



PN001268-zhzh 修訂版 13 REF FT001 2024-09-05

請訪問 www.acciusa.com，獲取相應語言的使用說明。本產品僅供體外診斷使用和專業人士使用。

1. 預期用途

Fungitell[®] 測定是一種基於蛋白酶原的比色測定，用於定性檢測具有侵襲性真菌感染症狀或具有使患者易患侵襲性真菌感染的身體狀況的患者血清中的 (1→3)-β-D-葡聚醣。(1→3)-β-D-葡聚醣是多種醫學上重要的真菌的主要細胞壁組分¹，其血清濃度可用於輔助診斷深部真菌病和真菌血症²。陽性結果並不表明哪種真菌屬可能在引起感染。

(1→3)-β-D-葡聚醣滴度應與其他診斷檢查程序結合使用，如微生物培養、活檢樣本的組織學檢查和放射學檢查。

重要資訊
將此資訊提供給索取資料的醫師： <i>某些真菌，比如隱球菌屬，它產生的 (1→3)-β-D-葡聚醣水平極低，可能不會導致血清 (1→3)-β-D-葡聚醣升高到足以通過測定檢測到</i> ^{3,4} 。另外，還觀察到毛霉目真菌感染，例如犁頭霉菌、毛霉菌和根霉屬 ^{1,4} ，此前並不知道它們會產生 (1→3)-β-D-葡聚醣，這些真菌也會產生較低水平的血清 (1→3)-β-D-葡聚醣滴度。此外，皮茨芽生菌的酵母階段幾乎不產生 (1→3)-β-D-葡聚醣，可能無法通過測定檢測到 ⁵ 。
在報告 Fungitell [®] 測定檢測結果時要附上此聲明。

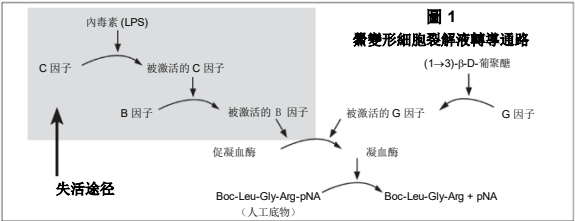
2. 摘要與說明

由機會性病原體引起的真菌感染的發生率不斷增加，尤其是免疫功能低下的患者^{6,7,8}。作為機會性感染的侵襲性真菌病在血液系統惡性腫瘤和 AIDS 患者中很常見，並且導致越來越多的院內感染，特別是器官移植受體和其他接受免疫抑制治療的患者^{9,10}。許多真菌病是通過吸入源自土壤、植物碎屑、空氣處理系統和/或暴露表面的真菌孢子感染的。有些機會性真菌在人體皮膚上、胸道和粘膜內就存在^{11,12}。侵襲性真菌病和真菌血症的診斷通常基於非特異性診斷或放射學技術。最近，可供選擇的診斷方法中增加了真菌感染生物標誌物[。]

機會性真菌病原體包含念珠菌屬、曲霉菌屬、鐮刀菌屬、毛孢子菌屬、釀酒酵母、枝頂孢屬、粗球孢子菌、英膜組織胞漿菌、申克孢子絲菌、喙狀凸膀胱以及耶氏肺炎孢子菌。Fungitell[®] 測定可以檢測由這些生物和其他生物產生的 (1→3)-β-D-葡聚醣^{1,8,13,14}。

3. 測定程序原理

Fungitell[®] 測定測量 (1→3)-β-D-葡聚醣。該測定基於對巯變形細胞裂解液 (LAL) 轉導通路的改進^{15,16,17,18}（圖 1）。Fungitell[®] 試劑經過改良，消除細菌內毒素反應性，從而僅通過 G 因子介導側轉導通路與 (1→3)-β-D-葡聚醣反應。(1→3)-β-D-葡聚醣會激活 G 因子，G 因子是一種絲氨酸蛋白酶。被激活的 G 因子將無活性的促凝血酶轉化為有活性的凝血酶，後者又會從生色肽底物 Boc-Leu-Gly-Arg-pNA 裂解對硝基苯胺 (pNA)，產生一種生色團，即對硝基苯胺，吸收波長 405 nm。下文所述的 Fungitell[®] 動力學測定基於對樣本產生的光密度增加速率的測定。對照標準曲線校讀該速率，產生樣本中 (1→3)-β-D-葡聚醣濃度的估計值。



4. Fungitell[®] 試劑盒隨附的材料

Fungitell[®] 試劑盒供體外診斷使用。每個試劑盒隨附以下材料，這些材料足夠測定兩塊微量滴定板，110 個孔（每塊 55 個孔）：

- Fungitell[®] 試劑，一種凍乾 (1→3)-β-D-葡聚醣特異性 LAL（兩小瓶）。*Fungitell[®] 試劑由巯（即巯巯）變形細胞裂解液和 Boc-Leu-Gly-Arg-pNA 比色底物組成。其中不含人類或啮乳動物蛋白。*
- Pyrosol[®] 重懸緩衝液（兩小瓶）。可單獨額外購買幾瓶 Pyrosol 重懸緩衝液（型錄號碼 BC051）。*其組分為 0.2 mol Tris 緩衝液。*
- 葡聚醣標準品，茯苓聚糖凍乾 (1→3)-β-D-葡聚醣（兩小瓶）。*要加到的試劑水液量在小瓶標籤上標明。根據內部參考標準在效準。*
- LAL 試劑水 (LRW)（兩瓶）**附註：**玻璃小瓶中的 20 mL 試劑級水 (RGW) 和 LRW 是等效的。
- 鹼性預處理液（兩小瓶），其中含 *0.125 mol KOH 和 0.6 mol KCl*

除標準品外，上述所有材料均不含干擾水平的 (1→3)-β-D-葡聚醣。

5. 需要但未提供的材料

所有材料皆不得含有干擾性葡聚醣。

- 移液器吸頭*（250 µL - 型錄號碼 PPT25 和 1000 µL - 型錄號碼 PPT10）
- 能夠移送 5-25 µL 和 100-1000 µL 液量的移液器。
- 帶注射器頭的連續注射移液器，能夠移送 100 µL
- 試管*，用於標準品系列（校準曲線）製備和組合血清處理試劑的。（12 x 75 mm - 型錄號碼 TB240 或 13 x 100 mm - 型錄號碼 TB013）
- 孵育 (37°C) 板檢測儀，能夠在 405 nm 下讀板（最好能夠在 405 和 490 nm 下進行雙波長監測），動態範圍至少為 2.0 吸光度單位，並結合適當的基於計算機的動力學測定軟體。
- 用於分裝樣本的無菌、不含葡聚醣的試管。可以使用經認證無 RNase、DNase 和無熱原的試管。
- Parafilm[®]
- 96 孔微孔板* **附註：**Fungitell[®] 測定已使用具有以下特徵的板進行驗證：聚苯乙烯、無菌、無塗層、平底、不含干擾性 β 葡聚醣（根據 ACC 規範），單獨包裝。

* 這些產品由 Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) 提供，經認證不含干擾性葡聚醣。

6. 試劑存放

- 將提供的所有試劑盒在 2-8°C 下避光存放。
- 重懸後的 Fungitell[®] 試劑應在 2-8°C 下存放並在 2 小時內使用。或者，重懸後的 Fungitell[®] 試劑可在 -20°C 下冷藏長達 20 天，解凍一次並使用。

7. 警告和注意事項

- 請勿用嘴吸移任何材料。請勿在處理樣本或試劑盒試劑的區域吸菸或飲食。
- 遵守操作和本地安全法規。
- 處理可能具有傳染性或危險性的生物樣本時，請戴上防護手套。戴手套的手應始終被視為已污染；請勿用戴上手套的手接觸眼睛、嘴和鼻子。如果有氣溶膠污染的可能性，請戴上護目鏡和外科口罩。
- 附註：**內容物如有損壞，請勿使用試劑盒。
- 棄置：化學品和製劑的殘留物一般被視為危險廢棄物。此類廢棄物的棄置受國家和地區法律法規的約束。請聯絡本地管理當局或廢棄物管理公司，以獲取有關危廢廢棄物棄置的建議。
- 所有 Fungitell[®] 試劑盒組分的**安全數據表**可從 ACC 網站下載：www.acciusa.com。

7.1 程序上的注意事項

Fungitell[®] 測定需要嚴密注意技術和檢測環境。對技術人員進行測定法和避免污染方面的全面培訓對於測定的有效性至關重要。

- 根據本地法規遵循良好的實驗室管理規範。該測定對污染和移液不準確很敏感。
- 建立一個清潔的測定環境。
- 請注意，來自人體、衣服、容器、水和空氣中灰塵的葡聚醣以及真菌顆粒污染可能會干擾 Fungitell[®] 檢測。

• 可能的污染源：含纖維素的材料，例如紗布、紙巾和紙板、帶棉塞的玻璃移液器和帶纖維素濾紙的移液器吸頭。外科紗布和海綿也可能會釋放大量的 (1→3)-β-D-葡聚醣^{21,22}。有關與患者相關的其他污染源，請參閱檢測的「限制」部分。

• 請勿使用超過有效期的材料。

7.2 樣本處理

• 血樣採集和血清製備應按照適用的本地法規進行。樣本採集：血樣可收集在無菌血清製備管或血清分離管 (SST) 內，供製備血清使用。

• 樣本存放：血清樣本可在 2-8°C 下存放長達 15 天，或在 -20°C 下冷藏長達 27 天或在 -80°C 下存放長達 4 年。

• 樣本標示：樣本應按照機構認可的規範進行明確標示。

8. 測定程序

8.1 儀器設定和檢測程式設計

設定可能會因儀器和軟體不同而異。一般情況下，以下設定適用：設定板檢測儀軟體在 Vmean 模式下收集數據。查閱軟體手冊確定正確設定，以確保計算得出的值是收集的所有數據點的平均光密度變化速率。將檢測儀讀板時間間隔設定為 40 分鐘檢測期間軟體/儀器允許的最小值。軟體波長設定應為 405 nm 扣除 490 nm 下空白對照。建議同時使用兩種波長，但如果無法使用雙波長讀板，請在 405 nm 下讀取檢測並檢查每個患者樣本的動力學曲線是否存在干擾跡象（有關詳細資訊，請參閱第 9.0 節）。孵育溫度設定在 37°C。將混合/板搖動時間設定在開始讀板之前持續 5 – 10 秒。選擇曲線配合設定為「線性/線性」或等效。讀板開始應無任何延遲。

8.2 試劑盒中隨附的葡聚醣標準品的製備

- 以小瓶上標示的 LRW 液量溶解一小瓶葡聚醣標準品，製成 100 pg/mL 溶液。以中速到中高速渦旋至少 30 秒重懸標準品（溶液 1）。葡聚醣溶液應在 2-8°C 下存放並在三天內使用。下列步驟 b-e 所示為標準曲線製備方案示例。
- 在無葡聚醣試管（溶液 2）中混合 500 µL LRW 和 500 µL 溶液 1，製備 50 pg/mL 標準品（溶液 2）。渦旋至少 10 秒。
- 在無葡聚醣試管（溶液 3）中混合 500 µL LRW 和 500 µL 溶液 2，製備 25 pg/mL 標準品（溶液 3）。渦旋至少 10 秒。
- 在無葡聚醣試管（溶液 4）中混合 500 µL LRW 和 500 µL 溶液 3，製備 12.5 pg/mL 標準品（溶液 4）。渦旋至少 10 秒。
- 在無葡聚醣試管（溶液 5）中混合 500 µL LRW 和 500 µL 溶液 4，製備 6.25 pg/mL 標準品（溶液 5）。渦旋至少 10 秒。

8.3 開啟鹼性預處理液

鹼性預處理液可將三螺旋葡聚醣轉化為單鏈葡聚醣^{17,18}，後者在測定時更具反應性。此外，鹼性 pH 值可以使血清蛋白酶和抑制因子失活，這些蛋白酶和抑制因子會干擾測定²⁴。

丟棄小瓶（根據實驗室程序），除非要在後續檢測中使用，在這種情況下，用 Parafilm（使用 Parafilm 面向背襯紙的一面）蓋上。

8.4 微量滴定板排列

在軟體中設定微量滴定板以及標準品 (Std)、陰性對照 (陰性) 和 21 個樣本 (Spl) 的佈局。建議採用以下佈局：

	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		陰性	陰性		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
H												

將標準品濃度輸入軟體設定，分別為 500、250、125、62.5 和 31 pg/mL。請注意，輸入的標準品濃度是上面第 8.2 節中製備的標準品濃度的五倍。這是因為測定中使用的標準品液量為每孔 25 µL，是所用血清樣本液量的五倍（見下文第 8.5 b 節）。因此，血清樣本相對於標準品實際上被稀釋了五倍。五倍標準濃度可以補償這種稀釋。

附註：如果已證明外孔的性能與內孔的性能相當，則可以使用外孔。

附註：標準曲線中不使用陰性對照。

8.5 加入血清和鹼性預處理液

- 室溫下解凍冷凍的血清樣本。充分渦旋所有樣本 - 以中速到中高速設定渦旋至少 30 秒。

b. 將 5 µL 血清樣本轉移到每個指定的孔 (Uk) 中，至少雙份。對每個血清樣本重複此操作。

c. 向每個含有血清的孔中加入 20 µL 鹼性預處理液。確保血清和預處理液滴相互接觸。

附註：根據技術人員的個人偏好，步驟 b 和 c 的順序可顛倒。附註：為避免意外污染，請在向孔中加入樣本和試劑後給微孔板上蓋好蓋子。

d. 攪拌板 5 – 10 秒混合孔內容物（可以使用檢測儀的板攪拌功能），然後在孵育板檢測儀中在 37°C 下孵育 10 分鐘。

8.6 Fungitell[®] 試劑重懸

附註：此操作可在預處理孵育過程中順便進行。重懸時機的一致性將提高再現性，因為 Fungitell[®] 反應在重懸時開始，儘管水平較低。

加入 2.8 mL LRW，然後使用 1000 µL 移液器加入 2.8 mL Pyrosol 重懸緩衝液，重懸一小瓶 Fungitell[®] 試劑。用 Parafilm（使用 Parafilm 面向背襯紙的一面）蓋上小瓶。輕輕旋轉小瓶以完全溶解 - 請勿渦旋。

8.7 加入陰性對照和葡聚醣標準品

在血清預處理孵育結束時（第 8.5 節 d.），從孵育板檢測儀中取出板，向板上加入標準品和陰性對照。推薦的標準品濃度模式：

- 向孔 G2 和 G3 中加入 25 µL LRW。
- 向孔 F2 和 F3 中加入 25 µL 的 6.25 pg/mL 標準品溶液 5，標示為 31.25 pg/mL。
- 向孔 E2 和 E3 中加入 25 µL 的 12.5 pg/mL 標準品溶液 4，標示為 62.5 pg/mL。
- 向孔 D2 和 D3 中加入 25 µL 的 25 pg/mL 標準品溶液 3，標示為 125 pg/mL。
- 向孔 C2 和 C3 中加入 25 µL 的 50 pg/mL 標準品溶液 2，標示為 250 pg/mL。
- 向孔 B2 和 B3 中加入 25 µL 的 100 pg/mL 標準品溶液 1，標示為 500 pg/mL。

8.8 Fungitell[®] 試劑添加和板孵育程序

- 使用連續注射移液器向每個孔（含陰性對照、標準品和樣本）中加入 100 µL Fungitell[®] 試劑。
- 將板插入酶標儀（平衡至 37°C），取下蓋子並搖動 5-10 秒。如果酶標儀沒有提供板搖動功能，則可以使用外部微孔板搖動器。

在 405 nm 扣除 490 nm 空白對照下**不帶蓋**讀板，在 37°C 下讀板 40 分鐘。附註：如果儀器在搖動和讀板之間沒有時間取下蓋子，請在取下蓋子的情況下搖動以確保在不蓋蓋子的情況下讀板。

9. 計算結果

收集數據並分析如下：檢查檢測樣本的動力學曲線圖，並檢查與標準曲線相比是否有除平滑上升之外的其他形態。排除表明存在光學乾擾的曲線圖（例如其動力學形態不擬合標準曲線）。計算 0 到 40 分鐘之間所有點的平均光密度變化速率 (mAU/min)（由軟體完成）。從標準曲線插入樣本 (1→3)-β-D-葡聚醣濃度（由軟體完成）。

10. 質控

- 標準曲線（線性對線性）的相關係數 (r) 應 ≥ 0.980。
- 加入 25 µL LRW 的孔為陰性對照。陰性對照的速率結果（例如 mAU/min）值應小於最低標準速率的 50%。否則，應使用全新試劑重新測定。
- 處理複雜樣本。如果分析人員在樣本檢測中觀察到異常動力學形態，例如渾濁、變色或混濁的樣本（例如嚴重溶血、脂血或膽紅素含有過多的樣本），則必須用 LRW 稀釋樣本並重新檢測。在結果報告中，必須將結果乘以稀釋因子把稀釋因素考慮在內。**通常是在軟體設定中為樣本輸入稀釋因子，自動應用校正。**

附註：

- 檢測的每個使用者皆應制定質控方案，以確保依據適用於其所在地的法規熱線進行檢測。
- 建議在進一步實驗室檢查和良好實驗室管理規範的背景下檢測血清對照樣本（陰性、接近限值或強陽性）。Fungitell[®] 試劑盒中不包含這些內容。

11. 結果的判讀
陰性結果
(1→3)-β-D-葡聚醣值 < 60 pg/mL 判讀為陰性結果。

進行檢測的實驗室應告知主治醫師，並非所有真菌感染皆會導致血清 (1→3)-β-D-葡聚醣水平升高。有些真菌，如隱球菌屬^{3,4}產生的 (1→3)-β-D-葡聚醣水平較低。毛霉屬，如犁頭霉菌、毛霉菌和根霉菌^{1,4}已知不會產生 (1→3)-β-D-葡聚醣。與此類似，皮茨芽生菌在其酵母階段幾乎不產生 (1→3)-β-D-葡聚醣，芽生菌病患者通常在 Fungitell[®] 測定中 (1→3)-β-D-葡聚醣達不到可檢測水平⁵。

