (I), для отрицательной контрольной сыворотки меньше 0,40 – результат достоверный.
- Коэффициент позитивности (I), для положительной контрольной сыворотки превышает 1,50 – результат достоверный.

Тест считается действительным, т. к. результаты для каждого контроля соответствуют критериям достоверности.

12. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Присутствие или отсутствие галактоманнанового антигена в исследуемом образце определяется путем расчета коэффициент позитивности (I), представляющего собой частное от деления оптической плотности каждого образца на среднюю оптическую плотность лунок с контрольной сывороткой критического значения.

Расчет средней оптической плотности контроля критического значения

Сложите значения оптической плотности обеих лунок с контрольной сывороткой критического значения (R4) и разделите сумму на 2.

Расчет коэффициента позитивности (I) для каждого исследуемого образца

Для каждого исследуемого образца рассчитывают следующий коэффициент:

$$I = \frac{\text{оптическая плотность образца}}{\text{средняя оптическая плотность контроля критического значения}}$$

Интерпретация коэффициента < 0,50 для сыворотки/БАЛ

Сыворотка/БАЛ с коэффициентом позитивности < 0,50 считается не содержащей галактоманнановый антиген.

Примечание. Отрицательный результат может означать содержание антигена ниже предела обнаружения, потому не исключает инвазивный аспергиллез. При подозрении на заболевание в сочетании с отрицательным результатом рекомендуется повторить тест.

Интерпретация коэффициента ≥ 0,50 для сыворотки/БАЛ

Сыворотка/БАЛ с коэффициентом позитивности ≥ 0,50 считается содержащей галактоманнановый антиген.

При положительном результате рекомендуется повторить тест с новой аликвотой того же образца (сыворотки/БАЛ).

Примечание. Поглощение ниже 0,000 может свидетельствовать об ошибке в методике или в работе оборудования, которую нужно изучить. Результат недействителен, требуется повторное исследование.

У пациентов с высоким риском рекомендуется проводить регулярный (2 раза в неделю) скрининг для ранней диагностики.

Примечание. Назначение набора Platelia Aspergillus Ag – обеспечить помощь в диагностике инвазивного аспергиллеза. Положительный результат теста Platelia Aspergillus Ag должен рассматриваться в комплексе с результатами других диагностических процедур, таких как культуральные микробиологические тесты, гистологическое исследование биоптата и рентгеновское исследование.

Пример расчета

Образец	Поглощение (оптическая плотность)
Отрицательная контрольная сыворотка (R3)	0,116
Контроль критического значения (R4)	0,513 0,533
Положительная контрольная сыворотка (R5)	1,834
Образец № 1	0,134
Образец № 2	0,436
Образец № 3	1,196

Расчеты

См. примеры расчетов для валидации контроля теста в разделе «Контроль качества (критерии валидации)».

Среднее значение для контроля критического значения

Для расчета средней оптической плотности для контроля критического значения (R4) сложите значения оптической плотности и разделите результат на 2.

$$(0,513+0,533)/2 = 0,523$$

Образец № 1

Для расчета коэффициента позитивности (I) для образца № 1 разделите его оптическую плотность на среднюю оптическую плотность контроля критического значения.

$$I = 0,134/0,523 = 0,26$$

В этом примере образец № 1 отрицателен, т. к. $0,26 < 0,50$.

Образец № 2

Для расчета коэффициента позитивности (I) для образца № 2 разделите его оптическую плотность на среднюю оптическую плотность контроля критического значения.

$$I = 0,436/0,523 = 0,83$$

В этом примере образец № 2 положителен, т. к. $0,83 \geq 0,50$.

Образец № 3

Для расчета коэффициент позитивности (I) для образца № 3 разделите его оптическую плотность на среднюю оптическую плотность контроля критического значения.

$$I = 1,196/0,523 = 2,29$$

В этом примере образец № 2 положителен, т. к. $2,29 \geq 0,50$.

Об интерпретации положительных результатов см. раздел 12.

13. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. **Отрицательный результат для сыворотки и/или БАЛ не исключает инвазивного аспергиллеза. Образцы сыворотки пациентов с риском инвазивного аспергиллеза тестируют дважды в неделю.**
2. При наличии галактоманнанового антигена необходимо соблюдение порядка проведения теста Platelia Aspergillus Ag и интерпретации результатов. Пользователю набора рекомендуется внимательно прочесть аннотацию перед проведением теста. В частности, необходимо строго соблюдать порядок проведения теста в отношении пипетирования образца и реагента, промывки микропланшета и времени инкубации.
3. **Добавление образца или реагента иначе, чем указано в процедуре, может привести к ложноотрицательному результату. При клиническом подозрении на инвазивный аспергиллез или ошибке в проведении теста рассмотрите возможность повторного исследования дополнительных образцов.**
4. При неаккуратном обращении с планшетом или пипеткой возможна контаминация лунок отрицательных пациентов положительным контролем/образцами.
5. Эффективность теста Platelia Aspergillus Ag не оценивалась у новорожденных. В европейской литературе описана большая частота возникновения ложноположительных результатов в образцах от новорожденных^{13, 15, 33, 34}.
6. Эффективность теста Platelia Aspergillus Ag может быть снижена у больных хроническим гранулематозом и синдромом Джоба^{56, 58}.
7. Применение антимикотиков у больных инвазивным аспергиллезом может снижать чувствительность теста Platelia Aspergillus Ag^{30, 31}.
8. Эффективность теста Platelia Aspergillus Ag для плазмы и других типов образцов, например, мочи или СМЖ, не оценивалась.
9. Эффективность теста Platelia Aspergillus Ag не оценивалась при определении результатов вручную и/или визуально.
10. Другие роды грибов, например, *Penicillium*, *Alternaria raecilomyces*, *Geotrichum* и *Histoplasma* показали аналогичную реактивность с крысиными моноклональными антителами ЕВА-2, используемыми в тесте для обнаружения галактоманнана грибов *Aspergillus*. При положительном результате теста в эндемических районах, включая часть США, рассмотрите возможность гистоплазмоза^{36, 50, 59}.
11. Перекрестная реактивность с БАЛ, содержащими *Mycoplasma pneumoniae* или анестетики/лубриканты для анестезии глотки для аспирации, не оценивалась.
12. Положительные реакции без клинических симптомов:
В случае раннего выявления галактоманнанового антигена в сыворотке или БАЛ до проявления клинических и/или рентгенологических симптомов необходимо рассмотреть следующее. Положительные результаты теста без клинических симптомов наблюдаются в большинстве случаев и являются истинно положительными для пациентов, которым в дальнейшем ставят диагноз подтвержденного/вероятного инвазивного аспергиллеза³⁰. Однако в некоторых случаях при интерпретации результатов необходимо рассмотреть особые факторы.
 - a. Особенно часто о положительных результатах теста при отсутствии клинических симптомов сообщалось у маленьких детей⁴⁴. Хотя некоторые из этих случаев могли на самом деле быть обусловлены циркулирующими антигенами грибка *Aspergillus*, большинство из них можно считать ложноположительными⁷.
 - b. В различных продуктах, особенно крупах, блюдах из зерновых, сливочных десертах, выявлено наличие галактофуранозы^{1, 27}. В отличие от грудного молока, коровье молоко часто содержит большие количества галактоманнана¹³. Поэтому необходимо принять во внимание алиментарные факторы при интерпретации антигенемии у маленьких детей и, в общем, пациентов с поврежденным гематоинтестинальным барьером^{6, 13}. В этой

- группе пациентов интерпретировать случаи антигенемии без клинических симптомов следует еще осторожнее.
- c. Сообщалось о положительных результатах теста на галактоманнан у пациентов, получающих пиперациллин/тазобактам. Также сообщалось о некоторых сериях/партиях пиперациллина/тазобактама, содержащих галактоманнанный антиген. Поэтому положительные результаты теста у пациентов, получающих пиперациллин/тазобактам, следует интерпретировать с осторожностью и подтверждать с помощью других методов диагностики. Также сообщалось об обнаружении галактоманнана в некоторых сериях амоксициллина при парентеральном применении клавулановой кислоты. Поэтому при интерпретации результатов теста необходимо принять во внимание лечение полусинтетическими β -лактамами^{1, 3, 32}. Тем не менее, т. к. тест Platelia Aspergillus Ag способен выявлять галактоманнанный антиген до появления клинических или рентгенологических симптомов, нельзя исключать вероятность инвазивного аспергиллеза. Поэтому пациенты с положительными результатами, принимавшие пиперациллин/тазобактам, требуют тщательного наблюдения.
 - d. Положительные результаты при отсутствии клинических симптомов могут быть получены у пациентов, принимающих препараты, содержащие галактоманнан, парентерально или внутрь (при повреждении гематоинтестинального барьера). Присутствие галактоманнана в них часто объясняется использованием ферментирующих грибов. Однако положительный результат у человека не обнаруживается до тех пор, пока концентрация экзогенного галактоманнана в сыворотке не достигнет или превысит порог обнаружения. Поэтому при подозрительном положительном результате в отсутствие клинических симптомов рекомендуется изучить препараты, которые принимает пациент, в частности их производственный процесс и происхождение сырья^{14, 41, 49}.
13. В нескольких исследованиях^{14, 41} сообщалось об обнаружении галактоманнана в сыворотке и БАЛ при приеме PLASMA-LYTE™, поэтому прием этого препарата следует учитывать при интерпретации результатов теста.
 14. Результаты исследования БАЛ пациентов без иммунодефицита с помощью теста Platelia Aspergillus Ag нужно интерпретировать с осторожностью³⁷.
 15. Результаты, близкие к значению критического значения (0,5), интерпретируют с осторожностью, и они должны подтверждаться другими клиническими, рентгенологическими или лабораторными данными в пользу инвазивного аспергиллеза, т. к. интерпретация теста не включает в себя «серую зону».
 16. Кроме того, результаты исследования БАЛ с помощью теста Platelia Aspergillus Ag в диапазоне 0,5–1,0 имеют меньшую прогностическую ценность, чем результаты, превышающие 1,0, поэтому результаты в диапазоне 0,5–1,0 необходимо проверить и подтвердить другими клиническими, рентгенологическими или лабораторными данными в пользу инвазивного аспергиллеза^{8, 17}.

14. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

I. СЫВОРОТКА

Ожидаемая распространенность инвазивного аспергиллеза среди пациентов непостоянна, сообщалось о значениях в диапазоне 5–20%^{10, 16}.

Следующие результаты были получены в ходе клинических исследований, проведенных среди детей (в возрасте 21 года и менее) в США и взрослых в Северной Америке.

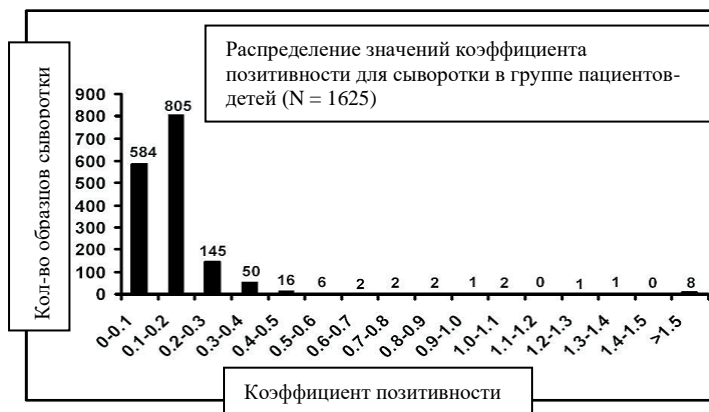
Дети

В 3 исследовательских центрах США было проведено клиническое исследование 1954 образцов сыворотки от 129 детей (в возрасте 21 года и менее) с иммунодефицитом, имеющих высокий риск развития инвазивного аспергиллеза или диагноз подтвержденного/вероятного инвазивного аспергиллеза для определения эффективности теста Platelia Aspergillus Ag. Ниже показано распределение значений теста в этих группах.

Дети, без инвазивного аспергиллеза (контрольная группа)

Рис. 1.

Всего в 3 исследовательских центрах США было исследовано 1625* образцов сыворотки от 108 детей с иммунодефицитом для определения эффективности теста Platelia Aspergillus Ag. На графике показано распределение значений теста для этих образцов.

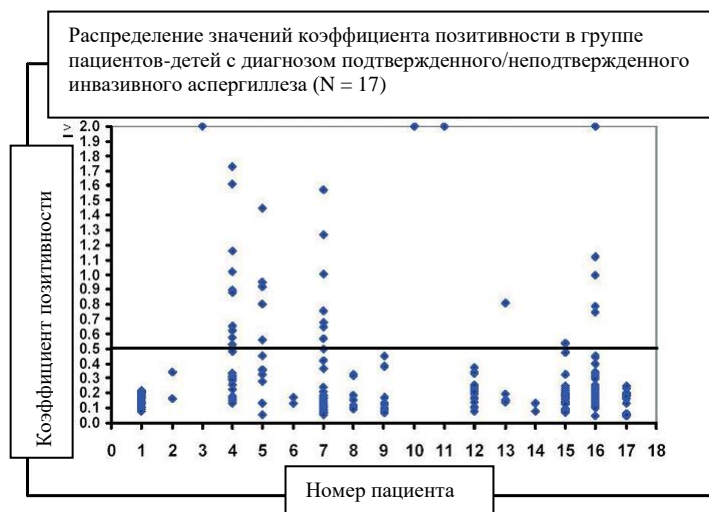


***Примечание. 80 образцов от 4 контрольных пациентов с положительной пробой на галактоманновый антиген вследствие приема пиперациллина/тазобактама (Zosyn®) были исключены.**

Дети с инвазивным аспергиллезом

Рис. 2.

На диаграмме разброса показаны результаты пробы на галактоманнан для 249 образцов сыворотки от 17 пациентов, которым в ходе исследования был поставлен диагноз подтвержденного/вероятного инвазивного аспергиллеза по критериям EORTC/NIAD. Ожидалась положительная реакция не в каждой пробе сыворотки от каждого пациента. Ожидаемая распространенность инвазивного аспергиллеза среди пациентов непостоянна; сообщалось о значениях в диапазоне 5–20%^{10, 24}. В данном исследовании распространенность составила 13,6%.



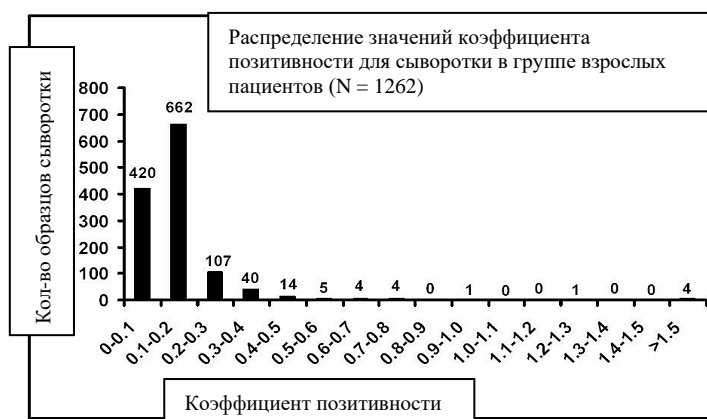
Взрослые

В 3 исследовательских центрах Северной Америки было проведено клиническое исследование 1724 образцов сыворотки от 172 взрослых после пересадки костного мозга или больных лейкемией с инвазивным аспергиллезом или без него для определения эффективности теста Platelia Aspergillus Ag. Ниже показано распределение значений теста в этих группах.

Взрослые без инвазивного аспергиллеза (контрольная группа)

Рис. 3.

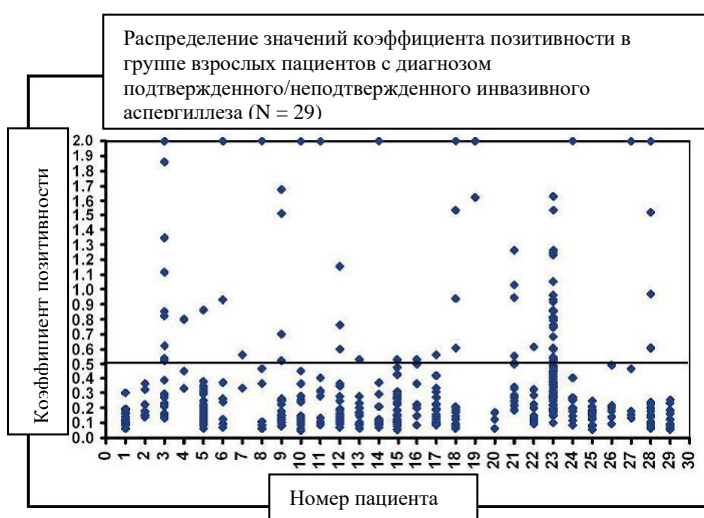
Всего в 3 исследовательских центрах Северной Америки было исследовано 1262 образцов сыворотки от 143 после пересадки костного мозга или больных лейкемией для определения эффективности теста Platelia Aspergillus Ag. На графике показано распределение значений теста для этих образцов.



Взрослые с инвазивным аспергиллезом

Рис. 4.

На диаграмме разброса показаны результаты пробы на галактоманнан для 462 образцов сыворотки от 29 пациентов, которым в ходе исследования был поставлен диагноз подтвержденного/вероятного инвазивного аспергиллеза по критериям EORTC/NIAD. Ожидалась положительная реакция не в каждой пробе сыворотки от каждого пациента. Ожидаемая распространенность инвазивного аспергиллеза среди пациентов непостоянна; сообщалось о значениях в диапазоне 5–20%^{10, 24}. В данном исследовании распространенность составила 16,9%.



На следующих графиках приведены примеры пациентов без клинических признаков или симптомов инвазивного аспергиллеза (Aspergillus-отрицательных) и пациентов с подтвержденным/вероятным диагнозом инвазивного аспергиллеза (Aspergillus-положительных).

Рис. 5.

Отрицательные образцы

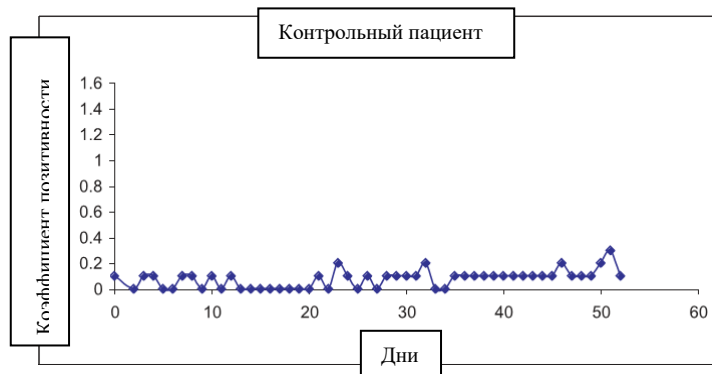


Рис. 6.
Положительные образцы



II. БАЛ

В США было проведено 2 исследования 449 образцов БАЛ от 178 реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов и легких с инвазивным аспергиллезом и без него для определения эффективности теста *Platelia Aspergillus Ag*.

Из них 403 образца БАЛ – от 167 реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов и легких без инвазивного аспергиллеза.

Кроме того, был проведен ретроспективный анализ образцов БАЛ от 99 поддающихся оценке гематологических пациентов группы высокого риска в ходе исследования за пределами США, включая 58 пациентов с подтвержденным/вероятным инвазивным аспергиллезом.

Ожидаемые значения для образцов БАЛ от реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов и легких без инвазивного аспергиллеза приведены в таблице ниже. Представлены результаты для образцов от реципиентов с колонизацией плесневыми грибами и без.

Таблица 1

Ожидаемые значения для образцов

Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов и легких с инвазивным аспергиллезом

N = 403 БАЛ

Диагноз	№	Положительный, %	Отрицательный, %
Контроль колонизации без	341	11/341 (3,2%)	330/341 (96,8%)
Контроль колонизацией с	62	12/62 (19,4%)	50/62 (80,6%)
Всего контролей	403	23/403 (5,7%)	380/403 (94,3%)

Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов и легких без инвазивного аспергиллеза распределены в таблице ниже по типу трансплантата.

Таблица 2

Ожидаемые значения для образцов

Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов и легких без инвазивного аспергиллеза с указанием типа трансплантата

N = 403 БАЛ

Тип трансплантата	№	Положительный, %	Отрицательный, %
Сердце	28	3/28 (10,7%)	25/28 (89,3%)
Почки	25	3/25 (12,0%)	22/25 (88,0%)
Печень	23	1/23 (4,3%)	22/23 (95,7%)
Легкие	327	16/327 (4,9%)	311/327 (95,1%)

Всего контроля	403	23/403 (5,7%)	380/403 (94,3%)
-----------------------	-----	---------------	-----------------

Также проводили оценку ожидаемых значений среди 41 образца БАЛ от 41 гематологического пациента без инвазивного аспергиллеза, данные представлены в таблице ниже.

Таблица 3

Ожидаемые значения для образцов

Гематологические пациенты без инвазивного аспергиллеза

N = 41 БАЛ

Диагноз	№	Положительный, %	Отрицательный, %
Контроль	41	8/41 (19,5%)	33/41 (80,5%)

15. ОТДЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ

А) ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

а) Исследование воспроизводимости для сыворотки

Внутренняя воспроизводимость и воспроизводимость между тестами Platelia Aspergillus Ag определялись в исследовании с использованием набора из 6 пулированных образцов сыворотки (отрицательного, слабо положительного, 2 положительных, 2 сильно положительных) в 3 центрах в Северной Америке. Каждый образец панели, состоящей из 6 образцов был исследован по 3 раза в течение 3 дней в 2 центрах (всего 9 раз в каждом центре), после чего исследовался дважды в течение 3 дней в третьем центре (всего 6 раз). В каждом центре все прецизионные анализы проводил один оператор. Анализ данных проводили согласно нормам Института клинико-лабораторных стандартов (CLSI, ранее NCCLS – Национального комитета по клинико-лабораторным стандартам). В таблицах ниже приведены средняя оптическая плотность, среднее значение коэффициента позитивности, стандартное отклонение, процентный коэффициент вариации и воспроизводимость результатов для каждого образца панели.

Таблица 4
Центр 1

Образец	Отриц.		Слабо полож.		Полож. № 1		Полож. № 2		Сильно полож. № 1		Сильно полож. № 2		Отриц. контроль		Контроль критического значения		Полож. контроль	
	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности
Количество исследований	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	3	3	6	6	3	3
Сред.	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	0,606	1,00	2,216	3,67
Стандартное отклонение (внут. воспроизводимость) 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	Н/Д	Н/Д	0,02	0,03	Н/Д	Н/Д
Коэфф. вариации	Н/Д	Н/Д	4,8%	4,4%	8,4%	7,6%	4,7%	5,1%	4,2%	4,4%	3,1%	3,6%	Н/Д	Н/Д	3,7%	3,4%	Н/Д	Н/Д
Стандартное отклонение (воспроиз. между тест-системами) ²	0,036	0,04	0,051	0,08	0,070	0,14	0,044	0,25	0,058	0,029	0,169	0,58	Н/Д	Н/Д	0,102	0,03	0,317	0,12
Коэфф. вариации	Н/Д	Н/Д	11,5%	10,4%	10,0%	11,6%	4,7%	15,7%	4,7%	14,3%	5,9%	11,9%	Н/Д	Н/Д	16,9%	2,8%	14,3%	3,3%

Центр 2

Образец	Отриц.		Слабо полож.		Полож. № 1		Полож. № 2		Сильно полож. № 1		Сильно полож. № 2		Отриц. контроль		Контроль критического значения		Полож. контроль	
	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности
Количество исследований	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	3	3	6	6	3	3
Сред.	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
Стандартное отклонение (внут. воспроизводимость) 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	Н/Д	Н/Д	0,00	0,01	Н/Д	Н/Д
Коэфф.	Н/Д	Н/Д	14,5%	13,0%	6,4%	7,6%	7,5%	7,1%	5,7%	4,8%	6,5%	3,2%	Н/Д	Н/Д	1,1%	1,1%	Н/Д	Н/Д

вариации																		
Стандартное отклонение (воспроиз. между тест-системами) 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	Н/Д	Н/Д	0,094	0,01	0,068	0,54
Коэфф. вариации	Н/Д	Н/Д	20,8%	27,0%	22,7%	19,8%	9,5%	18,7%	5,3%	26,5%	5,8%	29,2%	Н/Д	Н/Д	22,7%	0,9%	5,7%	18,2%

Центр 3

Образец	Отриц.		Слабо полож.		Полож. № 1		Полож. № 2		Сильно полож. №1		Сильно полож. № 2		Отриц. контроль		Контроль критического значения		Полож. контроль	
	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности	Опт. плотн.	Коэф. позитивности
Количество исследований	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	3	3	6	6	3	3
Сред.	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
Стандартное отклонение (внут. воспроизводимость) 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	Н/Д	Н/Д	0,028	0,06	Н/Д	Н/Д
Коэфф. вариации	Н/Д	Н/Д	2,4%	2,4%	12,5%	12,2%	8,2%	8,2%	8,1%	8,2%	5,3%	5,1%	Н/Д	Н/Д	5,8%	5,8%	Н/Д	Н/Д
Стандартное отклонение (воспроиз. между тест-системами) 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	Н/Д	Н/Д	0,028	0,04	0,056	0,23
Коэфф. вариации	Н/Д	Н/Д	20,0%	15,8%	10,5%	11,1%	12,5%	14,3%	7,1%	6,2%	4,7%	6,8%	Н/Д	Н/Д	5,8%	4,1%	3,4%	6,6%

Н/Д – не применимо.

¹NCCLS EP5-A, т. 19, № 2, стр. 24, формула (C2).

²NCCLS EP5-A, т. 19, № 2, стр. 25, формулы (C3) и (C4).

б) Исследование воспроизводимости для БАЛ

Внутренняя воспроизводимость и воспроизводимость между тест-системами теста *Platelia Aspergillus Ag* определялись в исследовании с использованием набора из 6 пулированных образцов сыворотки (отрицательного, слабо положительного, 2 положительных, 2 сильно положительных) в 3 центрах (2 центрах клинических исследований в США и 1 внутреннем центре). Каждый из 4 экземпляров в наборе, а также контроли были исследованы по 2 раза дважды в течение 5 дней (всего 120 раз в каждом центре). В каждом центре все прецизионные анализы проводили два оператора. Анализ данных проводили согласно нормам Института клиничко-лабораторных стандартов (CLSI, ранее NCCLS – Национального комитета по клиничко-лабораторным стандартам). В таблицах ниже приведены средняя оптическая плотность, среднее значение коэффициента позитивности, стандартное отклонение, процентный коэффициент вариации и воспроизводимость результатов для каждого образца.

Таблица 5. Сводка по центрам

Значение		Отрицательный		Сильно отрицательный		Слабо положительный		Средне положительный		Положительный контроль		Отрицательный контроль	
		N=60		N=60		N=60		N=60		N=60		N=60	
		Опт.плотность	Коэф. позитивности	Опт.плотность	Коэф. позитивности	Опт.плотность	Коэф. позитивности	Опт.плотность	Коэф. позитивности	Опт.плотность	Коэф. позитивности	Опт.плотность	Коэф. позитивности
Среднее значение		0,121	0,29	0,214	0,50	0,375	0,88	0,575	0,135	1,580	3,72	0,047	0,11
Внутренняя воспроизводимость	Стандартное отклонение	Н/Д	Н/Д	0,037	0,103	0,035	0,078%	0,029	0,067	0,111	0,265	Н/Д	Н/Д
	Коэффициент вариации, %	Н/Д	Н/Д	17,4%	20,5%	9,3%	8,9%	5,0%	5,0%	7,0%	7,1%	Н/Д	Н/Д
Воспроизводимость между наборами <i>Platelia Aspergillus Ag</i>	Стандартное отклонение	Н/Д	Н/Д	0,042	0,095	0,061	0,122	0,070	0,138	0,190	0,438	Н/Д	Н/Д
	Коэффициент вариации, %	Н/Д	Н/Д	19,6%	18,9%	16,2%	13,9%	12,2%	10,2%	12,0%	11,8%	Н/Д	Н/Д

Б) ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Исследования по оценке возможного влияния медицинских факторов, не связанных с инвазивным аспергиллезом, проводили с использованием 1 лота набора Platelia Aspergillus Ag. С помощью набора тестировали следующий перечень сывороток общим числом 151.

Таблица 6

Патология	Число протестированных образцов	Число положительных результатов
Ревматоидный фактор	10	0
Антинуклеарные антитела	10	0
Гипергаммаглобулинемия по IgG	10	0
Гипергаммаглобулинемия по IgM	10	0
Рак*	11	0
Цирроз невирусного происхождения (первичный билиарный; алкогольный; лекарственный)	10	0
Множественный трасфузии	10	0
Многочисленные роды	10	0
Вирусный гепатит А	10	0
Вирусный гепатит С	10	0
Краснуха	10	0
Цитомегаловирус	10	0
Сифилис (РПР+)	10	0
Токсоплазмоз	10	0
Микоплазмоз	10	0

*По одной пробе от больных раком мочевого пузыря, молочной железы (2), толстого кишечника, эндометрия, легких, простаты, почек и сквамозным раком (3).

В) КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические исследования в Северной Америке

I. ОБРАЗЦЫ СЫВОРОТКИ

Клинические исследования чувствительности, специфичности и прогностического значения теста Platelia Aspergillus Ag проводились у детей (в возрасте 21 года и менее) в 3 центрах в США и у взрослых в 3 центрах в Северной Америке. Были исследованы 1954 образца сыворотки от 129 детей и 1724 образца сыворотки от 172 взрослых из следующих групп:

- без симптомов инвазивного аспергиллеза (контрольная группа);
- с вероятным инвазивным аспергиллезом;
- с подтвержденным инвазивным аспергиллезом.

*Кооперативная исследовательская группа по инвазивным микозам (IFICG) Европейской организации по исследованию и лечению рака (EORTC) и Группа по исследованию микозов (MSG) Национального института аллергических и инфекционных заболеваний (NIAID) в 2002 г. определили критерии диагностики инвазивного аспергиллеза у пациентов с гемобластомами или после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток².

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

А) Дети

Результаты исследования анализировали с точки зрения чувствительности теста Platelia Aspergillus Ag у 17 детей с иммунодефицитом и подтвержденным/ вероятным инвазивным аспергиллезом в 3 центрах.

Таблица 7

Диагноз	Количество пациентов	Чувствительность	95% доверительный интервал
Подтвержденный аспергиллез	8	44,4% (4/9)	18,9-73,3%
Вероятный аспергиллез	9	62,5% (5/8)	30,6-86,3%
Подтвержденный и Вероятный аспергиллез	17*	52,9% (9/17)	31,0-73,8%

***Примечание.** У 8 из 17 пациентов выявлен отрицательный результат пробы на галактоманновый антиген *Aspergillus*. Все 8 пациентов получали несколько противогрибковых препаратов. Одновременный прием нескольких антимикотиков может снизить чувствительность теста у некоторых пациентов с инвазивным аспергиллезом³¹.

Б) Взрослые

В 3 центрах проводилось исследование чувствительности теста Platelia Aspergillus Ag у 29 пациентов после пересадки костного мозга или страдающих лейкемией с диагностированным подтвержденным/ вероятным инвазивным аспергиллезом.

Таблица 8

Диагноз	Количество пациентов	Чувствительность	95% доверительный интервал
Подтвержденный аспергиллез	11	81,8% (9/11)	52,3-94,9%
Вероятный аспергиллез	18	77,8% (14/18)	54,8-91,0%
Подтвержденный и Вероятный аспергиллез	29	79,3% (23/29)	61,6-90,2%

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

А) Дети

Специфичность у детей

В 3 центрах проводилось исследование специфичности теста Platelia Aspergillus Ag у 108* детей с иммунодефицитом без симптомов инвазивного аспергиллеза (контрольная группа).

Таблица 9

Центр	Количество пациентов	Специфичность	95% доверительный интервал
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%
Всего центров	108	87,0% (94/108)	79,4-92,1%

***Примечание.** 4 пациента с положительным результатом теста на галактоманновый антиген вследствие приема пиперациллина/тазобактама были исключены.

Специфичность для образцов от детей

В 3 центрах проводилось исследование специфичности теста Platelia Aspergillus Ag в 1625* образцах от 108 детей с иммунодефицитом без симптомов инвазивного аспергиллеза (контрольная группа).

Таблица 10

Центр	Количество образцов	Специфичность	95% доверительный интервал
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%
Всего центров	1625	98,5% (1600/1625)	97,7-99,0%

***Примечание.** 80 образцов от 4 пациентов с положительным результатом теста на галактоманновый антиген вследствие приема пиперациллина/тазобактама были исключены.

Б) Взрослые

Специфичность у взрослых

В 3 центрах проводилось исследование специфичности теста Platelia Aspergillus Ag у 143 пациентов после пересадки костного мозга или страдающих лейкемией без симптомов инвазивного аспергиллеза (контрольная группа).

Таблица 11

Центр	Количество пациентов	Специфичность	95% доверительный интервал
1	28	78,6% (22/28)	60,5-89,8%
2	77	93,4% (71/77)	84,0-96,4%
3	39	89,5% (34/38)	75,9-95,8%
Всего центров	143	88,8% (127/143)	82,9-93,0%

Специфичность для образцов взрослых

В 3 центрах проводилось исследование специфичности теста Platelia Aspergillus Ag в 1262 образцах от 143 пациентов после пересадки костного мозга или страдающих лейкемией без симптомов инвазивного аспергиллеза (контрольная группа).

Таблица 12

Центр	Количество образцов	Специфичность	95% доверительный интервал
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%
Всего центров	1262	98,5% (1243/1262)	97,0-99,0%

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Для пациентов в этом исследовании были проанализированы положительные и отрицательные прогностические значения. Положительные и отрицательные

прогностические значения рассчитывали исходя из средней встречаемости в 13,6% у детей и 16,9% у взрослых в этом исследовании.

А) Дети

Встречаемость 13,6%

Положительное значение: 39,1%	прогностическое	95% доверительный интервал: 22,2-59,2%
Отрицательное значение: 92,2%	прогностическое	95% доверительный интервал: 95,3-96,0%

Б) Взрослые

Встречаемость

Положительное значение: 59,0%	прогностическое	95% доверительный интервал: 43,4-72,9%
Отрицательное значение: 95,5%	прогностическое	95% доверительный интервал: 90,5-97,9%

Сообщалось об ожидаемой встречаемости инвазивного аспергиллеза 5–20%^{10, 24}. Для групп пациентов с низким уровнем встречаемости положительные и отрицательные прогностические значения рассчитывали повторно, используя значение встречаемости 5%.

А) Дети

Расчетная встречаемость 5%

Положительное значение: 17,6%	прогностическое	95% доверительный интервал: 6,5-39,8%
Отрицательное значение: 97,2%	прогностическое	95% доверительный интервал: 92,1-99,1%

Б) Взрослые

Расчетная встречаемость 5%

Положительное значение: 27,2%	прогностическое	95% доверительный интервал: 13,7-46,7%
Отрицательное значение: 98,8%	прогностическое	95% доверительный интервал: 95,4-99,7%

II. ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ БАЛ

Чувствительность и специфичность теста Platelia Aspergillus Ag изучались в США в ходе 2 исследований 116 образцов БАЛ от 62 реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов и 333 образцов от реципиентов легких с инвазивным аспергиллезом и без него, а также в 1 исследовании 99 образцов от 99 оценке гематологических пациентов группы высокого риска с инвазивным аспергиллезом и без него.

А) Чувствительность

Чувствительность оценивалась у реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов и легких, а также гематологических пациентов с инвазивным аспергиллезом согласно критериям EORTC/MSG.

I. Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов с инвазивным аспергиллезом

Из 116 образцов от 62 реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов в исследовании чувствительность оценивали у 5 испытуемых с диагностированным инвазивным аспергиллезом (см. таблицу ниже).

Таблица 13

Чувствительность теста Platelia Aspergillus Ag

Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов с подтвержденным/вероятным инвазивным аспергиллезом (распределение по числу пациентов)

Диагноз	Кол-во	Коэффициент позитивности $\geq 0,5$	Чувствительность	95% доверительный интервал
Подтвержденный аспергиллез	2	2	2/2(100%)	34,2-100%
Вероятный аспергиллез	3	3	3/3 (100%)	43,8-100%
Подтвержденный и Вероятный аспергиллез	5	5	5/5 (100%)	56,5-100%

Таблица 14

Чувствительность теста Platelia Aspergillus Ag

Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов с подтвержденным/ вероятным инвазивным аспергиллезом (распределение по типу трансплантата)

Тип трансплантата	Кол-во	Коэффициент позитивности $\geq 0,5$	Чувствительность	95% доверительный интервал
Сердце	1	1	1/1 (100%)	20,6-100%
Почки	3	3	3/3 (100%)	43,8-100%
Печень	1	1	1/1 (100%)	20,6-100%
Всего	5	5	5/5 (100%)	56,5-100%

II. Реципиенты легких с инвазивным аспергиллезом

Из 333 образцов от 116 реципиентов легких в исследовании чувствительность оценивали у 6 испытуемых с диагностированным инвазивным аспергиллезом (см. таблицу ниже).

Таблица 15

Чувствительность теста Platelia Aspergillus Ag

Реципиенты легких с подтвержденным/ вероятным инвазивным аспергиллезом (распределение по числу пациентов)

Диагноз	Кол-во	Коэффициент позитивности $\geq 0,5$	Чувствительность	95% доверительный интервал
Подтвержденный аспергиллез	2	1	1/2 (50,0%)	9,4-90,6%
Вероятный аспергиллез	4	3	3/4 (75,0%)	30,0-65,4%
Подтвержденный и Вероятный аспергиллез	6	4	4/6 (66,7%)	30,0-90,3%

III. Гематологические пациенты с инвазивным аспергиллезом

Чувствительность теста также оценивалась в 58 образцах от 58 гематологических пациентов с инвазивным аспергиллезом (см. таблицу ниже) методом ретроспективного анализа образцов БАЛ от гематологических пациентов группы высокого риска с помощью

теста *Platelia Aspergillus Ag.* Опубликованные данные исследования оценивали для определения характеристик эффективности ИФА-теста *Platelia Aspergillus Ag* для БАЛ²⁹.

Таблица 16

Подтвержденный/ Вероятный инвазивный аспергиллез у гематологических пациентов

Диагноз	Кол-во	Коэффициент позитивности $\geq 0,5$	Чувствительность	95% доверительный интервал
Подтвержденный аспергиллез	31	31	31/31 (100%)	89,0-100%
Вероятный аспергиллез	27	26	26/27 (96,3%)	81,7-99,3%
Подтвержденный и Вероятный аспергиллез	58	57	57/58 (98,3%)	90,8-99,7%

Специфичность

Специфичность оценивалась в 98 образцах БАЛ от 57 реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов и 305 образцах БАЛ от 110 реципиентов легких без инвазивного аспергиллеза (см. таблицу ниже). Результаты приведены для образцов от реципиентов, продемонстрировавших рост колоний плесневых грибов или его отсутствие.

Таблица 17

Специфичность в образцах

Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов и легких без инвазивного аспергиллеза

N = 403 образца БАЛ

Диагноз	Кол-во	Коэффициент позитивности $\geq 0,5$	Отрицательный, %	95% доверительный интервал
Контроль без колонизации	341	330	330/341 (96,8%)	94,3-98,2%
Контроль с колонизацией	62	50	50/62 (80,6%)	69,1-88,6%
Всего контроля	403	380	380/403 (94,3%)	91,6-96,2%

Специфичность в образцах БАЛ реципиентов трансплантатов паренхиматозных органов и легких без инвазивного аспергиллеза приведена с указанием типа трансплантата в таблице 18.

Таблица 18

Специфичность в образцах

Реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов и легких без инвазивного аспергиллеза (распределение по типу трансплантата)

N = 403 образца БАЛ

Тип трансплантата	Кол-во	Коэффициент позитивности $\geq 0,5$	Отрицательный	95% доверительный интервал
Сердце	28	25	25/28 (89,3%)	72,8-96,3%
Почки	25	22	22/25 (88,0%)	70,0-95,8%
Печень	23	22	22/23 (95,7%)	79,0-99,2%

Легкие	327	311	311/327 (95,1%)	92,2-97,0%
Всего	403	380	980/403 (94,3%)	91,6-96,2%

Специфичность также оценивалась в 41 образце БАЛ от 41 гематологического пациента без инвазивного аспергиллеза (см. таблицу ниже).

Таблица 19

Специфичность в образцах

Гематологические пациенты без инвазивного аспергиллеза

N = 41

Диагноз	Кол-во	Коэффициент позитивности $\geq 0,5$	Отрицательный	95% доверительный интервал
Контрольная группа пациентов	41	33	33/41 (80,5%)	66,0-89,8%

16. БИБЛИОГРАФИЯ

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. Sulahian 2006.** Occurrence and Kinetics of False-Positive Aspergillus GalactomannanTest Results following Treatment with S-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. **Blijevens, 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'antigene galactomannane aspergillaire circulant par

- PlateliaAspergillus: antigenemias positivas persistentes en l'absence d'infection. *J. Med. Mycol.* 8:p. 112-113.
27. **Maertens, J., J. Verhaegen, H. Demuynck, 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. Dis.* 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 Gallamini. 2004.** False-positive Aspergillusgalactomannan 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. Respi. 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 PlateliaAspergillusTest 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. Infec. 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 galactomannanAntigen 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. 139145.
 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. Schaufele, 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.

- (EN) • This product contains human or animal components. Handle with care.
- (RU) • Этот продукт содержит компоненты человеческого или животного происхождения. Обращаться с осторожностью.



H314 - H317

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

(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.

(RU)

Опасно!

Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждение глаз. Может вызывать аллергическую реакцию кожи.

Наденьте защитные перчатки / защитную одежду / средства защиты глаз / защиту для лица. ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промойте глаза водой, в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они надеты и это легко сделать. Продолжайте промывать глаза. ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополощите рот. НЕ вызывайте рвоту. ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (ВОЛОСЫ): Снимите/удалите немедленно всю загрязненную одежду. Промойте участок кожи водой. При возникновении раздражения или появления сыпи: Обратитесь к врачу. Утилизируйте содержимое/упаковку в соответствии с местными / региональными / национальными / международными правилами.

17. ПРИЛОЖЕНИЕ Информация для обращения медицинского изделия на территории РФ.

Набор реагентов Platelia Aspergillus Ag для выявления галактоманнанового антигена Aspergillus в сыворотке и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) методом иммуноферментного анализа.

Дополнение к Разделу 10 инструкции по применению:

- Выходной контроль качества набора определяется на:
- контрольная панель положительных сывороток (Panel de Controle Aspergillus Ag), содержащей галактоманнановый антиген Aspergillus, как процент образцов, определенных набором как положительный и составляет 100%.
- контрольная панель отрицательных сывороток (Panel de Controle Aspergillus Ag), не содержащих галактоманнановый антиген Aspergillus Aspergillus, как процент от образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

17.1 Транспортирование

Изделие следует перевозить в оригинальной упаковке производителя, защищающей продукцию от внешних воздействий, на всех видах транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

При проведении погрузочно-разгрузочных работ и транспортировании следует строго выполнять требования манипуляционных знаков, нанесенных на упаковке и транспортной таре.

При несоблюдении условий транспортирования и хранения медицинское изделие не подлежит использованию!

17.2 Хранение

Хранение наборов должно осуществляться, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С, в холодильниках или холодильных камерах, в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С, в холодильниках или холодильных камерах, в течение 8 недель.

17.3 Утилизация

Утилизация изделия должна производиться в соответствии с требованиями локального, регионального и национального законодательства.

Все образцы и материалы, используемые и образующиеся при выполнении исследований, в том числе реагенты с истекшим сроком годности, следует утилизировать в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как потенциально инфицированные медицинские отходы (класс Б).

17.4 Гарантии

Производитель гарантирует соответствие характеристик изделия заявленным в эксплуатационной документации при условии применения в соответствии с инструкцией и по назначению, предусмотренному производителем.

По всем вопросам, для получения технической консультации, рекламациям и поддержки следует обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории РФ:

ООО «Био-Рад Лаборатории»

Адрес: 105064, г. Москва, Нижний Сусальный переулок, дом 5, строение 5А.

Телефон: +7 (495) 721-14-04.

E-mail: diag_support_rcis@bio-rad.com

<http://www.bio-rad.com>