

Προσδιορισμός για (1→3)-β-D-γλυκάνη στον ορό

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ FUNGITELL®

Οδηγία χρήσης

124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 H.H.A.

Κonly

IVD

Σ

42

Αρ. τηλεφώνου:	(508) 540-3444	
Γραμμή χωρίς χρέωση:	(888) 395-2221	
Φαξ:	(508) 540-8680	
Τεχνική υποστήριξη:	(800) 848-3248	
Τμήμα εξυπηρέτησης πελατών:	(800) 525-8378	

PN001268-ell Avα9.12
REF FT001
2023-06-13

📄 Επισκεφθείτε τον ιστότοπο www.aacciusa.com, για οδηγίες χρήσης στη γλώσσα σας. Το παρόν προϊόν προορίζεται για *In Vitro Διαγνωστική και Επαγγελματική Χρήση* μόνο.

1. Χρήση για την οποία προορίζεται

Ο προσδιορισμός **Fungitell®** είναι ένας χρωματομετρικός προσδιορισμός που βασίζεται σε ζυμώσιμο πρωτεϊνάσι, για την ποιοτική ανίχνευση της (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό ασθενών με συμπτώματα διηθητικής μυκητιασικής λοίμωξης ή ιατρικές παθήσεις που προδιαθέτουν σε αυτήν. Η συγκέντρωση της (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό, ενός σημαντικό συστατικού του κυτταρικού τοιχώματος διαφόρων, ιατρικά σημαντικών μυκητών¹, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα στη διάγνωση εν το βάθει μυκητιάσεων και μυκητιαμών². Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει το γένος του μυκητόν που μπορεί να προκαλούν τη λοίμωξη.

Οι τίτλοι της (1→3)-β-D-γλυκάνης θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές διαδικασίες, όπως μικροβιακή καλλιέργεια, ιστολογική εξέταση δειγμάτων βιοψίας και ακτινολογική εξέταση.

Σημαντικό
<p>Λάοετε αυτές τις πληροφορίες στον γιατρό που ζήτησε την εξέταση: <i>Ορισμένοι μύκητες, όπως το γένος Cryptococcus, οι οποίοι παράγουν πολύ χαμηλά επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης, μπορεί να μην προκαλέσουν αρκετά αυξημένη (1→3)-β-D-γλυκάνη στον ορό, ώστε να μπορεί να ανιχνευθεί από τον προσδιορισμό^{3,4}. Οι λοίμωξεις από μύκητες της συνομοταξίας Mucorales, όπως οι Aspida, Mucor και Rhizopus¹ ή οι οποίοι δεν είναι γνωστό ότι παράγουν (1→3)-β-D-γλυκάνη, έχει επίσης παρατηρηθεί ότι προκαλούν χαμηλούς τίτλους (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό. Επιπλέον, η φάση ζυμωοκίτα του Blasitomyces dermatitidis παράγει μικρή ποσότητα (1→3)-β-D-γλυκάνης και μπορεί να μην ανιχνευθεί με τον προσδιορισμό⁵.</i></p>
<p>Συμπεριλάβετε αυτήν τη δήλωση κατά την αναφορά των αποτελεσμάτων της εξέτασης με τον προσδιορισμό Fungitell®.</p>

2. Περίληψη και επεξήγηση

Υπάρχει αυξημένη επίπτωση μυκητιασικών λοιμώξεων που οφείλονται σε ευκαιριακά παθόγανα, ιδιαίτερα σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς^{6,7,8}. Οι διηθητικές μυκητιασικές νόσοι, όπως οι ευκαιριακές λοιμώξεις, είναι συχνές σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και AIDS και αποτελούν αυξανόμενο αριθμό των νοσοκομειακών λοιμώξεων, ειδικά μεταξύ ασθενών που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση οργάνων και άλλων ασθενών που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτικές θεραπείες^{9,10}. Πολλές μυκητιασικές νόσοι αποκτώνται από την εισήπιτη σπορίων μυκητών που προέρχονται από το χώμα, υπολείματα φυτών, συστήματα διαχείρισης του αέρα ή/και εκτεθειμένες επιφάνειες. Ορισμένοι ευκαιριακοί μύκητες υπάρχουν στο ανθρώπινο δέρμα, στη γαστρεντερική οδό και στους βλεννογόνους^{11,2}. Η διάγνωση των διηθητικών μυκητιάσεων και των μυκητιαμών βασίζεται συνήθως σε μη ειδικές διαγνωστικές ή ακτινολογικές τεχνικές. Πρόσφατα, έχουν προστεθεί βιολογικοί δείκτες μυκητιασικής λοίμωξης στις διαθέσιμες διαγνωστικές μεθόδους².

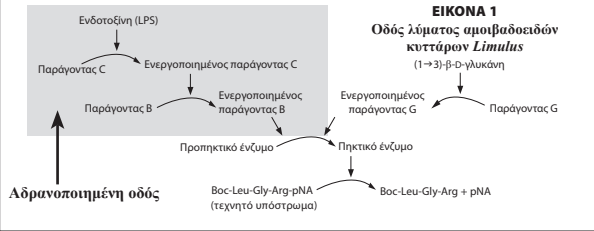
Στα ευκαιριακά μυκητιασικά παθόγανα *Saccharomyces* και *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporium spp.*, *Synchytrium cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* και *Pneumocystis jirovecii*. Η (1→3)-β-D-γλυκάνη που παράγεται από αυτούς και άλλους μικροοργανισμούς μπορεί να ανιχνευθεί με τον προσδιορισμό Fungitell®^{8,13,14}.

3. Αρχή της διαδικασίας

Ο προσδιορισμός Fungitell® μετρά την (1→3)-β-D-γλυκάνη. Ο προσδιορισμός βασίζεται σε μια τροποποίηση της οδού για το λύμα αμοιβαιοδοσίων κυττάρων *Limulus* (Limulus Amebocyte Lysate, LAL)^{15,16,17,18}. Εικόνα 1. Το αντιδραστήριο Fungitell® έχει τροποποιηθεί ώστε να εξυλιφθεί η αντιδραστικότητα της βακτηριακής ενδοτοξίνης και, συνεπώς, να αντιδρά μόνο στην (1→3)-β-D-γλυκάνη, μέσω του τμήματος της οδού που διαμεσολαβείται από τον παράγοντα G. Η (1→3)-β-D-γλυκάνη ενεργοποιεί τον παράγοντα G, ένα ζυμώσιμο σαρωνοπρωτεϊνάσι. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας G μετατρέπει το αδρανές προσηπτικό ένζυμο στο ενεργό ηπκτικό ένζυμο, το οποίο με τη σειρά του διασπά το παρα-νιτροανιλίδιο (para-nitroanillide, pNA) από το χρωμογονικό πεπτικό υπόστρωμα, Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, δημιουργώντας ένα χρωμοφόρο, το παρα-νιτροανιλίδιο, που προκαλεί απορρόφηση στα 405 nm. Ο κινητικός προσδιορισμός Fungitell®¹, που περιγράφεται παρακάτω, βασίζεται στον προσδιορισμό του ρυθμού της αύξησης της οπτικής πυκνότητας που παράγεται από ένα δείγμα. Αυτός ο ρυθμός ερμηνεύεται έναντι μιας τυπικής καμπύλης ώστε να δημιουργηθούν εκτιμήσεις της συγκέντρωσης της (1→3)-β-D-γλυκάνης στο δείγμα.

4. Υλικά που παρέχονται με το kit Fungitell®

Το kit Fungitell® προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση. Τα παρακάτω υλικά που παρέχονται με κάθε kit επαρκούν για την προσδιορισμό 110 βιοθρίων σε δύο πλάκες μικροττλοποίησης (55 βιοθρία σε καθεμία):



- Αντιδραστήριο Fungitell®, λυοφιλοποιημένη, ειδική για (1→3)-β-D-γλυκάνη LAL (δύο φιαλίδια). *Η σύνθεση του αντιδραστήριου Fungitell® περιλαμβάνει λύμα αμοιβαιοσίων κυττάρων Limulus (δηλαδή, καθούρι) και χρωματομετρικό υπόστρωμα Boc-Leu-Gly-Arg-pNA. Δεν περιέχει πρωτεΐνες από ανθρώπους ή θηλασικά.*
- Ρυθμιτικό διάλυμα ανασύστασης Pyrosol® (δύο φιαλίδια). Είναι δυνατή η ξεχωριστή αγορά πρόσθετων φιαλιδίων ρυθμιτικού διαλύματος ανασύστασης Pyrosol (αριθμικό κατάλογο BC051). *Αποτελείται από ρυθμιτικό διάλυμα Tris 0,2 M.*
- Πρότυπο διάλυμα γλυκάνης, λυοφιλοποιημένη (1→3)-β-D-γλυκάνη από Pachyman (δύο φιαλίδια). *Ο όγκος του νερού αντιδραστήριου που πρέπει να προστεθεί υποδεικνύεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Βαθμονομείται έναντι ενός εσωτερικού πρότυπου αναφοράς.*
- Νερό αντιδραστήριου LAL (LRW) (δύο φιάλες).
- Σημείωση:** 20 ml υπερκίθωρο νερού (RGW) και LRW σε γυάλινα φιαλίδια είναι ισοδύναμα.
- Αλκαλικό διάλυμα προεπεξεργασίας (δύο φιαλίδια) που περιέχει 0,125 M KOH και 0,6 M KCl

Όλα τα παραπάνω, με εξαίρεση το πρότυπο διάλυμα, είναι ελεύθερα από επίπεδα παρεμβολής της (1→3)-β-D-γλυκάνης.

5. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Όλα τα υλικά πρέπει να είναι απαλλαγμένα από παρεμβλλόμενη γλυκάνη.

- Ρύγχη πιπέτων* (250 mL – αρ. κατ. PPT25, 1000 mL – αρ. κατ. PPT10)
- Πιπέτες κατάλληλες για χορήγηση όγκων 5-25 mL και 100-1000 µL
- Εποκλιπτική πιπέτα με ρύγχη σύρτηγας, ικανή για χορήγηση 100 µL
- Δοκιμαστικοί σωλήνες* για την παρασκευή της σειράς των προτύπων διαλυμάτων (καμπύλη βαθμονόμησης) και τον συνδυασμό αντιδραστήριων επεξεργασίας ορού. (12 x 75 mm – αρ. κατ. TB240 ή 13 x 100 mm - αρ. κατ. TB013)
- Επιστακτή (37 °C) συσκευη ανάνησης πλάκας, ικανή για ανάνηση στα 405 nm (κατά πρότιψη ικανή για παρακολούθηση σε διπλό μήκος κύματος, στα 405 και τα 490 nm), με δυναμικό εύρος τουλάχιστον 2,0 μονάδες απορρόφησης, η οποία συνδέεται με το κατάλληλο λογισμικό ποσοδοποίησης κινητικής που βασίζεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή.
- Αποστειρωμένα σωληνάρια, απαλλαγμένα από γλυκάνη για κλασματοποίηση των δειγμάτων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα σωληνάρια που έχουν πιστοποίηση ότι είναι απαλλαγμένα από RNA, DNA και πυρετογόνα.
- Parafilm®
- Μικροπλάκες 96 βιοθρίων* **Σημείωση:** Οι απαιτήσεις του προσδιορισμού Fungitell® έχουν επικυρωθεί με πλάκες που έχουν τα παρακάτω χαρακτηριστικά: Πολυστερόνιο, αουτερομένες, μη επικαλυμμένες, με επίπεδο πυθμένα, χωρίς παρεμβολή από βήτα γλυκάνη, σύμφωνα με τις προδιαγραφές της ACC και συσκευασμένες σε ατομικές συσκευασίες.

* Αντά τα προϊόντα, τα οποία παρέχονται από την εταιρεία Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), έχουν πιστοποιηθεί ότι είναι απαλλαγμένα από παρεμβλλόμενες γλυκάνες.

6. Φύλλαξι αντιδραστήριον

- Φυλάσσετε όλα τα αντιδραστήρια, όπως παρέχονται, σε θερμοκρασία 2-8 °C, στο σκοτάδι.
- Το ανασυσταθέν αντιδραστήριο Fungitell® θα πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2-8 °C και να χρησιμοποιείται εντός 2 ωρών. Εναλλακτικά, το ανασυσταθέν αντιδραστήριο Fungitell® μπορεί να καταψυχθεί σε θερμοκρασία -20 °C για έως και 20 ημέρες, να αποψυχθεί μία φορά και να χρησιμοποιηθεί.

7. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- Μην αναρροφάτε με το στόμα κανένα υλικό. Μην καπνίζετε, μην τρώτε, μην πίνετε σε περιοχές όπου γίνεται η χειρισμός παρασκευασμάτων ή αντιδραστήριον του kit.
- Τηρείτε τους κανονισμούς λαινιτικής ασφάλειας και τους τοπικούς κανονισμούς ασφαλείας.
- Φοράτε προστατευτικά γάντια κατά τον χειρισμό βιολογικών δειγμάτων που μπορεί να είναι μολυσματικά ή επικινδύνα. Τα χέρια που προστατεύονται από γάντια θα πρέπει να θεωρούνται μολυσμένα ανά πάσα στιγμή. Διατηρείτε τα χέρια που προστατεύονται από γάντια μακριά από τα μάτια, το στόμα και τη μύτη σας. Φορέστε προστατευτικό ματιών και χειρουργική μάσκα, αν υπάρχει πιθανότητα μόλυνσης από αερολύματα.
- Σημείωση:** Μη χρησιμοποιείτε kit με περιεχόμενα που έχουν υποστεί ζημία.
- Διάθεση: Υπολείματα γηικών και σκευασμάτων που γενικά θεωρούνται επικίνδυνα απόβλητα. Η διάθεση αυτού του τύπου αποβλήτων ρυθμίζεται από εθνικούς και περιφερειακούς νόμους και κανονισμούς. Επισκευνηίστε με τις τοπικές αρχές ή τις εταιρείες διαχείρισης αποβλήτων για συμβουλές σχετικά με τη διάθεση επικινδύνων αποβλήτων.
- Μπορείτε να λάβετε τα φύλλα δεδομένων ασφαλείας για όλα τα συστατικά μέρη του kit Fungitell®** από τον ιστότοπο της ACC: www.aacciusa.com.

7.1 Διαδικαστικές προφυλάξεις

- Ο προσδιορισμός Fungitell® απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή στην τεχνική και το περιβάλλον εξέτασης. Η ενδεδειγμένη εκπαίδευση του τεχνικού στο μέθοδο προσδιορισμού και στην αποφυγή της μόλυνσης είναι ζωτικής σημασίας για την αποτελεσματικότητα του προσδιορισμού.
- Χρησιμοποιείτε ορθές εργαστηριακές πρακτικές σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς. Αυτός ο προσδιορισμός είναι ευαίσθητος στη μόλυνση και στην ανακρίβεια αναρρόφησης με πιπέτα.
- Ανηκουργήστε ένα καθαρό περιβάλλον στο οποίο θα πραγματοποιήσετε τον προσδιορισμό.
- Σημειώστε ότι η γλυκάνη, καθώς επίσης και η μόλυνση από σωματίδια μύκητα προερχόμενα από το ανθρώπινο σώμα, τα ρούχα, τους περιεκτες, το νερό και την αερομεταφερόμενη σκόνη μπορεί να προκαλέσουν παρεμβολή στην εξέταση Fungitell®.

- Πιθανές πηγές μόλυνσης: υλικά που περιέχουν κυτταρίνη όπως *γάλα*, χαρτομάντιλα και χαρτόνι, γυάλινες πιπέτες με επιτόμιο από βυθιάκια και ρύγχη πιπέτων με φίλτρα κυτταρίνης. Τα μέσα δειγματού *γάλας* και οι σπόγγοι χειρουργικής χρήσης μπορούν και αυτά να εκκρίνουν υψηλές ποσότητες (1→3)-β-D-γλυκάνης¹². Για άλλες πηγές μόλυνσης που σχετίζονται με τους ασθενείς, δείτε την ενότητα «Περιορισμοί» της εξέτασης.
- Μη χρησιμοποιείτε υλικά των οποίον έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης.

7.2 Χειρισμός παρασκευασμάτων

- Η συλλογή αίματος και προετοιμασία ορού θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς κανονισμούς. Συλλογή παρασκευασμάτων: Τα δείγματα αίματος μπορεί να συλλέγονται σε αποστειρωμένα σωληνάρια προετοιμασίας ορού ή σωληνάρια διαχωρισμού ορού (serum separator tubes, SST) για την προετοιμασία του ορού.
- Φύλαξη παρασκευασμάτων: Τα δείγματα ορού μπορούν να φυλάσσονται στους 2-8 °C για έως 15 ημέρες ή κατεψυγμένα στους -20 °C για έως 27 ημέρες ή -80 °C για έως 4 έτη.
- Επισημάνση παρασκευασμάτων: Τα δείγματα θα πρέπει να εσημειώνονται ευκρινώς, σύμφωνα με τις εγκεκριμένες πρακτικές του ιδρύματος.

8. Λαδικασία

8.1 Ρόθμηση οργάνου και προγραμματισμός εξέτασης

Οι ρυθμίσεις μπορεί να διαφέρουν σε διαφορετικά όργανα και διαφορετικό λογισμικό. Γενικά, θα ισχύουν τα εξής: Ρυθμίστε το λογισμικό της συσκευής ανάρνησης πλάκων για τη συλλογή δεδομένων στον τρόπο λειτουργίας vmean. Ελέγξτε το εγχειρίδιο του λογισμικού για τις σωστές ρυθμίσεις, για να διασφαλίσετε ότι η τιμή που υπολογίζεται είναι ο μέσος ρυθμός μεταβολής της οπτικής πυκνότητας, για όλα τα σημεία δεδομένων που συλλέγονται. Ρυθμίστε το διάστημα ανάνησης του ανιχνευτή στο ελάχιστο που επιτρέπει από το λογισμικό το όργανο, στο χρονικό διάστημα των 40 λεπτών της εξέτασης. Οι ρυθμίσεις μήκους κύματος του λογισμικού θα πρέπει να είναι 405 nm μείον το υπόβαθρο στα 490 nm. Συνιστάται η χρήση και τον δύο μηκών κύματος αλλά εάν η μέτρηση των δύο μηκών κύματος δεν είναι διαθέσιμη, διαβάστε την εξέταση στα 405 nm και εξετάστε όλες τις καμπύλες κινητικής του δειγμάτων των ασθενών για ενδειξίες παρεμβολής (βλ. Ενότητα 9.0 για περισσότερες λεπτομέρειες). Η θερμοκρασία επίοσης πρέπει να ρυθμιστεί στους 37 °C. Ρυθμίστε την πραγματοποίηση της ανιμύησης της ανακίνησης πλάκων 5 – 10 δευτερόλεπτα πριν από την έναρξη της ανάνησης. Επαλέξτε τη ρύθμιση προσαρμογής της καμπύλης σε «ρηγματική/ρηγματική» ή ισοδύναμη ρύθμιση. Η ανιμύηση θα πρέπει να ξεκινάει χωρίς οποιονδήποτε χρόνο καθυστέρησης.

8.2 Παρασκευή του πρότυπου διαλύματος γλυκάνης που παρέχεται στο kit.

- Διαλύστε το περιεχόμενο ενός φιαλιδίου πρότυπου διαλύματος γλυκάνης με τον όγκο LRW που αναφέρεται στο φιαλίδιο, για να δημιουργήσετε ένα διάλυμα 100 pg/ml. Ανακινήστε σε ανασυτήρα τύπου vortex για τουλάχιστον 30 δευτερόλεπτα, σε μεσαία έως μεσαία-υψηλή ταχύτητα, για την ανασύσταση του προτύπου διαλύματος (διάλυμα 1). Το διάλυμα γλυκάνης θα πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2-8 °C και να χρησιμοποιείται εντός τριών ημερών. Τα βήματα β - ε που παρατίθενται παρακάτω αποτελούν παράδειγμα ενός σχήματος προετοιμασίας μιας πρότυπης καμπύλης.
- Παρασκευάστε ένα πρότυπο διάλυμα 50 pg/ml (διάλυμα 2) αναμειγνύοντας 500 µL LRW και 500 µL διαλύματος 1 σε σωληνάριο χωρίς γλυκάνη (διάλυμα 2).
- Ανακινήστε σε ανασυτήρα τύπου vortex για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.
- Παρασκευάστε ένα πρότυπο διάλυμα 25 pg/ml (διάλυμα 3) αναμειγνύοντας 500 µL LRW και 500 µL διαλύματος 2 σε σωληνάριο χωρίς γλυκάνη (διάλυμα 3).
- Ανακινήστε σε ανασυτήρα τύπου vortex για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.
- Παρασκευάστε ένα πρότυπο διάλυμα 12,5 pg/ml (διάλυμα 4) αναμειγνύοντας 500 µL LRW και 500 µL διαλύματος 3 σε σωληνάριο χωρίς γλυκάνη (διάλυμα 4).
- Ανακινήστε σε ανασυτήρα τύπου vortex για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.
- Παρασκευάστε ένα πρότυπο διάλυμα 6,25 pg/ml (διάλυμα 5) αναμειγνύοντας 500 µL LRW και 500 µL διαλύματος 4 σε σωληνάριο χωρίς γλυκάνη (διάλυμα 5).
- Ανακινήστε σε ανασυτήρα τύπου vortex για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.

8.3 Ανοίξεις το αλκαλικό διάλυμα προεπεξεργασίας.

Το αλκαλικό διάλυμα προεπεξεργασίας μετατρέπει τις γλυκάνες τριπλής έλικας σε μονόκλωνες γλυκάνες¹⁹ οι οποίες είναι πιο αντιδραστικές στον προσδιορισμό. Επιπλέον, το αλκαλικό pH συμβάλει στην αδρνοποίηση των πρωτεασών και των αναστολέων του ορού που μπορούν να προκαλέσουν παρεμβολή στον προσδιορισμό.²⁴

Απορρίψτε το φιαλίδιο (σύμφωνα με τις εργαστηριακές διαδικασίες), εκτός εάν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί σε επακόλουθη εξέταση, οπότε κλύαίνε το με διαφανή μεμβράνη (Parafilm), χρησιμοποιώντας την πλευρά του Parafilm που είναι στραμμένη προς τη χάρτινη επένδυση.

8.4 Ρύθμηση πλάκων μικροτιλοποίησης

Ρυθμίστε τη διάταξη πλάκων μικροτιλοποίησης στο λογισμικό, με τα πρότυπα διάλυματα (Std), τους αρνητικούς μάρτυρες (Arn.) και τα 21 δείγματα (Spl). Συνιστάται η παρακάτω διάταξη:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		STD1 500	STD1 500		SPL1	SPL4	SPL7	SPL10	SPL13	SPL16	SPL19	
C		STD2 250	STD2 250		SPL1	SPL4	SPL7	SPL10	SPL13	SPL16	SPL19	
D		STD3 125	STD3 125		SPL2	SPL5	SPL8	SPL11	SPL14	SPL17	SPL20	
E		STD4 62,5	STD4 62,5		SPL2	SPL5	SPL8	SPL11	SPL14	SPL17	SPL20	
F		STD5 31,25	STD5 31,25		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
G		Αρν.	Αρν.		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
H												

Καταχωρίστε τις συγκεντρώσεις του πρότυπου διαλύματος στις ρυθμίσεις του λογισμικού ως 500, 250, 125, 62,5 και 31 pg/ml, αντίστοιχα.

Σημειώστε ότι οι συγκεντρώσεις του πρότυπου διαλύματος που καταχωρίστηκαν είναι πέντε φορές μεγαλύτερες από αυτές που παρασκευάστηκαν στην ενότητα 8.2 παραπάνω. Αυτό γίνεται επειδή ο όγκος του πρότυπου διαλύματος που χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό είναι 25 µL ανά βιοθρίο, που είναι πέντε φορές υψηλότερος από τον όγκο του δειγματος που χρησιμοποιήθηκε (δείτε την ενότητα 8.5β παρακάτω). Συνεπώς, το δείγμα ορού αραιώνεται ουσιαστικά πέντε φορές σε σχέση με το πρότυο διάλυμα. Ο πολλαπλασιασμός των συγκεντρώσεων του πρότυπου διαλύματος επί πέντε αντιστοιχίζει αυτήν την αρραίωση.

Σημείωση: Τα εξωτερικά βιοθρία μπορούν να χρησιμοποιηθούν, εάν έχει καταδειχθεί ότι η απόδοση των εξωτερικών βιοθρίων είναι συγκρίσιμη με αυτή των εσωτερικών βιοθρίων.

Σημείωση: Οι αρνητικοί μάρτυρες δεν χρησιμοποιούνται στην πρότυπη καμπύλη.

8.5 Προσθήκη ορού και αλκαλικού διαλύματος προεπεξεργασίας.

α. Απονήστε τα κατεψυγμένα δείγματα ορού σε θερμοκρασία δωματίου. Ανακινήστε καλά όλα τα δείγματα σε ανασυτήρα τύπου vortex – για τουλάχιστον 30 δευτερόλεπτα, σε ρύθμιση μεσαίας ή μεσαία-υψηλής ταχύτητας.

β. Μεταφέρετε 5 µL του δειγματος ορού σε καθαία από τα καθορισμένα βιοθρία (Uk), τουλάχιστον εις διπλούν. Επαναλάβετε για κάθε δείγμα ορού.

γ. Προσθέτετε 20 µL αλκαλικού διαλύματος προεπεξεργασίας σε κάθε βιοθρίο που περιέχει ορό. Φροντίστε οι σταγόνες ορού και προεπεξεργασίας να έρθουν σε επαφή μεταξύ τους. Σημείωση: Τα βήματα β και γ μπορούν να διεξαχθούν με την αντίστοιχη σειρά, ανάλογα με την προτίμηση του τεχνικού.

Σημείωση: Για την αποτροπή τυχόν ακούσιων επιμόλυνσης, επανοποθετήστε το κάλυμμα στην μικροπλάκα μετά την προσθήκη δειγμάτων και αντιδραστήριου στα βιοθρία.

δ. Αναδεύστε την πλάκα για 5 – 10 δευτερόλεπτα για να αναμειχθεί καλά τα περιεχόμενα των βιοθρίων (μπορεί να χρησιμοποιηθεί η λειτουργία ανάδευσης πλάκων της συσκευής ανάνησης), κατόπιν επώαστε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 37 °C, στην επιστακτή συσκευη ανάρνησης πλάκων.

8.6 Ανασύσταση του αντιδραστήριου Fungitell®.

Σημείωση: Αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα ενόσω βρίσκεται σε εξέλξη ή επώαση προεπεξεργασίας. Η συνένταση του χρόνου ανασύστασης θα ενισχύσει την αναπαραγωγικότητα, καθώς η αντίδραση Fungitell® ξεκινά κατά την ανασύσταση, παρότι και σε χαμηλό επίπεδο.

Ανασυστήστε ένα φιαλίδιο Fungitell® προσθέτοντας 2,8 ml LRW και κατόπιν προσθέτοντας 2,8 ml ρυθμιτικό διάλυματος ανασύστασης Pyrosol, χρησιμοποιώντας την πιπέτα των 1000 µL. Καλύψτε το φιαλίδιο με Parafilm, χρησιμοποιώντας την πλευρά του Parafilm που είναι στραμμένη προς το χάρτινο κάλυμμα. Αναδεύστε το φιαλίδιο με ήπιες κινήσεις για να διαλυθούν πλήρως το περιεχόμενα – μην το ανακινείτε.

8.7 Προσθήκη αρνητικών μαρτύρων και πρότυπων διαλυμάτων γλυκάνης.

Στο τέλος της επίοσης προεπεξεργασίας ορού (Ενότητα 8.5β), αφαιρέστε την πλάκα από την επιστακτή συσκευη ανιμύησης πλάκων και προσθέστε τα πρότυπα διαλύματα και τους αρνητικούς μάρτυρες στην πλάκα. Συνιστώμενο μοτίβο συγκέντρωσης πρότυπου διαλύματος:

- Προσθέστε 25 µL LRW στα βιοθρία G2 και G3.
 - Προσθέστε 25 µL του πρότυπου διαλύματος 6,25 pg/ml 5 στα βιοθρία F2 και F3, που επιστημαίνονται ως 31,25 pg/ml.
 - Προσθέστε 25 µL του πρότυπου διαλύματος 12,5 pg/ml 4 στα βιοθρία E2 και E3, που επιστημαίνονται ως 62,5 pg/ml.
 - Προσθέστε 25 µL του πρότυπου διαλύματος 25 pg/ml 3 στα βιοθρία D2 και D3, που επιστημαίνονται ως 125 pg/ml.
 - Προσθέστε 25 µL του πρότυπου διαλύματος 50 pg/ml 2 στα βιοθρία C2 και C3, που επιστημαίνονται ως 250 pg/ml.
- στ. Προσθέστε 25 µL του πρότυπου διαλύματος 100 pg/ml 1 στα βιοθρία B2 και B3, που επιστημαίνονται ως 500 pg/ml.

8.8 Fungitell® και επώασης πλάκων Διαδικασία προεθνης αντιδραστήριου.

α. Προσθέτε 100 µL αντιδραστήριου Fungitell® σε κάθε βιοθρίο (που περιέχει αρνητικούς μάρτυρες, πρότυπα διαλύματα και δείγματα), χρησιμοποιώντας βημιατική (επανακλιπτική) πιπέτα.

β. Εισαγάγετε την πλάκα στη συσκευη ανάνησης μικροπλάκων (εξισοποιημένη σε θερμοκρασία 37 °C), αφαιρέστε το καπάκι και ανακινήστε για 5 – 10 δευτερόλεπτα.

Διαβάστε την πλάκα **χωρίς το καπάκι** στα 405 nm μείον 490 nm, για 40 λεπτά σε θερμοκρασία 37 °C. Σημείωση: Εάν το όργανο δεν αφιρέν χρόνο για την αφαίρεση του καπακιού μεταξύ της ανακίνησης και της ανάρνησης, ανακινήστε χωρίς να είναι τοποθετημένο το καπάκι, για να βεβαιωθείτε ότι η ανάρνηση θα γίνει χωρίς να είναι τοποθετημένο το καπάκι.

9. Υπολογίστε τα αποτελέσματα.

Συλλέξτε τα δεδομένα και αναλύστε τα ως εξής: Εξετάστε τα γραφήματα της κινητικής των υπό εξέταση δειγμάτων και ελέγξτε για μοτίβα εκτός της ομαλής αύξησης που αντιστοιεί σε αυτά τα πρότυπα διαλύματα. Ακρωρίστε τα γραφήματα που υποδεικνύουν οπτική παρεμβολή (π.χ. τα μοτίβα κινητικής δεν ακολουθούν αυτά των προτύπων διαλυμάτων). Υπολογίστε τον μέσο ρυθμό μεταβολής της οπτικής πυκνότητας (μονάδες γλιιστοαπορρόφησης ανά λεπτό) για όλα τα σημεία μεταξύ των 0 και 40 λεπτών (πραγματοποιείται από το λογισμικό). Υπολογίστε τις συγκεντρώσεις της (1→3)-β-D-γλυκάνης των δειγμάτων με παρεμβολή από την πρότυπη καμπύλη (πραγματοποιείται από το λογισμικό).

10. Έλεγχοι ποιότητας

- Ο συντελεστής συσχέτισης (r) της πρότυπης καμπύλης (γραμμική έναντι γραμμικής) θα πρέπει να είναι ≥ 0,980.
- Τα βιοθρία με 25 µL LRW είναι οι αρνητικοί μάρτυρες. Οι αρνητικοί μάρτυρες θα πρέπει να έχουν τιμές αποτελεσμάτων ρυθμού (π.χ. μονάδες γλιιστοαπορρόφησης ανά λεπτό) χαμηλότερες από το 50% των ποσοτών των χαμηλότερων προτύπων διαλύματος. Σε αντίθετη περίπτωση, θα πρέπει να επαναλαμβάνεται ο προσδιορισμός με τη χρήση εξ ολοκλήρου νέων αντιδραστήριων.

- Χειρισμός σύνθετων δειγμάτων. Εάν ο αναλυτής παρατηρήσει ασυνήθιστη κηλίδα σε μια εξέταση ενός δείγματος, π.χ. δείγμα που είναι βαμμένο, δεν έχει φυσιολογικό χρώμα ή είναι θολωρό (όπως αυτά που παρουσιάζουν έντονη αμύληση, λατιμια ή περιέχουν υπερβολική ποσότητα χολερυθρίνης), το δείγμα πρέπει να αραιώνεται με LRW και να επανεξετάζεται. Η αραιώση πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την αναφορά των αποτελεσμάτων, πολλαπλασιάζοντας τα αποτελέσμα επί τον συντελεστή αραιώσης.

Τυπικά, ο συντελεστής αραιώσης καταγράφεται στη ρύθμιση του λογισμικού για το δείγμα και εμφανίζεται αυτόματα η διόρθωση.

Σημείωση:

- Κάθε χρήστης της εξέτασης θα πρέπει να καθιερώνει ένα πρόγραμμα ελέγχου ποιότητας για να διασφαλιστεί η εαρκεία στην πραγματοποίηση της εξέτασης σύμφωνα με τους κανονισμούς που ισχύουν στην τοποθεσία τους.
- Συνιστάται να εξεταστούν τα δείγματα ελέγχου ορό (αρνητικά, πλησίον της οριακής τιμή ή έντονα θετικά) στο πλαίσιο περαιτέρω εργαστηριακών ελέγχων και ορθής εργαστηριακής πρακτικής. Αυτά δεν περιλαμβάνονται στο kit του Fungitell®.

11. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Τιμές (1→3)-β-D-γλυκάνης <60 pg/ml ερμηνεύονται ως αρνητικά αποτελέσματα.

Το εργαστήριο που πραγματοποιεί την εξέταση θα πρέπει να ενημερώσει τον ιατρό που τη ζητήσει ότι δεν προκύλιν αυξημένα επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό *όλες* οι μικητιασικές λοιμώξεις. Οριομενίο μίκτης, όπως το γένος *Cyrtogoccus*¹⁴, παράγουν πολύ χαμηλά επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης. Οι μίκτης Mucorales, όπως οι *Absidia*, *Mucor* και *Rhizopus*¹⁴ δεν είναι γνωστό ότι παράγουν (1→3)-β-D-γλυκάνη. Παρομοίως, ο *Blastomyces dermatitidis*, στη φάση του ζυμομυκήτια, παράγει μικρή ποσότητα (1→3)-β-D-γλυκάνης και οι ασθενείς με βλαστομυκητίαση έχουν συνήθως μη ανιχνεύσιμα επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης στον προσδιορισμό Fungitell®.

ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Τιμές από 60 έως 79 pg/ml θεωρούνται αμφίβολα. Συνιστάται η πρόσθετη δειγματοληψία και η εξέταση των ορών. Η συχνή δειγματοληψία και η εξέταση βελτιώνει τη χρησιμότητα της διάγνωσης.

ΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Τιμές της (1→3)-β-D-γλυκάνης που είναι ≥ 80 pg/ml ερμηνεύονται ως θετικό αποτέλεσμα. Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν καθορίζει την παρουσία νόσου και θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με *άλλα* κλινικά ευρήματα για την τεκμηρίωση της διάγνωσης.

12. Περιορισμοί της εξέτασης

- Οι θέσεις των ιστών στις οποίες αναπτύσσεται η μικητιασική λοίμωξη¹⁰, η εκκώσωση και η ποσότητα της (1→3)-β-D-γλυκάνης που παράγει από ορισμένους μίκτης μπορεί να επηρεάσουν τη συγκέντρωση αυτής της αναλύσιμης ουσίας στον ορό. Η μειωμένη δυνατότητα απόδοσης της (1→3)-β-D-γλυκάνης στην κυκλοφορία του αίματος μπορεί να μειώσει τη δυνατότητα ανίχνευσης ορισμένων μικητιασικών λοιμώξεων.
- Ορισμένα άτομα έχουν αυξημένα επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης, τα οποία εμπίπτουν στην προσδιορίστη ζώνη. Σε αυτές τις περιπτώσεις, συνιστώνται πρόσθετες εξετάσεις επιτηρήσης.
- Η συχνότητα της εξέτασης των ασθενών θα εξαρτηθεί από τον σχετικό κίνδυνο μικητιασικής λοίμωξης. Συνιστώνται ρυθμίο δειγματοληψίας τουλάχιστον δύο ή τρεις φορές την εβδομάδα για ασθενείς που διατρέχουν κίνδυνο.
- Έχουν βρεθεί θετικά αποτελέσματα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αμοιβάωση^{19,20,38} άτομα που λαμβάνουν ορισμένα προϊόντα κλασμάτων αίματος, όπως αλβουμίνη και ανοσοσφαιρίνες ορού³², καθώς και σε παρασκευάσματα ή άτομα που έχουν εκτεθεί σε γάλα ή χειρουργικούς σπύγγους που περιέχουν γλυκάνη. Μετά από χειρουργική έκθεση σε σπύγγους και γάλα που περιέχουν (1→3)-β-D-γλυκάνη, τα επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης στο ορό των ασθενών χρειάζονται 3 – 4 ημέρες για να επανέλθουν στην τιμή βάση¹².
- Αντίστοιχα, αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για τον χρόνο πραγματοποίησης δειγματοληψίας χειρουργικών ασθενών.
- Τα δείγματα που λαμβάνονται με μεθόδους τρυπήματος της πτέρνας ή του δακτύλου δεν είναι αποδεκτά, καθώς η εμποτισμένη με αλκοόλη γάλα που χρησιμοποιείται για την προετοιμασία της θέσης (και, δυνητικά, η λίμπωση αίματος στην επιφάνεια του δέρματος) έχει καταδειχθεί ότι προκαλεί μείλωση των δειγμάτων. Σε μέχρι σήμερα μελέτες, δεν έχουν παρατηρηθεί διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που λαμβάνονται από γραμμές αμυληγίας ή φλεβοπαρκατένηση^{3,27}.
- Για ενδεδεξη ανασκόπηση των παραγόντων που συμβάλλουν στα ψευδώς θετικά αποτελέσματα (1→3)-β-D-γλυκάνης, βλ. Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)³⁹.
- Τα επίπεδα της εξέτασης καθιερώθηκαν σε ενήλικους ασθενείς. Τα φυσιολογικά επίπεδα και τα επίπεδα διαχωρισμού (cut-off) σε βρέφη και παιδιά βρίσκονται υπό διερεύνηση³⁹.

13. Χαρακτηριστικά απόδοσης

13.1 Τιμές διαχωρισμού (cut-off) και αναμενόμενες τιμές

Μια πολυκεντρική, προοπτική μελέτη¹¹ που πραγματοποιήθηκε για να προσδιοριστεί η διαγνωστική ευαισθησία και η διαγνωστική ειδικότητα του προσδιορισμού Fungitell® (δείτε τη συγκριτική εξέταση παρακάτω) έχει καταδείξει ότι οι τιμές βήτα γλυκάνης είναι αυξημένες σε διάφορες μικητιασικές λοιμώξεις. Όταν υπάρχουν σημεία και συμπτώματα σε επίπεδο 80 pg/ml ή μεγαλύτερο, η προγνωστική αξία της θετικότητας ενός ασθενούς για μια μικητιασική λοίμωξη κυμαίνεται από 74,4 έως 91,7%. Απουσία σημείων και συμπτωμάτων σε επίπεδο χαμηλότερο από 60 pg/ml, οι τιμές αρνητικής προγνωστικής αξίας κυμαίνονταν από 65,1% έως 85,1%.

13.2 Κλινικές επιδόσεις

Πραγματοποιήθηκε μια πολυκεντρική, προοπτική μελέτη για την πιστοποίηση των χαρακτηριστικών απόδοσης του προσδιορισμού Fungitell®¹¹. Η εξέταση συγκρίθηκε με άλλες τυπικές μεθόδους ανίχνευσης (π.χ. καλλιέργεια αίματος, ιστοπαθολογική εξέταση δειγμάτων βιοψίας και ακτινογραφικά σημεία) για μικητιασικές και μυκητιακές.

Εξετάστηκαν τριακόσιοι πενήντα εννιά (359) ασθενείς με τον προσδιορισμό. Λήφθηκε ένα δείγμα από κάθε ασθενή. Στους ασθενείς χαμηλού κινδύνου συγκαταλέγονταν νηγιά άτομα και άτομα στα κλινικά κέντρα που εισήχθησαν σε νοσοκομεία για άλλους λόγους, εκτός από μικητιασικές λοιμώξεις. Η στρατολόγηση πραγματοποιήθηκε σε έξι κλινικά

κέντρα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Τέσσερα από τα κλινικά κέντρα πραγματοποιήσαν τον προσδιορισμό και εξέτασαν συνολικά 285 δείγματα. Η ACC εξέτασε και τα 359 δείγματα δύο φορές, αλλά χρησιμοποιήσε μόνο το δεύτερο σε αποτελεσμάτων για να προσδιορίσει την απόδοση του προσδιορισμού. Τα αποτελέσματα του δεύτερου σετ αναλύσεων δεν ήταν στατιστικά διαφορετικά από αυτά του πρώτου σετ.

• Διαγνωστική ευαισθησία

Η ευαισθησία για το συνολικό πληθυσμό ατόμων (359), συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με κρυπτοκοκκίαση ήταν 65,0% (Διάστημα εμπιστοσύνης (CI) 95%: 60,1 - 70,0%) (Πίνακας 1).

• Διαγνωστική ειδικότητα

Η ειδικότητα ήταν 81,1% (77,1 - 85,2% CI). Όταν αναλύθηκαν 170 άτομα αρνητικά για μικητιασική λοίμωξη και φαινομενικά νηγιά άτομα, η ειδικότητα ήταν 86,5% με τον προσδιορισμό (82,8% - 90,1% CI). Όταν συμπεριλήφθηκαν ακόμη 26 άτομα που ήταν αρνητικά για μικητιασική λοίμωξη αλλά είχαν άλλες διαταραχές, παρατηρήθηκε ειδικότητα 81,1% (77,1 - 85,2% CI).

Πίνακας 1 Αποτελέσματα εξετάσεων της ACC σε επίπεδο cutoff 60-80 pg/ml ανά κέντρο									
Κέντρο	Αποδεδεγμένη/Πιθανή ευαισθησία ≥80 pg/ml			Ειδικότητα <60 pg/ml			Αριθμός (60<X<=80)	Σύνολο	
	Θετ./Καν. Θετ.	Ευαισθηθεία	Θετική προγνωστική αξία	Αρν./Καν. Αρν.	Ειδικότητα	Αρνητική προγνωστική αξία			
1	32/50	64,0	97,0	39/40	97,5	69,6	1	90	
2	14/24	58,3	93,3	17/20	85,0	70,8	5	44	
3	14/19	73,7	46,7	36/54	66,7	90,0	3	73	
4	25/33	75,8	92,6	37/43	86,0	86,0	6	76	
5	21/36	58,3	80,8	30/39	76,9	69,8	6	75	
6	0/1	0,0	Δ/Ε	0/0	Δ/Ε	0,0	0	1	
Σύνολο	106/163	65,0	80,9	159/196	81,1	76,8	21	359	

Όταν τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από την ACC (359 δείγματα) και από τα κλινικά κέντρα (285 δείγματα) συγκρίθηκαν με την κλινική διάγνωση, η ευαισθησία είναι 64,3% (58,8% - 69,9% CI) για την ACC και 61,5% (55,9% - 67,2% CI) για τα κέντρα. Η ειδικότητα είναι 86,6% (82,7% - 90,6% CI) για την ACC έναντι 79,6% (74,9% - 84,3% CI) για τα κέντρα

Κανντίαση

Στην προοπτική μελέτη υπήρξαν 107 άτομα που είχαν θετική διάγνωση κανντίασης, 83 από τα 107 ήταν θετικά με τον προσδιορισμό Fungitell®.

Εκατόν εβδομήντα πέντε δείγματα αποθετηρού κανντίασης παραστέθηκαν στην Associates of Cape Cod, Inc. 145 από τα 175 βρέθηκαν θετικά με τον προσδιορισμό.

Ασπεργίλλωση

Συνολικά 10 άτομα ήταν θετικά για ασπεργίλλωση, 8 από τα 10 ήταν θετικά με τον προσδιορισμό.

Φουσαρίωση

Τρία άτομα ήταν θετικά για φουσαρίωση, 2 από τα 3 ήταν θετικά με τον προσδιορισμό.

Αντικητιασική φαρμακευτική θεραπεία

Η παρουσία ή η απουσία αντικητιασικής φαρμακευτικής θεραπείας δεν είχε καμία στατιστικά σημαντική επίδραση στην ευαισθησία του προσδιορισμού. 118 άτομα ήταν αποδεδεγμένα θετικά για διηθητική μικητιασική λοίμωξη και λάμβαναν αντικητιασική θεραπεία. 82 ήταν θετικά με τον προσδιορισμό (ευαισθησία 69,5%, 61,2% - 77,8% CI). Επιπλέον, εικοσιτέσσερα (24%) άτομα ήταν αποδεδεγμένα θετικά, αλλά δεν λάμβαναν οποιαδήποτε αντικητιασική θεραπεία. 18 ήταν θετικά με τον προσδιορισμό (ευαισθησία 75%, 57,7% - 92,3% CI).

13.3 Συσχετίσεις εξετάσεων

Τέσσερα από τα κλινικά κέντρα πραγματοποιήσαν προσδιορισμό σε συνολικά 285 δείγματα. Τα αποτελέσματα από τις εξετάσεις που πραγματοποιήθηκαν στα κέντρα συσχετίστηκαν ποσοτικά σε ποσοστό 96,4% με τα αποτελέσματα της Associates of Cape Cod, Inc. Οι συσχετίσεις της Associates of Cape Cod, Inc. με τα διαφορετικά κέντρα εξετάσεων κυμαίνονταν από 90,6 έως 99,2%.

13.4 Πιστότητα

Ο προσδιορισμός Fungitell® αξιολογήθηκε για πιστότητα (δηλαδή, επαναληψιμότητα και ανασταθμιστικότητα), με τη χρήση δέκα (10) διαφορετικών δειγμάτων που εξετάστηκαν το καθένα από τρία κέντρα εξετάσεων, σε τρεις διαφορετικές ημέρες. Η διακύμανση μεταξύ προσδιορισμών κυμάνθηκε από 0,9% έως 28,9% και χρησιμοποιήθηκε ως εργαλείο μέτρησης της επαναληψιμότητας. Η διακύμανση μεταξύ προσδιορισμών κυμάνθηκε από 3,9 έως 23,8% και χρησιμοποιήθηκε ως εργαλείο μέτρησης της επαναληψιμότητας. Τα τέσσερα (4) αρνητικά δείγματα αποκλείστηκαν και από τις δύο αναλύσεις.

13.5 Εύρος τιμών μέτρησης και γραμμικότητα

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε pg/ml ορού και εύρος από μη ανιχνεύσιμη (<31 pg/ml) έως >500 pg/ml και εκτυπώνονται από το λογισμικό ή διβαθνίζονται από την πρότυπη καμπύλη. Οι ακριβείς τιμές πάνω από 500 pg/ml απαιτούν αραιώση του δείγματος με νερό αντίδραστηρίου LAL και επανεξέταση. Όπως υποδεικνύεται στην ενότητα «Ελέγχος ποιότητας», ο συντελεστής συσχέτισης (r) της πρότυπης καμπύλης (γραμμική έναντι γραμμικής) που καλύπτει το εύρος μέτρησης του προσδιορισμού Fungitell® θα πρέπει να είναι > 0,980 και οι αρνητικοί μάρτυρες θα πρέπει να έχουν τιμές αποτελεσμάτων ρυθμίο (π.χ. μονάδες χλωστοσπορρίωσης ανά λεπτό) χαμηλότερες από το 50% των ποσοστών του χαμηλότερου προτύπου διαλυμάτων. Σε αντίθετη περίπτωση, θα πρέπει να επαναλαμβάνεται ο προσδιορισμός με τη χρήση εξ ολοκλήρου νέων αντίδραστηρίων.

13.6 Οπισθε παρεμβολές














Οι παρακάτω καταστάσεις του δείγματος μπορεί να προκαλέσουν παρεμβολή στην ακρίβεια του αποτελέσματος του προσδιορισμού Fungitell®:

- Δείγματα που δεν έχουν το σωστό χρώμα ή θολερά δείγματα, όπως αυτά που παρουσιάζουν έντονη αμύληση, λατιμια ή περιέχουν υπερβολική ποσότητα χολερυθρίνης ενδέχεται να προκαλέσουν οπτική παρεμπόδιση με τον προσδιορισμό. Εάν εξεταστούν τέτοιου είδους δείγματα, τα αποτελέσματα της ανάλυσης θα πρέπει να εξετάζονται για τυχόν ενδείξεις οπτικής παρεμπόδισης ή/και ασυνήθιστων κητινικών μοτίβων.
- Αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης G, όπως αυτά που μπορεί να παρουσιαστούν στον ορό *λόγω* πολλαπλών μυελωμάτων, ενδέχεται να δημιουργήσουν ίζημα στο μείγμα της αντίδρασης μετά την προσθήκη του Fungitell® στον προεπεξεργασμένο ορό³⁰.
- Κατά τον χρόνο σύνταξης του παρόντος, δεν έχει περιγραφεί άλλος ενεργοποιητικός Παράγοντας G (στοιχείο ανίχνευσης της (1→3)-β-γλυκάνης) του αντιδραστήριου Fungitell® πλην της (1→3)-β-γλυκάνης. Σε ορισμένες μελέτες, όπου έχουν υπάρξουν ισχυρισμοί διασταυρωμένης αντίδραστικότητας, η επεξεργασία του υποθετημένου ενεργοποιημένου υλικού με καθαρή (1→3)-β-γλυκάνη *έχει* εξαλείψει το σήμα, καταδεικνύοντας ότι η παρατηρηθείσα ενεργοποίηση οφείλεται στη μολυσμένη (1→3)-β-γλυκάνη⁵. Η μείλωση από σερνοπροτεάσης μπορεί, επίσης, να καταλήξει σε απελανθέρωση παρα-νιτροανιλίνης στα δείγματα αντίδρασης Fungitell®, αλλά αυτά αδρανοδοποιούνται στο πλαίσιο της διαδικασίας προεπεξεργασίας.

14. Μετα-αναλύσεις

Επιπλέον, έχουν δημοσιευθεί διάφορες μελέτες που αξιολογήθηκαν από ομότιμους ειδικούς σχετικά με το θέμα της υστέρησης της (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό για τη διάγνωση διηθητικών μικητιασικών νόσων, συμπεριλαμβανομένων μετα-αναλύσεων διαγνωστικής απόδοσης^{32,34,35,36,37}.

15. Επεξήγηση συμβόλων

	«Ημερομηνία λήξης»		«Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης»
	«Περιοχόμενο επαρκές για 'N' εξετάσεις»		«Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος»
	«Κωδικός παρτίδας»		«Σήμανση CE»
	«In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν»		«Για χρήση με ιατρική συνταγή μόνον»
	«Αρ. καταλόγου»		«Προσοχή»
	«Περιορισμός θερμοκρασίας»		«Μακριά από το ηλιακό φως»
	«Κατασκευαστής»		

16. Εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο

Χορηγός στην Αυστραλία: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park 201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Αυστραλία

Σημείωση: Ένα σοβαρό περιστατικό που έχει πραγματοποιηθεί σε σχέση με το τεχνολογικό προϊόν θα αναφερθεί στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του Κράτους Μέλους που είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

17. Στοιχεία επικοινωνίας

Κεντρικά Γραφεία Associates of Cape Cod, Inc.

124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 Η.Π.Α.

Τηλ.: (888) 395-2221 ή (508) 540-3444 • Φαξ: (508) 540-8680

E-mail: custservice@accuisa.com • www.accuisa.com

Ηνωμένο Βασίλειο

Associates of Cape Cod Int’l, Inc.

Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool L33 7RX, Ηνωμένο Βασίλειο

Τηλ.: (+44) 151-547-7444 • Φαξ: (+44) 151-547-7400

E-mail: info@accuik.co.uk • www.accuik.co.uk

Ευρώπη

Associates of Cape Cod Europe GmbH

Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Γερμανία

Τηλ.: (49) 61 05-96 10 0

18. Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 0 έως 11: Άλλαξε η εξέταση εις τριπλούν σε εξέταση εις διπλούν. Αντικαταστάθηκε το υπερκάρβωρο νερό με νερό αντίδραστηρίου LAL. Συνδύστηκαν τα συστατικά μέρη KCL και KOH στο αλκαλικό διάλυμα προεπεξεργασίας. Αφαιρέθηκε η μικροπλάκα από το kit και παρέχεται ως απαιτούμενο στοιχείο που δεν παρέχεται. Άλλαξε ο αντιπρόσωπος για την ΕΕ και προστέθηκε ο Χορηγός στην Αυστραλία. Ελάσσονες διασαφηνίσεις, μορφοποίηση, προθήκη συμβόλων, πρόσθετες ουσίες παρεμβολής. Αναθ. 12: Αφαίρεση του EC REP Emergo Europe

19. Βιβλιογραφία

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
- De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 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 Institutes of Allergy and Infectious Disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
- Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K.-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillus, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.
- Binder, U., Maurer, E., and Lass-Flörl, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
- Girouard, G., Lachance, C., and Pelletier, R. 2007. Observations of (1→3)-β-D-Glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by *Histoplasma* or *Blastomyces*. J. Med. Mycology 56: 1001-1002.

6. Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.

- Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998; 338:1741-1751.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H., Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
- Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
- Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002; 4 (Suppl. 3):32-37
- Lass-Flörl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M., and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillus. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
- Livintsev, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grunich, D.E., Kerkerker, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1→3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.
- Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β-D-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.
- Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemophlym clotting system in *Limulus*. Thrombosis Res. 68: 1-32.
- Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a *Limulus* coagulation factor G by (1→3)-β-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.
- Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-β-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from *Limulus* amoebocyte lysate and host-mediated anti-tumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
- Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of *Limulus* coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
- Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
- Kato, A., Takita, T., Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.
- Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Iden, K., Hataa, M., Yamamoto, N., Kimishima, Y., Yano, H., Kaki, K., Hirakata, Y., and Kaki, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauge types. Tohoku J. Exp. Med. 217: 117-121.
- Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cozanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β-D-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.
- Held J, Wagner D.β-D-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2011;17:1118-22.
- Tamura, H., Arimoto, Y., Tanaka, S., Yoshida, M., Obayashi, T. and Kawai, T. 1994. Automated kinetic assay for endoxin and (1→3)-β-D-glucan in human blood. Clin. Chim. Acta 226: 109-112.
- Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-β-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. Int. J. Hematol. 80: 97-98.
- Racil, Z., Koemanova, I., Lengonova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, J., and Finkelman, J. Difficulties in using 1,3-β-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies—high frequency of false-positive results and their analysis. J. Med. Microbiol. 2010; 59:1016-22.
- Posteroa B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi,M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguineti, M., and Antonelli, M. 2011 Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1→3)-β-D-glucan assay, *Candida* score, and colonization index. Crit Care.15: R249.
- Smith, P.B., Benjamin, D.K., Alexander, B.D., Johnson, M.D., Finkelman, M.A., and Steinbach, W.J. 2007. (1→3)-β-D-Glucan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-glucan test in children. Clin. Vaccine Immunol. 14: 924-925.
- Goudil, S., Kongofo, G., Dussol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan