

Προσδιορισμός για (1→3)-β-D-γλυκάνη στον ορό
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ FUNGITELL®
<i>Οδηγίες χρήσης</i>

<p>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</p>
<p>124 Bernard E. Saint Jean Drive • East Falmouth, MA 02536 USA</p>
<p>Κ only IVD 42 CE</p>
<p>PN001268-el Αναθ.13 REF FT001 2024-09-05</p>



Επισκεφθείτε τον ιστότοπο www.accuisa.com, για οδηγίες χρήσης στη γλώσσα σας.

Το παρόν προϊόν προορίζεται για In Vitro Διαγνωστική Χρήση και Επαγγελματική Χρήση μόνο.

1. Χρήση για την οποία προορίζεται

Ο προσδιορισμός **Fungitell®** είναι ένας χρωματομετρικός προσδιορισμός που βασίζεται σε ζυμογόνο πρωτεάσης, για την ποιοτική ανίχνευση της (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό ασθενών με συμπτώματα διηθητικής μυκητιασικής λοίμωξης ή ιητρικές παθήσεις που προδιθέτον σε αυτήν. Η συγκέντρωση της (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό, ενός σημαντικού συστατικού του κυτταρικού τοιχώματος διαφόρων, ιατρικά σημαντικών μυκήτων¹, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα στη διάγνωση εν το βάθει μυκητιάσεων και μυκητιαμών². Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει το γένος των μυκήτων 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 διηθημών βιοψίας και ακτινολογική εξέταση.

<i>Σημαντικό</i> <i>Λόστε αυτές τις πληροφορίες στον γιατρό που ζήτησε την εξέταση: 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 ανιχνευτεί από τον προσδιορισμό^{3,4}. Οι λοιμώξεις από μύκητες της συνομοταξίας Mucorales, όπως οι Absidia, Mucor και Rhizopus^{1,4} 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 φύση ζυμομύκητα του Blastomyces dermatitidis παράγει μικρή ποσότητα (1→3)-β-D-γλυκάνης και μπορεί να μην ανιχνευθεί με τον προσδιορισμό⁵.</i>
<p>Συμπεριλάβετε αυτήν τη δήλωση κατά την αναφορά των αποτελεσμάτων της εξέτασης με τον προσδιορισμό Fungitell®.</p>

2. Περιλήψη και επεξήγηση

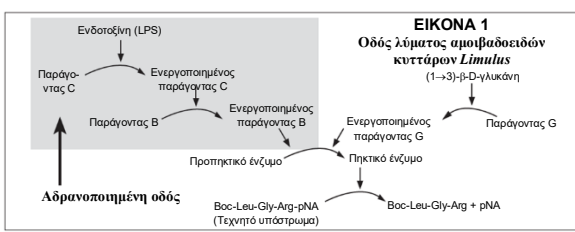
Υπάρχει αυξημένη επίπτωση μυκητιασικών λοιμώξεων που οφείλονται σε ευκαιριακά παθογόνα, ιδιαίτερα σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς^{6,7,8}. Οι διηθητικές μυκητιασικές νόσοι, όπως οι ευκαιριακές λοιμώξεις, είναι συχνές σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και AIDS και αποτελούν αυξανόμενο αριθμό των 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 εισποή σπορίων μυκήτων που προέρχονται από το χώμα, υλοειρήματα φυτών, συστήματα διαχείρισης του αέρα ή/και εκτεθειμένες επιφάνειες. Ορισμένοι ευκαιριακοί μύκητες υπάρχουν στο ανθρώπινο δέρμα, στη γαστρεντερική οδό και στους βλεννογόνους^{1,12}. Η διάγνωση των διηθητικών μυκητιάσεων και των μυκητιαμών βασίζεται συνήθως σε μη ειδικές διαγνωστικές ή ιστολογικές τεχνικές. Πρόσφατα, έχουν προσβεί βιολογικοί δείκτες μυκητιασικής λοίμωξης στις διαθέσιμες διαγνωστικές μεθόδους².

Στα ευκαιριακά μυκητιασικά παθογόνα συγκαταλέγονται τα εξής: *Candida spp., Aspergillus spp., Fusarium spp., Trichosporon spp., Saccharomyces cerevisiae, Acromonium 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®^{1,8,13,14}.

3. Αρχή της διαδικασίας

Ο προσδιορισμός Fungitell® μετρά την (1→3)-β-D-γλυκάνη. Ο προσδιορισμός βασίζεται σε μια τροποποίηση της οδού λύσης του *αμοιβαδοκυττάρου* (Limulus Amebocyte Lysate, LAL)^{15,16,17,18}. Εικόνα 1. Το αντιδραστήριο Fungitell® έχει τροποποιηθεί ώστε να εξαλειφθεί η αντιδραστικότητα της βακτηριακής ενδοτοξίνης και, συνεπώς, να ανιχνά 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 ζυμογόνο οσρινοπρωτεάσης. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας G μετράται το αδρανές προπηκτικό ένζυμο στο ενεργό ηηκτικό ένζυμο, το οποίο με τη σειρά του διασπά το παρα-

νιτροανιλίδιο (para-nitroanilide, pNA) από το χρωμογονικό πεπτιδικό υπόστρωμα, Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, δημιουργώντας ένα χρωμοφόρο, το παρα-νιτροανιλίδιο, που προκαλεί απορρόφηση στα 405 nm. Ο κινητικός προσδιορισμός Fungitell®, 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 τον προσδιορισμό 110 βοθρίων σε δύο πλάκες μικροπυλότητας (55 βοθρία σε καθεμία):

- Αντιδραστήριο Fungitell®, λυοφιλοποιημένη, ειδική για (1→3)-β-D-γλυκάνη LAL (δύο φιαλίδια).
- Η σύνθεση του αντιδραστήριου *Fungitell®* περιλαμβάνει λύμα αμοιβαδοειδών κυττάρων *Limulus* (δηλαδή, καβούρι) και χρωματομετρικό υπόστρωμα *Boc-Leu-Gly-Arg-pNA*. Δεν περιέχει πρωτεΐνες από ανθρώπους ή θηλαστικά.
- Ρυθμιστικό διάλυμα ανασύστασης Pytosol® (δύο φιαλίδια). Είναι δυνατή η ξεχωριστή αγορά πρόσθετων φιαλιδίων ρυθμιστικού διαλύματος ανασύστασης Pytosol (αριθμός καταλόγου BC051). Αποτελείται από ρυθμιστικό διάλυμα *Tris 0,2 M*.
- Πρότυπο διάλυμα γλυκάνης, λυοφιλοποιημένη (1→3)-β-D-γλυκάνη από *Rachyman* (δύο φιαλίδια).
- Ο όγκος του νερού αντιδραστήριου που πρέπει να προστεθεί υποδεικνύεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Βαθμονομείται έναντι ενός εσοτερικού προτύπου αναφοράς.
- Νερό αντιδραστήριου LAL (LRW) (δύο φιάλες)
- Σημείωση:** 20 ml υπερκαθαρού νερού (RGW) και LRW σε γυάλινα φιαλίδια είναι ισοδύναμα.
- Αλκαλικό διάλυμα προπεξεργασίας (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 παρεμβαλλόμενη γλυκάνη.

- Ρύγχη πιπέτων* (250 μl – αρ. kat. PPT25, 1000 μl – αρ. kat. PPT10)
- Πιπέτες κατάλληλες για χορήγηση όγκων 5-25 μl και 100-1000 μl
- Επαναληπτική πιπέτα με ρύγχη σύριγγας, ικανή για χορήγηση 100 μl
- Δοκιμαστικοί σωλήνες* για την παρασκευή της σειράς των προτύπων διαλυμάτων (καμπύλη βαθμονόμησης) και του συνδυασμό αντιδραστήριων επεξεργασίας ορού. (12 x 75 mm - αρ. kat. TB240 ή 13 x 100 mm - αρ. kat. TB013)
- Επωαστική (37 °C) συσκευή ανάγνωσης πλάκας, ικανή για ανάγνωση στα 405 nm (κατά προτίμηση 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 προσδιορισμού 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 βοθρίων* **Σημείωση:** Οι απαιτήσεις του προσδιορισμού Fungitell® έχουν επικυρωθεί με πλάκες που έχουν τα παρακάτω χαρακτηριστικά: Πολυστυρένιο, αποστειρωμένες, μη επικαλυμμένες, με επίπεδο πυθμένα, χωρίς παρεμβολή από βήτα γλυκάνη, σύμφωνα με τις προδιαγραφές της ACC και συσκευασμένες σε ατομικές συσκευασίες.

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

6. Φύλαξη αντιδραστηρίων

- 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 καταγυθεί 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 πνότε, μην πίνετε σε περιοχές όπου γίνεται ο χειρισμός παρασκευασμάτων ή αντιδραστηρίων του kit.
- Τηρείτε τους κανονισμούς λειτουργικής ασφάλειας και τους τοπικούς κανονισμούς ασφάλειας.
- Φοράτε προστατευτικά γάντια κατά τον χειρισμό βιολογικών δειγμάτων που μπορεί να είναι μολυσματικά ή επικίνδυνα. 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 ζημιά.
- Διάθεση:** Υπολείμματα χημικών και σκευασμάτων που γενικά θεωρούνται επικίνδυνα απόβλητα. Η διάθεση αυτού του τύπου αποβλήτων ρυθμίζεται από εθνικούς και περιφερειακούς νόμους και κανονισμούς. Επικοινωνήστε με τις τοπικές αρχές ή τις εταιρείες διαχείρισης αποβλήτων για συμβουλές σχετικά με τη διάθεση επικίνδυνων αποβλήτων.
- Μπορείτε να λάβετε **τα φύλλα δεδομένων ασφαλείας** για όλα τα συστατικά μέρη του kit Fungitell® από τον ιστότοπο της ACC: www.accuisa.com.

7.1 Διαδικαστικές προφυλάξεις

Ο προσδιορισμός Fungitell® απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή στην τεχνική και το περιβάλλον εξέτασης. Η ενδεδεληγή εκπαίδευση του τεχνικού στη μέθοδο προσδιορισμού και στην αποφυγή της μόλυνσης είναι ζωτικής σημασίας για την αποτελεσματικότητα του προσδιορισμού.

- Χρησιμοποιείτε ορθές εργαστηριακές πρακτικές σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς. Αυτό ο προσδιορισμός είναι ευαίσθητος στη μόλυνση και στην ανακρίβεια αναρρόφησης με πιπέτα.
- Δημιουργήστε 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 περιέκτες, 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 επιστόμιο από βαμβάκι και ρύγχη πιπέτων με φίλτρα κυτταρίνης. Τα μέσα δεσμάτους γάλας και οι σπόγγοι χειρουργικής χρήσης μπορούν και αυτά να εκκρίνουν υψηλές ποσότητες (1→3)-β-D-γλυκάνης^{21,22}. Για άλλες πηγές μόλυνσης που σχετίζονται με τους ασθενείς, δείτε την ενότητα «Περιορισμοί» της εξέτασης.
- Μη χρησιμοποιείτε υλικά των οποίων έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης.

7.2 Χειρισμός παρασκευασμάτων

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

8. Λαβασία

8.1 Ρύθμιση 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 ανάγνωσης πλακών για τη συλλογή δεδομένων στον τρόπο λειτουργίας Vmean. Ελέγξτε το χεγριδίον του λογισμικού για τις σιστές ρυθμίσεις, για να διασφαλίσετε ότι η τιμή που υπολογίζεται είναι ο μέσος ρυθμός μεταβολής της οπτικής πυκνότητας, για όλα τα σημεία δεδομένου που συλλέγονται. Ρυθμίστε το διάστημα ανάγνωσης του ενόργανη στο ελάχιστο που επιτρέπεται 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 στον υποβάθρο στα 490 nm. Συνιστάται η χρήση και των 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 των δειγμάτων των ασθενών για ενδείξεις παρεμβολής (βλ. Ενότητα 9.0 για περισσότερες λεπτομέρειες). Η θερμοκρασία επίσσης πρέπει να ρυθμιστεί στους 37 °C. Ρυθμίστε την πραγματοποίηση της ανάμειξης της ανικίνησης πλακών 5 – 10 δευτερόλεπτα πριν από την έναρξη της ανάγνωσης. Επύλεξτε τη ρύθμιση προσαρμογής της καμπύλης σε «γραμμική/γραμμική» ή ισοδύναμη ρύθμιση. Η ανάγνωση θα πρέπει να ξεκινάει χωρίς οποιονδήποτε χρόνο καθυστέρησης.

8.2 Παρασκευή του προτύπου διαλύματος γλυκάνης που παρέχεται στο kit

α. Διαλύστε το περιεχόμενο ενός φιαλιδίου προτύπου διαλύματος γλυκάνης με τον όγκο LRW που αναφέρεται στο φιαλίδιο, για να δημιουργήσετε ένα διάλυμα 100 pg/ml. Ανακινήστε σε αναδευτήρα 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 παράδημα ενός σχήματος προτοιμασίας 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 αναδευτήρα 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 αναδευτήρα 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 αναδευτήρα 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 αναδευτήρα τύπου vortex για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.

8.3 Ανοίξτε το αλκαλικό διάλυμα προεξεργασίας

Το αλκαλικό διάλυμα προεξεργασίας μετατρέπει τις γλυκάνες τριπλής έλικας σε μονόκλωνες γλυκάνες^{17,18} οι οποίες είναι πιο αντιδραστικές στον προσδιορισμό. Επιπλέον, το αλκαλικό pH συμβάλλει στην αδρανοποίηση των πρωτεσών 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, ώστε καλύτερα, με διαφανή μεμβράνη (Parafilm), χρησιμοποιώντας την πλευρά του Parafilm που είναι στραμμένη προς τη χάρτινη επένδυση.

8.4 Ρύθμιση πλακών μικροπυλότητας

Ρυθμίστε τη διάταξη πλακών μικροπυλότητας στο λογισμικό, με τα πρότυπα διαλύματα (Std), τους αρνητικούς μάρτυρες (Arv.) 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	
Г		STD2 250	STD2 250		SPL1	SPL4	SPL7	SPL10	SPL13	SPL16	SPL19	
Δ		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	
ΣΤ		STD5 31,25	STD5 31,25		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
Z	Arv.	Arv.			SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
H												

Καταχωρίστε τις συγκεντρώσεις του προτύπου διαλύματος στις ρυθμίσεις του λογισμικού ως 500, 250, 125, 62,5 και 31 pg/ml, αντίστοιχα. Σημειώστε ότι οι συγκεντρώσεις του προτύπου διαλύματος που καταχωρίστηκαν είναι πέντε φορές μεγαλύτερες από αυτές που παρασκευάστηκαν στην ενότητα 8.2 παραπάνω. Αυτό γίνεται επειδή ο όγκος του προτύπου διαλύματος που χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό είναι 25 μl ανά βοθρίο, που είναι πέντε φορές υψηλότερος από τον όγκο του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε (δείτε την ενότητα 8.5β παρακάτω). Συνεπώς, το δείγμα ορού αραιώνεται ουσιαστικά πέντε φορές σε σχέση με το πρότυπο διάλυμα. Ο πολλαπλασιασμός των συγκεντρώσεων του προτύπου διαλύματος επί πέντε αντισταθμίζει αυτήν την αραιώση.

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

Σημείωση: Οι αρνητικοί μάρτυρες δεν χρησιμοποιούνται στην πρότυπη καμπύλη.

8.5 Προσθήκη ορού και αλκαλικού διαλύματος προεξεργασίας

- Αποψύξτε τα καταψυχμένα δείγματα ορού σε θερμοκρασία θωματίου. Ανακινήστε καλά όλα τα δείγματα σε αναδευτήρα τύπου vortex – για τουλάχιστον 30 δευτερόλεπτα, σε ρύθμιση μεσαίας ή μεσαίας-υψηλής ταχύτητας.
- Μεταφέρετε 5 μl του δείγματος ορού σε καθανή από τα καθορισμένα βοθρία (UK), τουλάχιστον εις διπλούν. Επαναλάβετε για κάθε δείγμα ορού.
- Προσθέστε 20 μl αλκαλικού διαλύματος προεξεργασίας σε κάθε βοθρίο που περιέχει ορό. Φροντίστε οι σταγόνες ορού και προεξεργασίας να έρθουν σε επαφή μεταξύ τους.
- Σημείωση: Τα βήματα β και γ μπορούν να διεξαχθούν με την αντίστροφη σειρά, ανάλογα με την προτίμηση του τεχνικού.

Σημείωση: Για την αποτροπή τυχόν ακουσίας επιμόλυνσης, επανατοποθετήστε το κάλυμμα στην μικροπλάκα μετά την προσθήκη δειγμάτων και αντιδραστήριων στα βιοθρία.

- Αναδέυστε την πλάκα για 5 – 10 δευτερόλεπτα για να αναμίξετε καλά τα περιεχόμενα των βιοθρίων (μπορεί να χρησιμοποιηθεί η λειτουργία ανάδευσης πλάκων της συσκευής ανάγνωσης), κατόπιν επώστε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 37 °C, στη επωστική συσκευή ανάγνωσης πλάκων.

8.6 Ανασύσταση του αντιδραστήριου Fungitell®

Σημείωση: Αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα ενόσω βρίσκεται σε εξέλιξη η επώση προεπεξεργασίας. Η συνέπεια του χρόνου ανασύστασης θα ενισχύσει την αναπαραγωγιμότητα, 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 ρυθμιστικού διαλύματος ανασύστασης Rytosol, χρησιμοποιώντας την πιέτα των 1000 μl. Καλύπτε το φιαλίδιο με Parafilm, χρησιμοποιώντας την πλευρά του Parafilm που είναι στραμμένη προς το χάρτινο κάλυμμα. Αναδέυστε το φιαλίδιο με ήπιες κινήσεις για να διαλύσετε πλήρως το περιεχόμενο – μην το ανακινήτε.

8.7 Προσθήκη αρνητικών μαρτύρων και προτύπων διαλυμάτων γλυκάνης

Στο τέλος της επώσης προεπεξεργασίας ορού (Ενότητα 8.5δ), αφαιρέστε την πλάκα από την επωστική συσκευή ανάγνωσης πλάκων και προσθέστε τα πρότυπα διαλύματα και τους αρνητικούς μάρτυρες στην πλάκα. Συνιστώμενο μοτίβο συγκέντρωσης προτύπου διαλύματος:

- α. Προσθέστε 25 μl LRW στα βιοθρία G2 και G3.
- β. Προσθέστε 25 μl του προτύπου διαλύματος 6,25 pg/ml 5 στα βιοθρία F2 και F3, που εισηγμούνται ως 31,25 pg/ml.
- γ. Προσθέστε 25 μl του προτύπου διαλύματος 12,5 pg/ml 4 στα βιοθρία E2 και E3, που εισηγμούνται ως 62,5 pg/ml.
- δ. Προσθέστε 25 μl του προτύπου διαλύματος 25 pg/ml 3 στα βιοθρία D2 και D3, που εισηγμούνται ως 125 pg/ml.
- ε. Προσθέστε 25 μl του προτύπου διαλύματος 50 pg/ml 2 στα βιοθρία C2 και C3, που εισηγμούνται ως 250 pg/ml.
- στ. Προσθέστε 25 μl του προτύπου διαλύματος 100 pg/ml 1 στα βιοθρία B2 και B3, που εισηγμούνται ως 500 pg/ml.

8.8 Διαδικασία προσθήκης αντιδραστήριου Fungitell® και επώσης πλάκων

- α. Προσθέστε 100 μl αντιδραστήριου Fungitell® σε κάθε βιοθρίο (που περιέχει αρνητικούς μάρτυρες, πρότυπα διαλύματα και δείγματα), χρησιμοποιώντας βηματική (επαναληπτική) πιέτα.
- β. Εισαγάγετε την πλάκα στη συσκευή ανάγνωσης μικροπλάκων (εξυσορροπημένη σε θερμοκρασία 37 °C), αφαιρέστε το καπάκι και ανακινήστε για 5 – 10 δευτερόλεπτα. Εάν δεν είναι διαθέσιμη η λειτουργία ανακίνησης πλάκων με τη συσκευή ανάγνωσης μικροπλάκων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια συσκευή ανακίνησης μικροπλάκων.

Διαβάστε την **πλάκα χωρίς το καπάκι** στα 405 nm μείον 490 nm, για 40 λεπτά σε θερμοκρασία 37 °C. Σημείωση: Εάν το όργανο δεν αφήνει χρόνο για την αφαίρεση του καπακιού μεταξύ της ανακίνησης και της ανάγνωσης, ανακινήστε χωρίς να είναι τοποθετημένο το καπάκι, για να βεβαιωθείτε ότι η ανάγνωση 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 αντιστοιχεί σε αυτά τα πρότυπα διαλύματα. Ακυρώστε 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 χλιοστοασορρόφησης ανά λεπτό) χαμηλότερες από το 50% των ποσοστών των χαμηλότερου προτύπου 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 κινητική σε μια εξέταση ενός δείγματος, π.χ. δείγμα που είναι θαμπό, δεν έχει φυσιολογικό χρώμα ή είναι θολαρό (όπως ένα που παρουσιάζουν έντονη αιμόλυση, λιπαμμία ή περιέχουν υπερβολική ποσότητα χοληρυθρίνης), το δείγμα πρέπει να αραώνεται με LRW και να επανεξετάζεται. Η αραίωση πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την αναφορά των αποτελεσμάτων, πολλαπλασιάζοντας το αποτέλεσμα επί του συντελεστή αραίωσης. **Τυπικά, ο συντελεστής αραίωσης καταχωρίζεται στη ρύθμιση του λογισμικού για το δείγμα και εφαρμόζεται αυτόματα η διόρθωση.**

Σημείωση:

- Κάθε χρήστης της εξέτασης θα πρέπει να καθιερώσει ένα πρόγραμμα ελέγχου ποιότητας για να διασφαλιστεί η επάρκεια στην πραγματοποίηση της εξέτασης σύμφωνα με τους κανονισμούς που ισχύουν στην τοποθεσία τους.

- Συνιστάται να εξεταστούν τα δείγματα ελέγχου ορού (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 ζήτησε ότι δεν προκαλόν αυξημένα επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό *όλες* οι μυκητιασικές λοιμώξεις. Ορισμένοι μύκητες, όπως το γένος *Cryptococcus*^{3,4}, παράγουν πολύ χαμηλά επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης. Οι μύκητες *Mucorales*, όπως οι *Abidia*, *Mucor* και *Rhizopus*^{1,4} δεν είναι γνωστό ότι παράγουν (1→3)-β-D-γλυκάνη. Παρομοίως, ο *Blastomyces dermatitidis*, στη φάση του ζυμομύκητα, 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®⁵.

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 μυκητιασική λοίμωξη¹⁰, η εγκύστωση και η ποσότητα της (1→3)-β-D-γλυκάνης που παράγεται από ορισμένους μύκητες μπορεί να επηρεάσουν τη συγκέντρωση αυτής της αναλυόμενης ουσίας στον ορό. Η μειωμένη δυνατότητα απόδοσης της (1→3)-β-D-γλυκάνης στην κυκλοφορία του αίματος μπορεί να μειώσει τη δυνατότητα ανίχνευσης ορισμένων μυκητιασικών λοιμώξεων.
- Ορισμένα άτομα έχουν αυξημένα επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης, τα οποία εμπίπτουν στην απροσδιόριστη ζώνη. Σε αυτές τις περιπτώσεις, συνιστώνται πρόσθετες εξετάσεις επιτήρησης.
- Η συχνότητα της εξέτασης των ασθενών θα εξαρτηθεί από τον σχετικό κίνδυνο μυκητιασικής 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 αιμοκάθαρση^{19,20,38}, άτομα που λαμβάνουν ορισμένα προϊόντα κλασμάτων αίματος, όπως αλβουμίνη και ανοσοσφαιρίνες ορού^{23,25}, καθώς και σε παρασκευάσματα ή άτομα που έχουν εκτεθεί σε γάζα ή χειρουργικούς σπόγγους που περιέχουν γλυκάνη. Μετά από χειρουργική έκθεση σε σπόγγους και γάζα που περιέχουν (1→3)-β-D-γλυκάνη, τα επίπεδα (1→3)-β-D-γλυκάνης στο ορό των ασθενών χρεαίζονται 3 – 4 ημέρες για να επανέλθουν στην τιμή βάσης^{21,22}. 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 γάζα που χρησιμοποιείται για την προετοιμασία της θέσης (και, δυνητικά, η λίμανση αίματος στην επιφάνεια του δέρματος) έχει καταδειχθεί ότι προκαλεί μόλυνση των δειγμάτων. Σε μέχρι σήμερα μελέτες, δεν έχουν παρατηρηθεί διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που λαμβάνονται από γραμμές αιμοληψίας ή φλεβοπαρακέντησης^{26,27}.
- Για ενδέλεξη 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 διερεύνηση^{28,29}.

13. Χαρακτηριστικά απόδοσης

13.1 Τιμές διαχωρισμού (cut-off) και αναμενόμενες τιμές

Μια πολυκεντρική, προοπτική μελέτη⁴¹ 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 μυκητιασικές λοιμώξεις. Όταν υπάρχουν σημεία και συμπτώματα σε επίπεδο 80 pg/ml ή μεγαλύτερο, η προγνωστική αξία της θετικότητας ενός ασθενούς για μια μυκητιασική 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®²¹. Η εξέταση συγκρίθηκε με άλλες τυπικές μεθόδους ανίχνευσης (π.χ. καλλιέργεια αίματος, ιστοπαθολογική εξέταση δείγματος βιοψίας και ακτινογραφικά σημεία) για μυκητίاسεις και μυκηταιμίες.

Εξετάστηκαν τριακόσιο πενήντα ενιά (359) ασθενείς με τον προσδιορισμό. Λήφθηκε ένα δείγμα από κάθε ασθενή. Στους ασθενείς χαμηλού κινδύνου συγκαταλέγονταν υγιή άτομα και άτομα στα κλινικά κέντρα που εισήχθησαν σε νοσοκομεία για άλλους λόγους, εκτός από μυκητιασικές λοιμώξεις. Η στρατολόγηση πραγματοποιήθηκε σε έξι κλινικά κέντρα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Τέσσερα από τα κλινικά κέντρα πραγματοποίησαν τον προσδιορισμό και εξέτασαν συνολικά 285 δείγματα. Η ACC εξέτασε και τα 359 δείγματα δύο φορές, αλλά χρησιμοποιήσε μόνο το δεύτερο σετ 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 μυκητιασική λοίμωξη και φαινομενικά υγιή άτομα, η ειδικότητα ήταν 86,5% με τον προσδιορισμό (82,8% - 90,1% C.I.). Όταν συμπεριλήφθηκαν ακόμη 26 άτομα που ήταν αρνητικά για μυκητιασική λοίμωξη αλλά είχαν άλλες διαταραχές, παρατηρήθηκε ειδικότητα 81,1% (77,1 - 85,2% CI).

Κέντρο	Αποτελέσματα εξετάσεων της ACC σε επίπεδο cutoff 60-80 pg/ml ανά κέντρο								
	Αποδεδειγμένο/Πιθανό Ευαισθησία ≥=80 pg/ml			Ειδικότητα <60 pg/ml					
	Θητ./Κλιν. Θετ.	Ευαισθησία	Θετική προγνωστική αξία	Αρν./Κλιν. Αρν.	Ειδικότητα	Αρνητική προγνωστική αξία	Αμφίβολο 60<=X<80	Σύνολο	
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	86,6	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.

Καννιντίαση

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

Εκατόν εβδομήντα πέντε δείγματα αποθετηρίου καννιντίασης παρασχέθηκαν 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.

Αντιμυκητιασική φαρμακευτική θεραπεία

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

13.3 Συσχετίσεις εξετάσεων

Τέσσερα από τα κλινικά κέντρα πραγματοίωσαν 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, επαληθευμότητα και αναπαραγωγιμότητα), με τη χρήση δέκα (10) διαφορετικών δειγμάτων που εξετάστηκαν το καθένα ανά τρία κέντρα εξετάσεων, σε τρεις διαφορετικές ημέρες. Η διακύμανση μεταξύ προσδιορισμών κυμάνθηκε από 0,9% έως 28,9% και χρησιμοποιήθηκε ως εργαλείο μέτρησης της επαληθευμότητας. Η διακύμανση μεταξύ προσδιορισμών κυμάνθηκε από 3,9 έως 23,8% και χρησιμοποιήθηκε ως εργαλείο μέτρησης της επαληθευμότητας. 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 διαβάζονται από την πρότυπη καρτέλα. Οι ακριβείς τιμές πάνω από 500 pg/ml απαιτούν αραίωση των δειγμάτων με νερό αντιδραστήριου LAL και επανεξέταση. Όπως υποδεικνύεται στην ενότητα «Έλεγχος ποιότητας», ο συντελεστής συσχέτισης (r) της πρότυπης καρτέλης (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 χλιοστοασορρόφησης ανά λεπτό) χαμηλότερες από το 50% των ποσοστών του χαμηλότερου προτύπου διαλύματος. Σε αντίθετη περίπτωση, θα πρέπει να επαναλαμβάνεται ο προσδιορισμός με τη χρήση εξ ολοκλήρου νέων αντιδραστήριων.

13.6 Ουσίες παρεμβολής




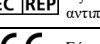


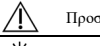

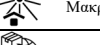

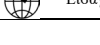


Οι παρακάτω καταστάσεις του δείγματος μπορεί να προκαλέσουν παρεμβολή στην ακριβία του αποτελέσματος του προσδιορισμού Fungitell®:

- Δείγματα που δεν έχουν το σωστό χρώμα ή θολερά δείγματα, όπως αυτά που παρουσιάζουν έντονη αιμόλυση, λιπαμμία ή περιέχουν υπερβολική ποσότητα χοληρυθρίνης ενδέχεται να προκαλέσουν οπτική παρεμβόδιση με τον προσδιορισμό. Εάν εξεταστούν τέτοιου είδους δείγματα, τα αποτελέσματα της ανάλυσης θα πρέπει να εξετάζονται για τυχόν ενδείξεις οπτικής παρεμβόδισης ή/και ασυνήθιστων κινητικών 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 υπάρχουν ισχυρισμοί διασταυρωμένης αντιδραστικότητας, η επεξεργασία που υποτιθέμενο ενεργοποιούν τον υλικού με καθαρή (1→3)-β-γλυκανάση έχει εξαλειφθεί το σήμα, καταδεικνύοντας ότι η παρατηρηθείσα ενεργοποίηση οφειλόταν στη μολυσμένη (1→3)-β-γλυκάνη¹⁵. Η μόλυνση από φερμινοπρωτεάση μπορεί, επίσης, να καταλήξει σε απελευθέρωση παρα-νιτροανιλίνου στα μείγματα αντίδρασης Fungitell®, αλλά αυτά αδραντοποιούνται στο πλαίσιο της διαδικασίας προεπεξεργασίας.

14. Μετα-ανάλυσης

Επιπλέον, έχουν δημοσιευθεί διάφορες μελέτες που αξιολογήθηκαν από ομότιμους ειδικούς σχετικά με το θέμα της υποστήριξης της (1→3)-β-D-γλυκάνης στον ορό για τη διάγνωση διηθητικών μυκητιασικών νόσων, συμπεριλαμβανομένων μετα-ανάλύσεων διαγνωστικών επιδόσεων.

15. Επεξήγηση συμβόλων

	Ημερομηνία λήξης		Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Περιεχόμενο επαρκές για «Ν» εξετάσεις		Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την ΕΕ
	Κωδικός παρτίδας		Σημανση CE
	In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν		Για χρήση με ιατρική συνταγή μόνο
	Αρ. καταλόγου		Προσοχή
	Περιορισμός θερμοκρασίας		Μακριά από το ηλιακό φως
	Κατασκευαστής		Εισαγωγέας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την Ελβετία		

16. Εξουσιοδοτημένοι αντιπρόσωποι/Εισαγωγείς

EC REP	Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Ολλανδία
CH REP	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την Ελβετία MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Ελβετία
Εισαγωγείς MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Ολλανδία	

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 όπου είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

17. Στοιχεία επικοινωνίας

Κεντρικά Γραφεία της Εταιρείας - Associates of Cape Cod, Inc.
Τηλ.: (888) 395-2221 ή (508) 540-3444 • Φαξ: (508) 540-8680
E-mail: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

Ηνωμένο Βασίλειο/Ευρώπη - Associates of Cape Cod Int'l, Inc.
Unit 1 F/G/H Academy Business Park, Lees Road
Knowsley, Liverpool L33 7SA, Ηνωμένο Βασίλειο
Τηλ.: (44) 151-547-7444 • Φαξ: (44) 151-547-7400
E-mail: info@acciu.co.uk • www.acciu.co.uk

18. Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 0 έως 11: Άλλαξε η εξέταση εις τριπλούν σε εξέταση εις διπλούν. Αντικαταστάθηκε το υπερκίθαρο νερό με νερό αντιόραστηρίου LAL. Συνδύαστηκαν τα συστατικά μέρη KCL και KOH στο αλκαλικό διάλυμα προπεξεργασίας. Αφαιρέθηκε η μικροπλάκα από το κит και παρέχεται ως απαιτούμενο στοιχείο που δεν παρέχεται. Άλλαξε ο αντιπρόσωπος για την ΕΕ και προστέθηκε ο Χορηγός στην Αυστραλία. Ελάσσονες διασαφηνίσεις, μορφοποίηση, προσθήκη συμβόλων, πρόσθετες ουσίες παρεμβολής.

Αναθ. 12: Αφαίρεση του EC REP Emergo Europe.

Αναθ. 13: Επικαιροποιήθηκε η διεύθυνση του Ηνωμένου Βασιλείου και αφαιρέθηκε η Γερμανία. Προστέθηκε η MedEnvoy ως εισαγωγέας στην ΕΕ και αφαιρέθηκε η ACC Europe GmbH από την ενότητα 17. Διορθώθηκαν ήσσονος σημασίας γραμματικά λάθη. Επικαιροποιήθηκαν τα σύμβολα που χρησιμοποιούνται. Προστέθηκε το όνομα και η διεύθυνση του αντιπροσώπου για την ΕΕ, του εισαγωγέα της Ελβετίας και του αντιπροσώπου για την Ελβετία.

19. Βιβλιογραφία

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glycan 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, aspergillosis, 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.
- Grouard, 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.
- 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 aspergillosis. *Clin. Chest Med.* 30: 295-306.
- Litvinseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Gegruch, D.E., Kerkering, 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-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 hemolymph 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., Yoshikata, 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 antitumor 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., Hirasaki, 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 Hashida, A. 2001. Elevation of b lood (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., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakat, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauze types. *Tohoku J. Exp. Med.* 217: 117-121.
- Möhr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Coanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β-glycan (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 endotoxin 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., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, I., and Mayer, 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.
- Posteraro B, De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi, M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguinetti, 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-glycan test in children. *Clin. Vaccine Immunol.* 14: 924-925.
- Goudjil, S., Kongofo, G., Dasol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. *J. of Maternal-Fetal and Neonatal Med.* 26: 44-48.
- Issa, N.C., Koo, S., Lyndh, R.C., Gay, C., Hammond, S.P., Baden, L.R., Ghobrial, I.M., Finkelman, M.A., and Martyr, F.M., 2012. Serum galactomannan and (1→3)-β-D-glucan assays for patients with multiple myeloma and Waldenström's macroglobulinemia. *J. Clin. Microbiol.* 50:1054-6.
- Ostrosky-Zeichner, L., Alexander, B.D., Kett, D.H., Vazquez, J., Pappas, P.G., Saeki, F., Ketchum, P.A., Wingard, J., Schiff, R., Tamura, H., Finkelman, M.A., Rex, J.H. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1→3)-β-D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin. Inf. Dis.* 41: 299-305.
- Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011; 52:750-70.
- Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS One*. 2015 Jul 6;10:e0131602.
- Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECL-3). *Clin Infect Dis.* 2012; 54:633-43.
- Onishi AI, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 2012; 50:7-15.
- Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β-D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 19:39-49.
- He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *J Microbiol Immunol Infect*; 2015 Aug;48:351-61.
- Wong J, Zhang Y, Patidar A, Vilar E, Finkelman M, Farrington K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artefact? Limitations of the *Limulus* Amebocyte Lysate Assay and Role of (1→3)-β-D-Glucan. *PLoS One.* 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.
- Finkelman M. Specificity Influences in (1→3)-β-d-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. *J. Fungi (Basel)* 2020 Dec 29;7(1):14

Μπορείτε να βρείτε πρόσθετη βιβλιογραφία στην ιστοσελίδα [Fungitell.com](https://www.fungitell.com)

Μπορείτε να λάβετε έναν συνοπτικό περιγραφικό οδηγό της διαδικασίας της εξέτασης από την ιστοσελίδα της [Fungitell.com](https://www.fungitell.com/pdfs/Fungitell_ProcedureOutline_PR18-016.pdf) στη διεύθυνση: https://www.fungitell.com/pdfs/Fungitell_ProcedureOutline_PR18-016.pdf