

FUNGADIA

Aspergillus Antigen ELISA

Instruction d'utilisation – Français

Veillez lire attentivement ce mode d'emploi avant d'utiliser le test

UTILISATION PRÉVUE

FungaDia-Aspergillus Antigen ELISA est un kit immuno-enzymatique de type sandwich sur microplaque pour la détection qualitative de l'antigène galactomannane d'Aspergillus dans des échantillons de sérum et lavage bronchoalvéolaire (LBA) chez des patients adultes ou des enfants. La détection du galactomannane dans le sérum ou LBA peut être utilisé comme aide au diagnostic de l'aspergillose invasive (AI). Ce kit ELISA doit être utilisé en association avec d'autres techniques de diagnostic telles que la culture microbiologique, l'examen histologique de biopsie ou l'examen radiologique pulmonaire.

INTRODUCTION

L'Aspergillose est un terme qui regroupe les infections causées par des champignons appartenant au genre *Aspergillus*, dont les spores sont véhiculées par l'air et sont inhalées par tous les individus. L'espèce *Aspergillus fumigatus* est responsable de plus de 80% des aspergilloses humaines. L'Aspergillose Invasive affecte les voies respiratoires inférieures après inhalation de ces spores. Elles surviennent principalement chez les patients neutropéniques (traitement anticancéreux), chez les patients traités par immunosuppresseurs et corticostéroïdes (suite à une transplantation de moelle osseuse) et chez les patients hospitalisés en réanimation pour une atteinte respiratoire sévère (grippe, COVID-19). Les symptômes sont fièvre, toux, douleurs thoraciques, hémoptysies, difficultés respiratoires. En raison de l'absence de manifestations cliniques typiques et de méthodes de diagnostic précoce efficaces, l'AI peut présenter un taux de mortalité jusqu'à 50%. La détection rapide et précoce est un facteur clé dans le traitement efficace et la réduction de la mortalité de l'AI. La détection du galactomannane dans le sérum ou LBA est une méthode de diagnostic recommandée par les récentes directives [4].

PRINCIPE DU TEST

FungaDia-Aspergillus Galactomannan ELISA Detection Kit est un test immuno-enzymatique de type sandwich sur microplaque pour la détection qualitative de l'antigène galactomannane d'Aspergillus dans des échantillons de sérum et lavage bronchoalvéolaire (LBA). Le test se base sur la détection du galactomannane par un anticorps monoclonal de souris spécifique fixé dans le fond des puits de la microplaque (anticorps de capture). La détection se fait à l'aide d'un anticorps monoclonal de détection couplé à la peroxydase

(HRP). Les échantillons de sérum ou de liquide de LBA sont traités à la chaleur en présence d'EDTA afin de dissocier les complexes immuns et de précipiter les protéines susceptibles d'interférer avec le test. Les échantillons traités et le conjugué sont ajoutés dans les puits sensibilisés avec les anticorps monoclonaux puis incubés. Un complexe anticorps monoclonal - galactomannane - anticorps monoclonal / peroxydase se forme en présence de l'antigène galactomannane. Après lavage des puits, une solution chromogène (TMB) est ajoutée aux puits qui va réagir avec les complexes liés dans le puits et former une couleur bleue. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout d'une solution acide qui fait changer la couleur du bleu au jaune. L'absorbance (densité optique, DO) des échantillons et contrôles est lue avec un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm.

CONTENU DU KIT

Quantité	Ref.	Nom	Composants
1	R1	Microplaque ELISA	12x8 barrettes sensibilisées avec un anticorps anti-galactomannane
1 x 25 ml	R2	Solution de lavage concentrée (20x)	Tampon PBST
1 x 2 ml	R3	Contrôle Négatif	Tampon PBST
1 x 2 ml	R4	Contrôle Cut-off / seuil	Tampon PBST, galactomannane
1 x 2 ml	R5	Contrôle Positif	Tampon PBST, galactomannane
1 x 7 ml	R6	Anticorps conjugué à l'HRP	Anticorps anti-galactomannane conjugué à la peroxydase (HRP)
1 x 12 ml	R7	Solution de traitement des échantillons	Solution EDTA
1 x 25 ml	R8	Solution chromogène TMB	Tetramethyl benzidine (TMB)
1 x 12 ml	R9	Solution Stop	H ₂ SO ₄
5	M1	Scelleur de microplaque	Film adhésif pour scellage de microplaque
1	IFU	Instruction d'utilisation	

Note: Les composants du kit ne sont pas interchangeables.

Le TMB (3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine) est un chromogène de la peroxydase non carcinogène et non mutagène.

STOCKAGE ET CONSERVATION DU KIT

Le kit FungaDia-Aspergillus ELISA peut être stocké à 2-8°C jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Les bouteilles de solution ouvertes et les barrettes non-utilisées doivent être stockées à 2-8°C dans le sachet original correctement fermé avec le dessiccant pendant 6 mois. Le transport du kit peut être fait à température ambiante (5-30°C).

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

1. Eau distillée ou déionisée pour la dilution de la solution de lavage concentrée (R2)
2. Papier absorbant
3. Équipement de protection (gants jetables, lunettes de protection)
4. Pipette ou pipette multi-canal
5. Tubes stériles 1.5 ml avec bouchon à vis (recommandé : 72.692.005, Sarstedt)
6. Bloc chauffant
7. Centrifugeuse pour tubes 1.5 ml (10,000 xg)
8. Agitateur de type Vortex

9. Incubateur pour microplaques à 37 ± 1°C

10. Lecteur de plaque avec longueur d'onde à 450 nm

Note : Un automate à ELISA (ex. Evolis, BioRad) peut être utilisé.

ÉCHANTILLONS

Type d'échantillon : Sérum ou lavage bronchoalvéolaire LBA

Prélever l'échantillon du patient conformément aux directives de prélèvement clinique pour les échantillons de tests de laboratoire. Éviter toute contamination pendant le prélèvement, le transport et le stockage de l'échantillon. Les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8 °C, maximum 48h pour le sérum et 24h pour le liquide LBA. Si les échantillons ne peuvent pas être testés en temps, veuillez les conserver à -20°C pendant maximum 1 mois. Les échantillons traités peuvent être conservés 6 mois à -20°C. Évitez la contamination et la détérioration des échantillons ainsi que les congélations et décongélations répétées. Les échantillons grossièrement hémolysés, icteriques ou lipidiques doivent être évités.

PROCÉDURE DE TEST

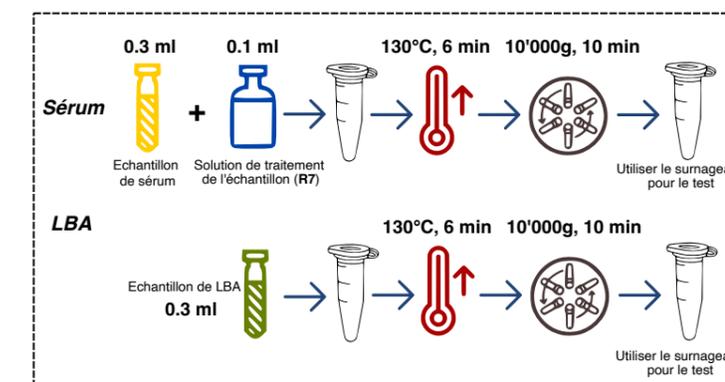
1. Traitement des échantillons et préparation

Sérum:

1. Prélever 300 µL d'échantillon dans un tubes 1.5 ml stérile.
2. Ajouter 100 µL de solution de traitement des échantillons (R7) dans chaque tube.
3. Bien mélanger avec un agitateur vortex.
4. Incuber 6 minutes à 130°C (ou 7 minutes à 100°C).
5. Centrifuger à 10'000xg pendant 10 minutes.
6. Utiliser 50 µL du surnageant pour le test.

Fluide LBA:

1. Prélever 300 µL d'échantillon dans un tube 1.5 ml stérile.
2. Incuber 6 minutes à 130°C (ou 7 minutes à 100°C).
3. Centrifuger à 10'000xg pendant 10min.
4. Utiliser 50 µL du surnageant pour le test.



2. Procédure du test ELISA

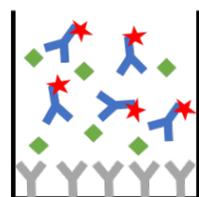
1. Équilibrer tous les réactifs à température ambiante (18-25 °C)
2. Ouvrir le sachet aluminium et sortir la microplaque (R1). En fonction du nombre d'échantillon à tester, ranger les barrettes non-utilisées dans le sachet aluminium immédiatement.
3. Préparer la solution de lavage diluée en diluant la solution concentrée de lavage (R2) 1/20 avec de l'eau distillé stérile ou ultrapure.

4. Ajouter 50 µL de anticorps anti-galactomannane conjugué à l'HRP (**R6**) dans chaque puits.
5. Ajouter 50 µL d'échantillon traité ou contrôle par puits:
 - a. Contrôles (non-traités) : Utiliser 1 puits pour le contrôle négatif (**R3**), 2 puits pour le contrôle cut-off / seuil (**R4**) et 1 puits pour le contrôle positif (**R5**).
 - b. Échantillons (traités) : 50 µL de surnageant traité par puits.

Pour des tests de plus de 25 échantillons, nous recommandons d'utiliser les 3 premiers et les 3 derniers puits pour les contrôles comme doublon.

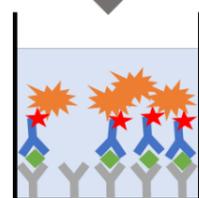
6. Bien couvrir la microplaque avec le film adhésif et incubé à 37°C (±1°C) pendant 90 ± 5 min.
7. Vider chaque puits dans un récipient à déchet biologique. Inverser la microplaque et tapoter doucement sur du papier absorbant pour éliminer tout liquide restant. Laver 4 fois avec 280 µL de solution de lavage diluée.
8. Ajouter rapidement 200 µL de solution chromogène TMB (**R8**) dans chaque put, éviter l'exposition à la lumière. Incuber dans le noir 20 minutes à 37°C (sans le film adhésif).
9. Stopper la réaction en ajoutant 100 µL de solution Stop (**R9**) dans chaque puits. Mélanger doucement, si besoin essuyer le fond de la microplaque et lire la densité optique (DO) à 450 nm dans l'heure.

- Anticorps de capture Anti-galactomannane
- R6** Anticorps anti-galactomannane conjugué à l'HRP (50 µl)
- Contrôles ou échantillons (50 µl)



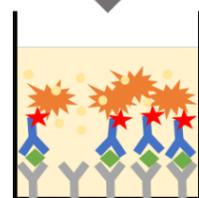
Incuber 90 minutes à 37°C, laver 4 fois avec 280 µl de solution de lavage diluée

- R8** Solution chromogène TMB (200 µl)



Incuber 20 minutes à 37°C

- R9** Solution Stop (100 µl)



Lire l'absorbance (DO) à 450 nm

CONTRÔLE QUALITÉ

Contrôle	Calcul	Spécification
Négatif	$\frac{\text{DO du contrôle Négatif}}{\text{Moyenne des DO du seuil}}$	Ratio contrôle négatif < 0.4
Seuil (Cut-off)	Moyenne de l'absorbance (A)	Absorbance (A) du seuil > 0.2
Positif	$\frac{\text{DO du contrôle positif}}{\text{Moyenne des DO du seuil}}$	Ratio contrôle positif > 1.5

Le test est valide uniquement si ces critères de validité sont atteints.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Pour l'interprétation des résultats, l'index de l'échantillon est calculé :

Index (I) = $\frac{\text{Absorbance (DO) de l'échantillon}}{\text{Moyenne de l'absorbance (DO) du seuil}}$	
Index de référence pour les échantillons de <u>sérum et LBA</u> :	
Index (I)	Interprétation des résultats
< 0.5	Considéré comme négatif pour l'antigène galactomannane et indique un risque faible d'aspergillose invasive
≥ 0.5	Considéré comme positif pour l'antigène galactomannane et indique un risque élevé d'aspergillose invasive
Une zone grise pourra être définie par chaque laboratoire en fonction de sa population de patients. En cas de résultats limites (Index : 0.4-0.5) ou douteux, nous recommandons de répéter le test avec un nouvel échantillon.	

LIMITATIONS

1. Lisez attentivement la notice avant de réaliser le test. Les procédures et l'interprétation des résultats doivent être suivies attentivement.
2. Un test négatif à partir d'échantillons de sérum et/ou de LBA ne peut exclure le diagnostic d'aspergillose invasive. Les échantillons de patients à risque d'aspergillose invasive doivent être testés deux fois par semaine ou avec d'autres procédures de diagnostic.
3. Un résultat positif sans signe clinique peut être dû à la détection précoce de l'antigène galactomannane dans le sérum ou le LBA, avant l'apparition de signes cliniques et/ou radiologiques.
4. Une contamination croisée des puits d'échantillons négatifs par les puits d'échantillons ou de contrôle positifs est possible si le contenu d'un puits déborde dans un autre puits en raison d'une manipulation brutale de la microplaque ou d'une mauvaise technique de pipetage.
5. Le kit de détection FungaDia-Aspergillus ELISA n'a pas été évalué pour une utilisation avec du plasma ou d'autres types d'échantillons tels que l'urine ou le LCR.
6. Les résultats du kit de détection FungaDia-Aspergillus ELISA dans les échantillons de lavage broncho-alvéolaire (LBA) provenant de patients non immunodéprimés ou néonataux doivent être interprétés avec prudence.
7. Les échantillons avec des valeurs d'index proches du seuil de positivité du test (0,5) doivent être interprétés avec prudence. La prise en charge clinique des patients et le diagnostic de l'aspergillose

invasive doivent être envisagés de manière globale en tenant compte de leurs symptômes, de leurs antécédents médicaux, des autres tests de laboratoire et des réponses au traitement.

PERFORMANCES

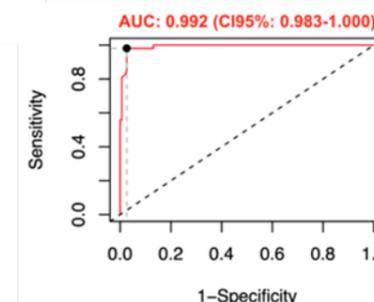
ÉVALUATION CLINIQUE

Une étude clinique rétrospective a été réalisée avec 205 échantillons de sérum et 33 LBA dans un hôpital universitaire Français. La performance du kit FungaDia-Aspergillus ELISA a été comparée à la méthode de référence Aspergillus Ag ELISA Assay Platelia™ (BioRad, Marnes-la-Coquette, France) [8].

Échantillons de sérum

Platelia (BioRad)/Diagnostic clinique

FungaDia ELISA		+	-
	+	49	1
	-	1	152
Sensitivity:		98,0% (CI95%: 87.8-100%)	
Specificity:		99,3% (CI95%: 95.9-100%)	
PPV:		98,0% (CI95%: 88.4-99.9%)	
NPV:		99,3% (CI95%: 95.9-100%)	

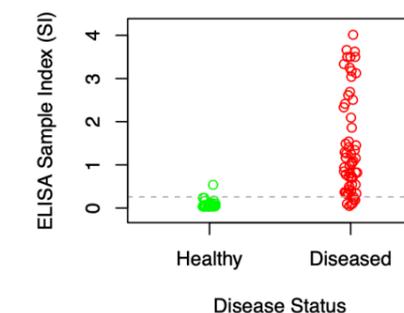
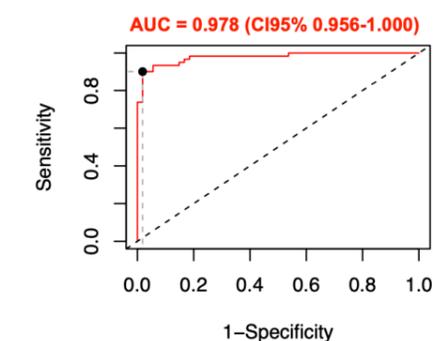


Échantillons de LBA

Platelia (BioRad)

FungaDia ELISA		+	-
	+	5	0
	-	0	28
Sensitivity:		100,0% (CI95%: 46.3-100%)	
Specificity:		100,0% (CI95%: 85.0-100%)	
PPV:		100,0% (CI95%: 46.3-100%)	
NPV:		100,0% (CI95%: 85.0-100%)	

Une deuxième étude portant sur 115 échantillons (48 rétrospectifs et 67 prospectifs) a été réalisée dans un CHU français. La performance du kit FungaDia-Aspergillus ELISA a été comparée à la méthode de référence Aspergillus Ag ELISA Assay Platelia™ (BioRad, Marnes-la-Coquette, France). Une sensibilité de 90.2% et une spécificité de 98.1% a été calculée. La courbe ROC a montré une aire sous la courbe (AUC) de 0.978.



RÉACTIONS CROISÉES

La réactivité croisée d'échantillons de liquide de LBA contenant *Mycoplasma pneumoniae* ou des anesthésiques utilisés lors du processus d'aspiration n'a pas été évaluée. Les autres microorganismes présentés dans les tableaux ci-dessous ont été évalués avec les anticorps utilisés and le kit ELISA.

Échantillons positifs

Substances interférentes	Concentration	Galactomannan	Résultats
(1,3)-β-D-glucane	50 ng/ml	6 ng/ml	POS (3/3)
<i>Candida albicans</i> mannane	50 ng/ml		POS (3/3)
Cryptococcal capsular polysaccharide	50 ng/ml		POS (3/3)

Échantillons négatifs

Substances interférentes	Concentration	Résultats
(1,3)-β-D-glucan	50 ng/ml	NEG (3/3)
<i>Candida albicans</i> mannan	50 ng/ml	NEG (3/3)
Cryptococcal capsular polysaccharide	50 ng/ml	NEG (3/3)

Microorganismes

Microorganismes	Concentration	Résultats
<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 204305	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-41311	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35301	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35302	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35303	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-41312	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 10124	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 9642	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus ustus</i> ATCC 10760	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus caesiellus</i> ATCC 42693	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus terreus</i> Thom ATCC 1012	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus nidulans</i> ATCC 10074	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 10106	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Penicillium digitatum</i> ATCC 48113	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Paecilomyces variotii</i> ATCC 18502	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Talaromyces (Penicillium) marneffei</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Cladosporium cladosporioides</i> ATCC 16022	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Magnusiomyces capitatus</i> ATCC 28576	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Alternaria alternata</i> ATCC 66981	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Lishtheimia ramose</i> ATCC 22754	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Trichophyton interdigitale</i> ATCC 9533	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida albicans</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida parapsilosis</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida glabrata</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida tropicalis</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida krusei</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Coccidioides immitis</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Histoplasma capsulatum</i>	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)

SUBSTANCES INTERFÉRANTES

Une interférence avec du Galactomannane de graine de caroube a été observée à une concentration de 1 mg/ml. Aucune interférence avec de l'Amoxicilline (Sandoz), jusqu'à une concentration de 7.5 mg/ml, et des gamma globulines a été observée. Des interférences avec des compléments alimentaires contenant du galactomannane, de la maltodextrine ou de l'amidon de maïs hydrolysé ont été observées en testant des solutions de 1%

de Prosure® et Enlive® (Abbott Nutrition). Une réaction positive en absence de signe clinique peut être observée chez des patients recevant d'autres produits contenant du galactomannane ou des antibiotiques (Piperacillin...).

LIMITE DE DÉTECTION

La limite de détection (LOD) a été déterminée à 0.5 ng/ml de galactomannane d'*Aspergillus* et la limite de quantification (LOQ) à 1.0 ng/ml.

PRÉCISION

La répétabilité a été évaluée en testant des échantillons positifs dans 10 puits d'une microplaque en un essai. Le coefficient de variation (CV%) était de 5.6%. La reproductibilité inter-lot a été évaluée en testant un échantillon positif 10 fois dans 3 lots différents. Le coefficient de variation était de 8.9%.

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Ce test est uniquement pour un diagnostic *in vitro*, pour usage professionnel et pas pour autotest ni test proche du patient (near-patient testing).
- Stocker les échantillons de sérum et LBA correctement afin d'éviter la contamination ou la détérioration des échantillons.
- Ne pas utiliser le kit ou les réactifs après la date d'expiration.
- Ne pas mélanger les réactifs de différents lots.
- Ne pas ré-utiliser les microplaques. Désassembler les barrettes du support avec précaution afin d'éviter de les casser.
- Équilibrer tous les réactifs à température ambiante, pendant au moins 30 minutes, avant d'utiliser le kit.
- Éviter la formation de bulles dans les puits et bien mélanger les réactifs avant emploi.
- Bien mélanger la solution de lavage concentrée (R2) avant la dilution. Une cristallisation de la solution est possible. Bien rincer la bouteille.
- Utiliser des pointes de pipette stériles et différentes pour chaque échantillon et contrôles.
- Suivre le nombre de cycle de lavage et assurez vous que tous les puits soient bien remplis et puis complètement vidés.
- Ne pas laisser la microplaque sécher entre la fin du cycle de lavage et l'ajout des réactifs.
- Ne pas mettre la solution de conjugué et la solution de chromogène TMB dans le même récipient.
- Ne pas mettre la solution de conjugué ou chromogène TMB en contact avec des ions métalliques et éviter l'exposition à une lumière forte.
- La solution Stop contient de l'acide, éviter le contact avec les yeux et la peau.
- Utiliser des équipements de protection lors de l'utilisation du kit et de la manipulation des échantillons, ils pourraient contenir des agents infectieux ou des composants d'origine animale ou humaine.
- Tous les matériaux utilisés pour ce test sont généralement considérés comme des déchets dangereux. Se reporter aux lois et règlements nationaux et régionaux pour l'élimination des déchets dangereux

- Garder tout le matériel de test (Tubes, pointes de pipette, récipients...) propre et stérile pour réduire les contaminations avec des spores d'*Aspergillus* présents dans l'environnement.
- La solution chromogène TMB doit être incolore. La présence d'une couleur bleue indique une contamination et la solution ne doit pas être utilisée.
- Tout incident grave survenu en rapport avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

RÉFÉRENCES

- D'Haese et al. Detection of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid samples of patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis: analytical and clinical validity. *Journal of clinical microbiology*, 50,4 (2012)
- Pfeiffer et al. Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using a Galactomannan Assay: A Meta-Analysis, *Clinical Infectious Diseases*, 42(10) (2006)
- Sehgal et al. Utility of Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid Galactomannan in Diagnosis of Chronic Pulmonary Aspergillosis. *Journal of clinical microbiology*, 57,3 (2019)
- Ullmann et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline, *Clin Microbiol Infect.* 24 (2018)
- Mercier et al. Point of care aspergillus testing in intensive care patients. *Crit Care* 24, 642 (2020)
- Jenks et al, Invasive aspergillosis in critically ill patients: Review of definitions and diagnostic approaches, *Mycoses*. 64(9):1002-1014 (2021)
- Fekkar et al., Occurrence of Invasive Pulmonary Fungal Infections in Patients with Severe COVID-19 Admitted to the ICU, *Am J Respir Crit Care Med.* 203(3):307-317 (2021)
- Ducrest et al. (2022), Performance evaluation of the new FungaDia ELISA kit for the detection of *Aspergillus* Galactomannan, SFMM, Rouen, France

SYMBOLS

	Fabricant		Date d'expiration
	Ne pas réutiliser	LOT	Numéro de lot
EC REP	Représentant autorisé en Europe	CONTROL±	Contrôle seuil (cut-off)
CONTROL-	Contrôle négatif	CONTROL+	Contrôle positif
	Consultez le mode d'emploi	IVD	Dispositif médical pour diagnostic <i>in vitro</i>
	Limite de température	REF	Numéro de référence
	Suffisant pour <n> tests	CE	Marquage CE
	Pas pour "near-patient testing" (IVDR)		Pas pour "self-testing" (IVDR)

GaDia SA
Route de l'île-au-Bois 1A
1870 Monthey (Switzerland)
www.gadia.net
info@gadia.net

SWISS QUALITY

CE
IVD

EC REP ER Egészségügyi, Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.
Budafoki út 57/b
1111 Budapest (Hungary)
ujszaszi.istvan@erkit.hu