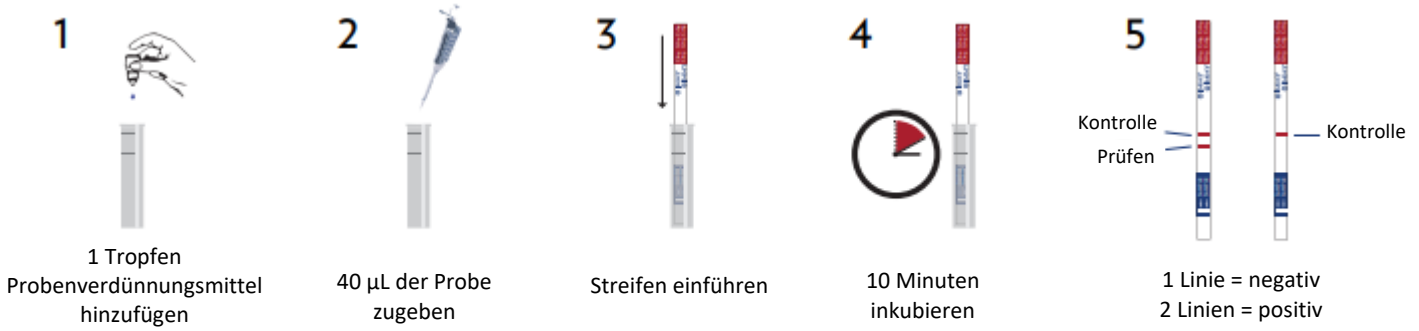


Zum Nachweis von Kryptokokken-Antigen

Rx ONLY



### VORGESEHENE VERWENDUNG

Der Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay (CrAg LFA) ist ein nicht automatisiertes, immunchromatographisches Testsystem für den qualitativen oder semiquantitativen Nachweis von Kapselpolysaccharid-Antigenen des *Cryptococcus*-Spezies-Komplexes (*Cryptococcus neoformans* und *Cryptococcus gattii*) in Serum, Plasma, venösem Vollblut und Liquor cerebrospinalis (CSF).

Der CrAg LFA ist ein verschreibungspflichtiger Labortest, der als Hilfsmittel bei der Diagnose von Kryptokokkose verwendet werden kann.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Kryptokokkose wird durch beide Arten des *Cryptococcus*-Spezies-Komplexes (*Cryptococcus neoformans* und *Cryptococcus gattii*) verursacht.<sup>1</sup> Personen mit beeinträchtigter zellvermittelter Immunität haben das größte Infektionsrisiko.<sup>2</sup> Kryptokokkose ist eine der häufigsten opportunistischen Infektionen bei AIDS-Patienten.<sup>3</sup> Kryptokokkose ist weltweit für 15 % der Todesfälle bei HIV verantwortlich.<sup>4</sup> Der Nachweis von Kryptokokken-Antigen (CrAg) in Serum und Liquor (CSF) wurde umfassend genutzt und weist eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität auf.<sup>5-6</sup> Der CrAg LFA verwendet hochsensitive und spezifische monoklonale Maus-Antikörper gegen Kryptokokken. Diese Antikörper reagieren hochsensitiv auf Glucuronoxylomannan (GXM), das primäre Antigen, das vom Organismus freigesetzt wird. Der CrAg LFA zeigt eine erhöhte Sensitivität gegenüber allen Serotypen des Organismus, insbesondere Serotyp C (*C. gattii*).<sup>7-9</sup> Der Nachweis von CrAg mit dem CrAg LFA wird bei Verdacht auf eine Kryptokokken-Erkrankung vielfach eingesetzt.<sup>10-13</sup>

### BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der CrAg LFA ist ein nicht automatisierter, immunchromatographischer Dipstick-Sandwich-Assay, der Kryptokokken-Antigen in Serum, Plasma, Vollblut und Liquor cerebrospinalis (CSF) nachweist. Proben werden in ein sauberes Gefäß mit flachem Boden pipettiert, und auf das LF Probenverdünnungsmittel (REF-#: GLF025) folgt ein CrAg Lateral Flow Teststreifen (REF-#: LFCR50). Der Test dauert 10 Minuten, die Ergebnisse sollten zwischen 10 Minuten und 2 Stunden abgelesen werden.

Der CrAg LFA ist so aufgebaut, dass monoklonale Anti-CrAg-Antikörper an kolloidales Gold konjugiert sind, die an Kapselpolysaccharid-Antigene des *Cryptococcus*-Spezies-Komplexes (*Cryptococcus neoformans* und *Cryptococcus gattii*) binden, welche in der Probe vorhanden sein können, während diese den Teststreifen hochwandert. Wenn CrAg in der Probe vorhanden ist, bindet es an die monoklonalen Anti-CrAg-Antikörper. Der Antikörper-Antigen-Komplex wandert durch Kapillarkraft weiter die Membran hinauf, wo er mit der Testlinie interagiert, auf der monoklonale Anti-CrAg-Antikörper immobilisiert sind. Der Antikörper-Antigen-Komplex bildet an der Testlinie ein „Sandwich“, wodurch eine sichtbare Linie entsteht. Bei korrektem Fluss und korrekter Reagenzreaktivität führt das Hochwandern jeder Probe, ob positiv oder negativ, dazu, dass der Kontrollantikörper zur Kontrolllinie wandert. Immobilisierte Antikörper an der Kontrolllinie binden sich an den Kontrollantikörper und bilden eine sichtbare Kontrolllinie. **HINWEIS:** Die Kontrolllinie ist eine Migrationskontrolle und keine Kontrolle der Probenzugabe. Bei einem positiven Test werden zwei Linien erzeugt (Test- und Kontrolllinie). Negative Testergebnisse bilden nur eine Linie (Kontrolllinie). Wenn sich keine Kontrolllinie ausbildet, ist der Test ungültig.

### BEREITGESTELLTE REAGENZIEN

Jedes Kit enthält ausreichend Reagenzien für 50 Tests.

1	GLF025	<b>LF-Probenverdünnungsmittel</b> Glycin-gepufferte Kochsalzlösung; Enthält 0,095 % Natriumazid, 0,5 mg/ml Blockierungsmittel	3 ml
2	EI0010	<b>LF-Titrationsverdünnungsmittel</b> Glycin-gepufferte Kochsalzlösung; enthält 0,095 % Natriumazid	6 ml
3	LFCR50	<b>CrAg Lateral-Flow-Teststreifen</b> 50 LFA-Teststreifen, verpackt in einem Trockenmittelröhrchen mit befestigtem Deckel; die Streifen sind 0,4 cm breit und 7,6 cm lang	50 Stück

	CB1020	<b>CrAg Positivkontrolle</b> 500 ng/ml Kryptokokken-Antigen (Stamm 184A – klinisches Isolat der Tulane University) <sup>15</sup> in einer Glycin-gepufferten Kochsalzlösung; enthält 0,095 % Natriumazid	1 ml
--	--------	---	------

Weitere Informationen zu Gefahren und Warnhinweisen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern.

### BENÖTIGTE MATERIALIEN, DIE NICHT ENHALTEN SIND

- Einmalhandschuhe
- Schutzbrille
- Pipette(n) zum Messen und Abgeben von 40 µL und 80 µL und zugehörige Einwegspitzen oder Einweg-Transferpipetten mit festem Volumen (40 µL)
- Einweg-Mikrozentrifugenröhrchen mit flachem Boden, Reagenzgläser mit flachem Boden oder eine Mikrotiterplatte mit flachem Boden, die den Teststreifen aufnehmen können
- Permanentmarker zum Beschriften von Tuben oder Streifen
- Timer
- Biomüllbehälter

### REAGENZSTABILITÄT UND LAGERUNG

Das gesamte CrAg LFA-Testkit sollte bei der angegebenen Temperatur (2-30°C) bis zu den auf den Reagenzietiketten aufgeführten Verfallsdaten gelagert werden. Die Qualität des Produkts kann nach Ablauf des Verfallsdatums nicht garantiert werden.

Unbenutzte Teststreifen sollten sofort in das Trockenmittelröhrchen zurückgelegt werden, wobei der angebrachte Deckel fest verschlossen werden muss. Alle Reagenzien sollten sofort nach Gebrauch fest verschlossen werden.

### VORSICHTSMAßNAHMEN IN BEZUG AUF REAGENZIEN

1. Für die Herstellung unserer hochwertigen Reagenzien und Materialien ist eine besondere Standardisierung erforderlich. Der Benutzer trägt die volle Verantwortung für alle Änderungen an den hier veröffentlichten Verfahren.
2. Nach dem angegebenen Verfallsdatum das Kit und die Reagenzien des Kits nicht mehr verwenden.
3. Vor jedem Gebrauch sollten die Komponenten des Kits einer Sichtprüfung auf offensichtliche Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination, eines Lecks oder einer deutlichen physischen Beschädigung unterzogen werden. Wenn solche Bedingungen festgestellt werden, ist das Kit zu entsorgen.
4. IMMY übernimmt keine Garantie für die Leistung seiner Produkte, wenn sie mit Materialien verwendet werden, die von anderen Herstellern bezogen wurden. Die Verwendung anderer Produkte mit diesem Test wurde nicht evaluiert und kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
5. Beim Handhaben von Reagenzien in diesem Kit stets Handschuhe tragen, da einige Reagenzien mit weniger als 0,1%igem (w/w) Natriumazid konserviert wurden. Natriumazid sollte niemals über den Abfluss entsorgt werden, da diese Chemikalie mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und potenziell explosive Metallazide bilden kann. Überschüssige Reagenzien müssen im entsprechenden Abfallcontainer entsorgt werden.
6. Die folgenden Komponenten sind nicht abhängig von der Charge des Testsystems: LF-Probenverdünnungsmittel (REF #: GLF025) und LF-Titrationsverdünnungsmittel (REF #: EI0010) und können daher mit jeder Charge von CrAg Lateral-Flow-Teststreifen (REF #: LFCR50) verwendet werden, vorausgesetzt, sie sind nicht abgelaufen.
7. Die Kontrolllinie ist eine Migrationskontrolle und nicht als Kontrolle für die Probenzugabe gedacht.

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN FÜR BENUTZER

1. Nur für In-vitro-Diagnostik.
2. Die Verwendung dieses Kits mit anderen Proben als humanem Serum, Plasma, Vollblut und Zerebrospinalflüssigkeit (CSF) wird nicht empfohlen.
3. 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.

4. Proben oder Lösungen nach Möglichkeit nicht verspritzen.
5. 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.
6. 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.
7. Die CrAg Lateral-Flow-Teststreifen (REF #: LFCR50) können nach dem Durchlauf von Proben biogefährlich sein. Entsprechend handhaben und entsorgen.
8. Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich.

## PROBENNAHME

Die Probenentnahme erfolgt aseptisch unter Anwendung etablierter Verfahren durch qualifiziertes Personal. Beim Umgang mit Patientenproben geeignete Maßnahmen ergreifen, um die Exposition gegenüber potenziell vorhandenen Krankheitserregern zu verhindern. Für optimale Ergebnisse sollten sterile, nicht hämolytierte Proben verwendet werden.

Bei Verzögerungen in der Probenverarbeitung ist eine Lagerung bei 2-8°C für bis zu 72 Stunden zulässig. Serum, Plasma und CSF können für längere Zeiträume bei <math>-20^{\circ}\text{C}</math> gelagert werden, vorausgesetzt, sie werden nicht wiederholt aufgetaut und wieder eingefroren. Natrium-EDTA-, Kalium-EDTA-, Natriumcitrat- und Natriumheparin-Antikoagulanzen wurden für die Plasmagewinnung validiert. Vollblut darf NICHT bei <math>0^{\circ}\text{C}</math> gelagert werden. Serum, Plasma und Liquor sollten während des Transports bei 2-8°C oder <math>-20^{\circ}\text{C}</math> gehalten werden. Vollblut sollte während des Transports bei 2-8°C gehalten werden, nicht bei <math>-20^{\circ}\text{C}</math>.

Die Proben sind vor dem Test auf Raumtemperatur zu bringen.

## VERFAHREN

### QUALITATIVES VERFAHREN

1. Geben Sie 1 Tropfen oder pipettieren Sie 40 µL LF-Probenverdünnungsmittel (REF #: GLF025) in ein geeignetes, beschriftetes Reservoir mit flachem Boden (Einweg-Mikrozentrifugenröhrchen mit flachem Boden, Reagenzglas mit flachem Boden oder Mikrotiterplatte mit flachem Boden usw.). Es empfiehlt sich außerdem, den Lateral-Flow-Teststreifen vor dem Einführen in die Probe zu beschriften.
2. Geben Sie 40 µL der Probe in das Reservoir aus Schritt 1 und mischen Sie gut.
3. Legen Sie einen CrAg Lateral Flow Teststreifen (REF #: LFCR50) in das Reservoir.  
**HINWEIS:** Geben Sie alle unbenutzten Teststreifen zurück in das Trockenmittelfläschchen und verschließen Sie den angebrachten Deckel fest. Verschließen Sie alle Reagenzflaschen fest, wenn sie nicht in Gebrauch sind.
4. Lassen Sie den Test 10 Minuten lang bei Raumtemperatur laufen.  
**HINWEIS:** Die Ergebnisse können zwischen 10 Minuten und 2 Stunden nach dem Einlegen der Teststreifen abgelesen werden.
5. Lesen und notieren Sie die Ergebnisse (siehe „LESEN DER TESTANLEITUNG“ weiter unten).

### SEMI-QUANTITATIVES VERFAHREN

1. Bereiten Sie Verdünnungen vor, beginnend mit einer Anfangsverdünnung von 1:5, gefolgt von seriellen Verdünnungen von 1:2 bis 1:2560:
2. Stellen Sie 10 Mikrozentrifugenröhrchen mit flachem Boden oder Reagenzgläser mit flachem Boden in ein geeignetes Gestell und beschriften Sie diese mit 1-10 (1:5 bis 1:2560). Für diesen Schritt können 10 Mikrowells einer Mikrotiterplatte mit flachem Boden verwendet werden.  
**HINWEIS:** Zusätzliche Verdünnungen können erforderlich sein, wenn die Probe bei 1:2560 positiv ist. Informationen zu Methoden zur Schonung der Teststreifen erhalten Sie auf Anfrage bei IMMY. Dort können Sie auch unser Titrationsalgorithmus-Verfahren anfordern.
3. Geben Sie 4 Tropfen oder pipettieren Sie 160 µL LF-Probenverdünnungsmittel (REF #: GLF025) in Röhrchen Nr. 1.
4. Geben Sie 2 Tropfen oder pipettieren Sie 80 µL LF-Titrationsverdünnungsmittel (REF #: EI0010) in jedes der Röhrchen mit der Beschriftung 2-10.
5. 40 µL der Probe in Röhrchen # 1 geben und gut mischen. Dies ist eine 1:5-Verdünnung der Probe.
6. Übertragen Sie 80 µL der 1:5-Probe aus Röhrchen # 1 in Röhrchen Nr. 2 und mischen Sie gut. Setzen Sie dieses Verdünnungsverfahren bis Röhrchen # 10 fort. 80 Stück entsorgen µL aus Rohr # 10 und 40 µL aus Röhrchen # 1, so dass jedes der 10 Röhrchen ein Volumen von 80 enthält. µL.
7. Legen Sie in jedes der 10 Röhrchen einen CrAg Lateral Flow Teststreifen (REF #: LFCR50).
8. Lassen Sie den Test 10 Minuten lang bei Raumtemperatur laufen.  
**HINWEIS:** Die Ergebnisse können zwischen 10 Minuten und 2 Stunden nach dem Einlegen der Teststreifen abgelesen werden.
9. Lesen und notieren Sie die Ergebnisse (siehe „LESEN DER TESTANLEITUNG“ weiter unten).

### QUALITÄTSKONTROLLVERFAHREN

Durch Positiv- und Negativkontrollen wird überprüft, ob das Kit wie vorgesehen funktioniert, und sichergestellt, dass keine Produktfehler oder -verunreinigungen aufgetreten sind. Eine Positivkontrolle (CrAg Positive Control) kann evaluiert werden, indem 1 Tropfen oder 40 µL LF-Probenverdünnungsmittel (REF #: GLF025) gefolgt von 1 Tropfen oder 40 µL CrAg-Positivkontrolle (REF #: CB1020) in ein Mikrozentrifugenröhrchen mit flachem Boden, ein Reagenzglas mit flachem Boden oder eine Mikrotiterplatte mit flachem Boden gegeben werden. Eine Negativkontrolle (LF Specimen Diluent) kann evaluiert werden, indem 2 Tropfen oder 80 µL LF-Probenverdünnungsmittel (REF #: GLF025) in ein separates

Mikrozentrifugenröhrchen mit flachem Boden, ein Reagenzglas mit flachem Boden oder eine Mikrotiterplatte mit flachem Boden gegeben werden. Legen Sie in jedes Röhrchen mit einer Kontrollprobe einen CrAg Lateral Flow Teststreifen (REF #: LFCR50) ein und lassen Sie den Test 10 Minuten lang laufen.

**HINWEIS:** Die Ergebnisse können zwischen 10 Minuten und 2 Stunden nach dem Einlegen der Teststreifen abgelesen werden.

Zwei (2) Linien (Test und Kontrolle) bedeuten ein positives Ergebnis, eine Linie (Kontrolle) bedeutet ein negatives Ergebnis. Es können zusätzliche Kontrollen gemäß den Richtlinien oder Anforderungen der örtlichen, regionalen und/oder nationalen Vorschriften oder gemäß den Akkreditierungsorganisationen getestet werden.

### VERFAHREN ZUM LESEN VON TESTS

Lesen Sie die Reaktion auf jedem Teststreifen ab. Das Vorhandensein zweier Linien (Test- und Kontrolllinie) deutet unabhängig von der Intensität der Testlinie, einschließlich schwacher Linien, auf ein positives Ergebnis hin.

Bei der semiquantitativen Titrationsmethode sollte der Titer des Patienten als die höchste Verdünnung angegeben werden, die ein positives Ergebnis liefert.

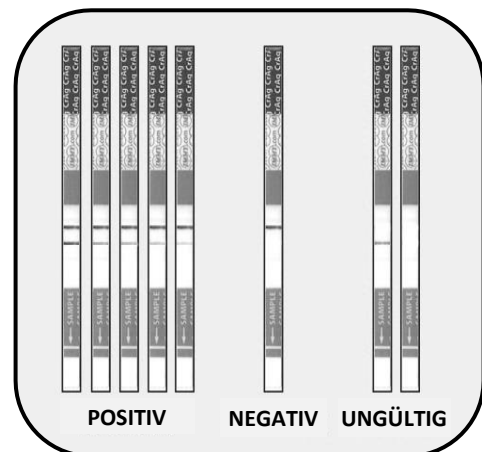
**HINWEIS:** Mit dem IMMY CrAg LFA erhaltene Titer sind nicht gleichbedeutend mit Titern, die mit anderen Kryptokokken-Antigen-Assays erhalten wurden.

Eine schwache Linienintensität könnte auf eine Probe mit hohem Titer hinweisen. Das semiquantitative Verfahren sollte durchgeführt werden, um eine Hemmung der Testlinie durch einen hohen Titer auszuschließen.

Eine einzelne Kontrolllinie deutet auf ein negatives Ergebnis hin. Wenn klinische Anzeichen und Symptome auf eine Kryptokokkose-Infektion hindeuten, sollte das semiquantitative Verfahren durchgeführt werden, um falsch negative Ergebnisse auszuschließen, die durch hohe Antigenkonzentrationen in der Probe verursacht werden, welche die Bildung der Testlinie hemmen können.

Wenn die Kontrolllinie nicht erscheint, sind die Ergebnisse ungültig und der Test muss wiederholt werden. Teilweise sichtbare Testlinien, die sich nur auf einer Hälfte des Teststreifens entwickeln, sind als ungültig zu interpretieren. Zur Bestätigung eines positiven oder negativen Ergebnisses sollte der Test wiederholt werden. Die Kontrolllinie ist eine Migrationskontrolle und nicht als Kontrolle für die Probenzugabe gedacht.

Die Stabilität der Kontroll- und Testlinien über den Messzeitraum (10 Minuten – 2 Stunden) hinaus wurde nicht validiert.



### ERGEBNISSE

Die Kontrolllinie muss zu sehen sein, damit der Test gültig ist. Wenn keine Kontrolllinie vorhanden ist, ist der Test als ungültig zu betrachten und muss wiederholt werden. Partiiell sichtbare Testlinien, die sich nur auf einer Hälfte des Teststreifens entwickeln, sind als ungültig zu interpretieren. Zur Bestätigung eines positiven oder negativen Ergebnisses sollte der Test wiederholt werden. Die Kontrolllinie dient der Migrationskontrolle und ist nicht als Kontrolle für die Probenzugabe gedacht.

Das Vorhandensein zweier Linien (einer Kontrolllinie und einer Linie in der Testzone) unabhängig von der Intensität der Testlinie, einschließlich schwacher Linien, deutet auf ein positives Ergebnis hin. Eine schwache Linienintensität könnte auf eine Probe mit hohem Titer hinweisen. Das semiquantitative Verfahren sollte durchgeführt werden, um eine Hemmung der Testlinie durch einen hohen Titer auszuschließen.

Eine einzelne Kontrolllinie deutet auf ein negatives Ergebnis hin. Wenn klinische Anzeichen und Symptome auf eine Kryptokokkose-Infektion hindeuten, sollte das semiquantitative Verfahren durchgeführt werden, um falsch negative Ergebnisse auszuschließen, die durch hohe Antigenkonzentrationen in der Probe verursacht werden, welche die Bildung der Testlinie hemmen können.

Interpretationen auf Basis der semiquantitativen Methodik können Hinweise auf die Prognose und das Ansprechen auf die Behandlung geben. Kryptokokken-Antigen-Titer größer als 1:160 sind mit der Entwicklung einer Meningitis assoziiert.<sup>16</sup>

Negative Ergebnisse schließen die Diagnose einer Krankheit nicht aus. Die Probe kann entnommen worden sein, bevor ein nachweisbares Antigen vorhanden war.

Die Stabilität der Kontroll- und Testlinien über die Ablesezeit (10 Minuten bis 2 Stunden) hinaus wurde nicht validiert.

## EINSCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS

- Die Leistungsmerkmale des Assays wurden nicht für andere Matrizen als Serum, Plasma, Vollblut und CSF etabliert.
- Die mit dem CrAg-LFA ermittelten Titer sind nicht mit den Titern anderer Kryptokokken-Antigentests vergleichbar.<sup>17</sup>
- Je nach Krankheit und Prävalenz des Organismus dürfen Tests nicht als Screeningverfahren für die allgemeine Bevölkerung durchgeführt werden. Der Vorhersagewert eines positiven oder negativen serologischen Ergebnisses hängt von der Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Kryptokokkose ab.
- Die Untersuchung von hämolysierten Serumproben kann aufgrund der starken Hintergrundfarbe auf dem Streifen zu falschen Negativ- und falschen Positivergebnissen führen.
- Schwach eingekapselte Stämme können zu falsch-negativen Ergebnissen führen.<sup>18</sup>
- Laut veröffentlichten Berichten kann *T. beigellii* falsch-positive Ergebnisse verursachen.<sup>19</sup>
- Patienten mit hohen Konzentrationen (> 40 µg/mL) heterophiler Antikörper wie humaner Anti-Maus-Antikörper (HAMA) können falsch-positive Ergebnisse verursachen.
- Bei hohen Konzentrationen (> 0,1 mg/mL) können Antigene von *Paracoccidioides brasiliensis* eine gewisse Kreuzreaktivität aufweisen.
- Es wurde eine gewisse Kreuzreaktivität mit Humanserum beobachtet, das *Aspergillus GM* enthielt.
- Der CrAg LFA wurde nicht bei neonatalen Patienten evaluiert.
- Während des Testens sollten Reservoirs mit flachem Boden verwendet werden, um einen ausreichenden Kontakt zwischen der Probe und dem CrAg LFA-Teststreifen zu gewährleisten.
- Unvollständige Testlinien, die nur auf einer Hälfte des Teststreifens erscheinen, sollten als ungültig erachtet werden. In solchen Fällen sollte eine Wiederholung des Tests durchgeführt werden, um positive oder negative Ergebnisse zu bestätigen.
- Dieser Test ist in der EU nicht für Selbsttests oder patientennahe Tests vorgesehen.
- Patienten mit extrem hohen Konzentrationen (≥ 0,140 mg/mL) an Kryptokokken-Antigen können zu schwachen Testlinien und in einigen Fällen zu falsch-negativen Ergebnissen führen.

## ERWARTETE WERTE

Die Häufigkeit der Kryptokokkose hängt von verschiedenen Faktoren ab, darunter die Patientenpopulation, die Art der Einrichtung und die Epidemiologie. In dieser Studie wurden 100 % der tatsächlich positiven Fälle, ermittelt durch Kultur und/oder Tuschepräparate, nachgewiesen.

## SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

### KLINISCHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Der CrAg LFA wurde mit den Goldstandard-Diagnosemethoden der Kryptokokkose (Kultur und/oder Tuschepräparat) verglichen, um die Sensitivität und Spezifität des Tests zu bewerten. Diese Studien umfassten eine Mischung aus prospektiven und retrospektiven Proben. Nachfolgend finden Sie Übersichtstabellen zu den erfassten Daten.

Serum		Kultur/Tuschepräparat	
		Positiv	Negativ
CrAg LFA	Positiv	138	6
	Negativ	0	152

Serum	Berechnet	95 % CI
<b>Empfindlichkeit</b>	100 %	97,4 % - 100 %
<b>Spezifität</b>	96,2 %	91,9 % - 98,6 %

Plasma		Kultur/Tuschepräparat	
		Positiv	Negativ
CrAg LFA	Positiv	81	0
	Negativ	1	54

Plasma	Berechnet	95 % CI
<b>Empfindlichkeit</b>	98,8 %	93,4 % - 100 %
<b>Spezifität</b>	100 %	93,4 % - 100 %

Vollblut		Kultur/Tuschepräparat	
		Positiv	Negativ
CrAg LFA	Positiv	148	11
	Negativ	2	186

Vollblut	Berechnet	95 % CI
<b>Empfindlichkeit</b>	98,7 %	95,3 % - 99,8 %
<b>Spezifität</b>	94,4 %	90,2 % - 97,2 %

CSF		Kultur/Tuschepräparat	
		Positiv	Negativ
CrAg LFA	Positiv	65	1
	Negativ	0	99

CSF	Berechnet	95 % CI
<b>Empfindlichkeit</b>	100 %	94,5 % - 100 %
<b>Spezifität</b>	99 %	94,6 % - 100 %

## VERGLEICH DER EIA-METHODE

Der CrAg LFA wurde anhand von 197 Serumproben evaluiert, die einem US-Referenzlabor zur Untersuchung auf Kryptokokken-Antigen zugesandt wurden. Diese Proben wurden mit dem CrAg LFA und einem kommerziell erhältlichen Cryptococcus-Antigen-EIA getestet. Die Ergebnisse dieser Vergleiche sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

Serum		CrAg EIA	
		Positiv	Negativ
CrAg LFA	Positiv	96	7
	Negativ	0	94

Serum	Berechnet	95 % CI
<b>% positive Übereinstimmung</b>	100 % (96/96)	96 % - 100 %
<b>% Negative Übereinstimmung</b>	93 % (94/101)	86 % - 97 %

## IMMY LATEX-AGGLUTINATIONS-METHODENVERGLEICH

Der CrAg LFA wurde anhand von 197 Serumproben evaluiert, die einem US-Referenzlabor zur Untersuchung auf Kryptokokken-Antigen zugesandt wurden. Diese Proben wurden mit dem CrAg LFA und dem IMMY Cryptococcal Antigen Latex Agglutination Assay getestet. Dieser Vergleich ergab eine Übereinstimmung von 99 %.

## SEMI-QUANTITATIVER METHODENVERGLEICH

Zusätzlich wurden 62 dieser Proben unter Verwendung des semi-quantitativen Titrationsverfahrens sowohl im CrAg LFA als auch im IMMY Cryptococcal Antigen Latex Agglutination Assay getestet. Die lineare Regressionsanalyse der Daten ergab R<sup>2</sup> Wert von 0,905.

## ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Um die Nachweisgrenze zu ermitteln, wurde ein C<sub>5</sub> - C<sub>95</sub> Experiment mit dem CrAg LFA durchgeführt, indem gereinigtes Cryptococcus-Antigen in LF Specimen Diluent (REF #: GLF025) verdünnt und 24 Replikate pro Konzentration mit den CrAg Lateral Flow Test Strips (REF #: LFCR50) getestet wurden. Die Ergebnisse dieser Tests sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Konzentration	# Positiv	% positiv
0,50 ng/ml	0	0 % (0/24)
0,75 ng/ml	0	0 % (0/24)
1,00 ng/ml	4	17 % (4/24)
1,25 ng/ml	12	50 % (12/24)
1,50 ng/ml	21	88 % (21/24)
1,75 ng/ml	24	100 % (24/24)
2,00 ng/ml	24	100 % (24/24)
2,50 ng/ml	24	100 % (24/24)
3,00 ng/ml	24	100 % (24/24)

Intervall C <sub>5</sub> - C <sub>95</sub>	1,00 - 1,50 ng/ml
--	-------------------

## KREUZREAKTIVITÄT

Der CrAg LFA wurde auf Kreuzreaktivität gegen ein Panel von Patientenserumproben über eine Vielzahl verschiedener Pathologien hinweg evaluiert. Die Ergebnisse dieser Testuntersuchungen sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Pathologie	Anzahl der Proben	% positiv
Penicilliose	5	0 % (0/5)
Sporotrichose	6	0 % (0/6)
HAMA	5	0 % (0/5)
Syphilis	10	0 % (0/10)
Röteln	5	0 % (0/5)
Mykoplasmosen	10	0 % (0/10)
Toxoplasmose	7	0 % (0/7)
CMV	10	0 % (0/10)
Blastomykose	10	0 % (0/10)
Kokzidioidomykose	10	0 % (0/10)
Histoplasmose	10	0 % (0/10)
Candidose	10	0 % (0/10)
Aspergillus GM+	10	10 % (1/10)
Rheumafaktor	10	0 % (0/10)

Zusätzlich wurde die Kreuzreaktivität durch Testen von rohen Kulturfiltratantigenen in verschiedenen Konzentrationen mittels CrAg LFA beurteilt. Bei hohen Konzentrationen (> 0,1 mg/ml) zeigten Antigene von *Paracoccidioides brasiliensis* eine gewisse Kreuzreaktivität.

Es wurden Antigene der folgenden Organismen getestet, die keine Kreuzreaktivität zeigten:

*Aspergillus terreus*  
*Aspergillus niger*

*Aspergillus fumigatus*  
*Aspergillus flavus*

Dieser Assay wurde nicht auf Kreuzreaktivität gegen die folgenden Organismen oder Pathologien evaluiert:

<i>Candida dubliniensis</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Zygomyceten</i>
<i>Candida parapsidosis</i>	Antinukleäre Antikörper +
<i>Candida krusei</i>	Hepatitis A-Virus
<i>Candida glabrata</i>	Hepatitis C-Virus
<i>Cladosporium trichoides</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

### INTERFERENZ

Der CrAg-LFA wurde auf Interferenzen hin untersucht, indem Seren von ikterischen, hämolysierten und lipämischen Patienten sowohl unspikiert als auch mit Kryptokokken-Antigen versetzt getestet wurden. Die Seren ohne Zusatz wurden alle negativ getestet, während die Seren mit Zusatz alle positiv getestet wurden; somit wurde keine Interferenz beobachtet. Hämolysierte Patientenserum erzeugten eine hohe Hintergrundreaktivität des Lateral-Flow-Teststreifens, was zu falsch negativen und falsch positiven Ergebnissen führen könnte.

### REPRODUZIERBARKEIT UND PRÄZISION

Der CrAg LFA wurde auf Reproduzierbarkeit und Präzision evaluiert, indem Serum mit Kryptokokken-Antigen versetzt wurde, um ein Panel herzustellen, das aus einer negativen Probe, einer hoch-negativen (C<sub>3</sub>) Probe, einer schwach-positiven Probe und einer mäßig-positiven Probe bestand. Dieses Panel wurde zweimal täglich an drei Standorten mit insgesamt fünf Bedienern über einen Zeitraum von fünf Tagen getestet, um sowohl die Inter-Labor- als auch die Intra-Labor-Reproduzierbarkeit und -Präzision des Tests zu bestimmen. Die Ergebnisse dieser Studie sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

PANEL	Seite 1 % Pos	Seite 2 % Pos	Seite 3 % Pos	Gesamt % Pos
Negativ	0 % (0/30)	0 % (0/30)	0 % (0/15)	0 % (0/75)
Hoher Negativwert	7 % (2/30)	0 % (0/30)	0 % (0/15)	3 % (2/75)
Niedrig positiv	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (15/15)	100 % (75/75)
Mäßig positiv	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (15/15)	100 % (75/75)

### HIGH-DOSE-HOOK-EFFEKT (PROZONEN-PHÄNOMEN)

Obwohl selten, können extrem hohe Konzentrationen ( $\geq 0,140$  mg/ml) von Kryptokokken-Antigen zu schwachen Testlinien und in extremen Fällen zu negativen Testergebnissen führen. Wenn bei schwach positiven oder negativen Testergebnissen ein Prozoneneffekt vermutet wird, sollte das semi-quantitative Titrationsverfahren befolgt werden, um falsch-negative Ergebnisse auszuschließen.

### MESSBEREICH

Der CrAg Der LFA-Messbereich des Assays liegt zwischen der Nachweisgrenze (LoD) und dem High-Dose-Hook-Effekt, was einem Messbereich von 1,25 ng/ml bis 0,140 mg/ml entspricht.

### REFERENZVERFAHREN UND MATERIALIEN

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

### LITERATURVERZEICHNIS

- Lin X, Heitman J. The Biology of the *Cryptococcus neoformans* Species Complex. *Annu Rev Microbiol.* 2006; 60(1): 69-105.
- Zhou Q, Murphy WJ. Immune response and immunotherapy to *Cryptococcus* infections. *Immunol Res.* 2006; 35(3): 191-208.
- Park BJ, Wannemuehler K, Marston B, Govender N, Pappas P, Chiller T. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS.* 2009; 23(4): 525-530.
- Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17(8): 873-881.
- Doering TL. How sweet it is! Cell wall biogenesis and polysaccharide capsule formation in *Cryptococcus neoformans*. *Annu Rev Microbiol.* 2009; 63: 223-247.
- Goodman JS, Kaufman L, Koenig MG. Diagnosis of cryptococcal meningitis. Value of immunologic detection of cryptococcal antigen. *N Engl J Med.* 1971; 285(8): 434-436.
- Kozel TR. Virulence factors of *Cryptococcus neoformans*. *Trends Microbiol.* 1995; 3(8): 295-299.
- Hansen J, Slechta ES, Gates-Hollingsworth MA, et al. Large-scale evaluation of the immune-mycological lateral flow and enzyme-linked immunoassays for detection of cryptococcal antigen in serum and cerebrospinal fluid. *Clin Vaccine Immunol.* 2013; 20(1): 52-55.
- Gates-Hollingsworth MA, Kozel TR. Serotype sensitivity of a lateral flow immunoassay for cryptococcal antigen. *Clin Vaccine Immunol.* 2013;20(4): 634-635.
- Lindsley MD, Mekha N, Baggett HC, et al. Evaluation of a newly developed lateral flow immunoassay for the diagnosis of cryptococcosis. *Clin Infect Dis.* 2011; 53(4): 321-325.
- McMullan BJ, Halliday C, Sorrell TC, et al. Clinical utility of the cryptococcal antigen lateral flow assay in a diagnostic mycology laboratory. *PLoS One.* 2012; 7(11): e49541.
- Escandón P, Lizarazo J, Agudelo CI, Chiller T, Castañeda E. Evaluation of a rapid lateral flow immunoassay for the detection of cryptococcal antigen for the

early diagnosis of cryptococcosis in HIV patients in Colombia. *Med Mycol.* 2013;51(7): 765-768.

- Huang HR, Fan LC, Rajbanshi B, Xu JF. Evaluation of a new cryptococcal antigen lateral flow immunoassay in serum, cerebrospinal fluid and urine for the diagnosis of cryptococcosis: a meta-analysis and systematic review. *PLoS One.* 2015;10(5): e0127117.
- Rick F, Niyibizi AA, Shroufi A, et al. Cryptococcal antigen screening by lay cadres using a rapid test at the point of care: A feasibility study in rural Lesotho. *PLoS One.* 2017;12(9): e0183656.
- Domer JE, Lyon FL, Murphy JW. Cellular immunity in a cutaneous model of cryptococcosis. *Infect Immun.* 1983;40(3): 1052-1059.
- Letang E, Müller MC, Ntamatungiro AJ, et al. Cryptococcal Antigenemia in Immunocompromised Human Immunodeficiency Virus Patients in Rural Tanzania: A Preventable Cause of Early Mortality. *Open Forum Infect Dis.* 2015;2(2): ofv046.
- Binnicker MJ, Jespersen DJ, Bestrom JE, Rollins LO. Comparison of four assays for the detection of cryptococcal antigen. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(12): 1988-1990.
- Birkhead M, Naicker SD, Blasich NP, et al. *Cryptococcus neoformans*: Diagnostic Dilemmas, Electron Microscopy, and Capsular Variants. *Trop Med Infect Dis.* 2019; 4(1):1.
- Rivet-Dañon D, Guitard J, Grenouillet F, et al. Rapid diagnosis of cryptococcus using an antigen detection immunochromatographic test. *J Infect.* 2015;70(5): 499-503.

### VERWENDUNG VON INTERNATIONALEN SYMBOLEN

	Lagerung 2-30 °C		Chargenbezeichnung
	Hersteller		Referenznummer
	Verwendbar bis		In-vitro-Diagnostikum
	Vor Feuchtigkeit schützen		Ausreichend für „Anzahl an“ Tests
	Lesen Sie die Gebrauchsanweisung		Nur verschreibungspflichtige Verwendung
	Nur zur Einmalverwendung		Ist konform mit den IVDR-Anforderungen der Europäischen Union

### HINWEIS FÜR BENUTZER DER EUROPÄISCHEN UNION

Jeder schwerwiegende Vorfall, der im Zusammenhang mit diesem Produkt aufgetreten ist, muss IMMY und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats gemeldet werden, in dem der Benutzer und/oder der Patient niedergelassen bzw. wohnhaft ist.

Die Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung (SSP) wird in der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte (EUDAMED) verfügbar sein, sobald EUDAMED verfügbar ist. Das SSP ist mit der Basic UDI-DI dieses Produkts verknüpft, die 081638702CR2003W9 lautet.

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

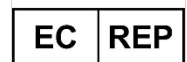
Revisionsdatum 06.10.2025

Version 0

Eine Liste der Änderungen in der Gebrauchsanweisung erhalten Sie per E-Mail-Anfrage an [info@immy.com](mailto:info@immy.com)  
Länderspezifische Gebrauchsanweisungen sind unter [IMMY.com/resources](http://IMMY.com/resources) verfügbar



2701 Corporate Centre Dr.  
Norman, OK 73069 USA  
+1 (405) 360-4669 / (800) 654-3639  
Fax: +1 (405) 364-1058  
E-Mail: [info@immy.com](mailto:info@immy.com)  
[www.immy.com](http://www.immy.com)



MDSS  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Germany