

Platelia *Candida* Ag Plus

1 планшет – ∇ 96

№ 62784

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ОДНОЭТАПНЫЙ ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ СЭНДВИЧ-АНАЛИЗ НА ОСНОВЕ МИКРОПЛАНШЕТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ МАННАНОВОГО АНТИГЕНА *CANDIDA* В ОБРАЗЦАХ СЫВОРОТКИ ИЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.

/Логотип: /Логотип: CE 0459/

IVD/



0001312 - 2020/11

Содержание

1	ПРИМЕНЕНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ.....	3
2	КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ИСПЫТАНИЮ.....	3
3	ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ.....	3
4	РЕАКТИВЫ.....	4
5	ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6	ОБРАЗЦЫ.....	7
7	МЕТОДИКА.....	8
8	ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ.....	11
9	ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ	12
10	ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	12
11	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	18

1 ПРИМЕНЕНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

Platelia Candida Ag Plus представляет собой количественный одноэтапный иммуноферментный сэндвич-анализ на основе микропланшетов, используемый для детектирования маннанового антигена Candida в образцах сыворотки или плазмы крови человека.

Данный набор можно использовать для скрининга или в качестве вспомогательного средства для диагностики инвазивного кандидоза у пациентов из группы риска. Данный набор следует использовать вместе с Platelia Candida Ab Plus (код 62785) в рамках комплексного диагностического анализа, сочетающего внутренние и ятрогенные факторы риска, а также клинические и микологические данные.

Platelia Candida Ag Plus также можно использовать для мониторинга концентрации маннана (в пг/мл) у пациентов из группы риска.

Набор реактивов Platelia Candida Ag Plus можно использовать вручную и на автоматизированных микропланшетных системах.

2 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ИСПЫТАНИЮ

Диагноз инвазивный кандидоз основан на комбинированном детектировании антител и циркулирующих антигенов. Platelia Candida Ag Plus (код 62784) — это тест-система, которая используется в сочетании с набором реактивов Platelia Candida Ab Plus (код 62785), позволяет улучшить раннее детектирование¹³ и чувствительность диагноза в рамках комплексного диагностического анализа, сочетающего внутренние и ятрогенные факторы риска, а также клинические и микологические данные^{12, 15, 16}. Данная комбинация тестов является неотъемлемой частью процесса клинического и лабораторного наблюдения за состоянием пациента, позволяет назначить терапевтическое лечение.¹⁰

Инфекции *Candida* считаются основной причиной внутрибольничных грибковых инфекций. Кандидемия является четвертой по частоте причиной нозокомиальных инфекций кровотока (BSI).^{14, 17, 18} Инвазивный кандидоз представляет собой наиболее серьезную форму инфекций *Candida* с летальным исходом в диапазоне от 30 до 70% среди пациентов с иммуносупрессией. Диагностика до сих пор затруднена по причине недостаточной специфичности клинических симптомов заболеваний и низкой чувствительности посева крови. Диагноз инвазивный кандидоз, после установления которого начинают соответствующее лечение, обычно основан на совокупности данных². В связи с этим диагностика системного кандидоза должна сочетать серологические методы и прямые микологические методы. Детектирование циркулирующих антигенов в сыворотке или плазме крови улучшает диагностику у пациентов с риском развития инвазивного кандидоза^{12, 15, 16}. Основные факторы риска включают в себя нейтропению после химиотерапии или иммуносупрессивного лечения (у онкологических, онкогематологических пациентов и у пациентов, перенесших операцию по трансплантации)^{5, 12}, терапии антибиотиками широкого спектра действия, установки венозных катетеров, парентерального питания, почечного диализа и имплантации протезов (у пациентов, госпитализированных в терапевтические и хирургические отделения интенсивной терапии)^{6, 15, 18}.

Маннан (среди антигенов *Candida*) представляет собой полисахарид, нековалентно связанный с клеточной стенкой дрожжей, и составляет более 7% сухой массы *S. albicans*. Данный антиген является одним из основных биомаркеров для диагностики инвазивного кандидоза. Регулярный мониторинг пациентов с риском развития инвазивного кандидоза, включающий в себя процедуры по определению циркулирующего маннанового антигена и антител к маннану, упрощает процесс диагностики таких инфекций.^{11, 12, 15}

3 ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Тест-система Platelia Candida Ag Plus представляет собой количественный одноэтапный иммуноферментный сэндвич-анализ на основе микропланшетов, позволяющий обнаружить циркулирующий маннановый антиген *Candida* в сыворотке или плазме крови человека. В тесте используется крысиное моноклональное антитело (mAb) EBCA-1, которое направлено против олигоманнозидов *Candida* α 1-5 и которое было охарактеризовано в предыдущих исследованиях 15, 16. Моноклональное антитело EBCA1 используется для:

- Покрытия лунок микропланшетов и связывание маннанового антигена,
- Детектирования антигена, связанного с сенсibilизированным микропланшетом (реактив конъюгата: моноклональное антитело, меченное пероксидазой).

Образцы сыворотки или плазмы крови подвергают термической обработке в присутствии ЭДТА для диссоциации иммунных комплексов и осаждения белков сыворотки, которые могут препятствовать реакции иммуноанализа. Обработанные образцы сыворотки или плазмы крови и конъюгат добавляют в лунки микропланшета, покрытые моноклональным антителом к маннану.

После инкубации при 37 °C полоски промывают для удаления всего несвязанного материала. При наличии в образце человека циркулирующего маннанового антигена образуется комплекс: моноклональное антитело к маннану – маннановый антиген – моноклональное антитело к маннану/пероксидаза.

Затем добавляют раствор хромогена, содержащий субстрат пероксидазы, и инкубируют при комнатной температуре, что позволяет обнаружить любые комплексы, связанные с лункой микропланшета.

Ферментативную реакцию останавливают путем добавления 1 н. раствора серной кислоты. Поглощение (оптическую плотность) образцов и калибратора определяют с использованием спектрофотометра, настроенного на длину волны 450/620 нм.

4 РЕАКТИВЫ

4.1 Описание

Идентификатор на маркировке		Описание	Форма выпуска/приготовление
R1	Микропланшет (Microplate)	Микропланшет (Microplate) 12 стрипов по 8 лунок, сенсibilизированных очищенным рекомбинантным антигеном <i>Aspergillus</i> <i>Определенный ид. номер = 82</i>	1 планшет Готов к использованию
R2	Концентрированный раствор для промывки (20×)	Концентрированный раствор для промывки (20×) Буферный раствор (трис + NaCl), pH 7,4 2% раствор Твин 20 Консервант: ProClin 300 - 0,04%	1 флакон 70 мл Подлежит разбавлению
R3	Калибратор 0	Калибратор 0 пг/мл Буфер трис-NaCl с трегалозой, не содержащий очищенного маннана <i>Candida albicans</i> Консервант: ProClin 300-0,151%	1 флакон 2,0 мл Готов к использованию
R4a	Калибратор 62,5	Калибратор 62,5 пг/мл Буфер трис-NaCl с трегалозой, содержащий очищенный маннан <i>Candida albicans</i> Консервант: ProClin 300 - 0,151%	1 флакон 2,0 мл Готов к использованию
R4b	Калибратор 125	Калибратор 125 пг/мл Буфер трис-NaCl с трегалозой, содержащий очищенный маннан <i>Candida albicans</i> Консервант: ProClin 300 - 0,151%	1 флакон 2,0 мл Готов к использованию
R4c	Калибратор 250	Калибратор 250 пг/мл Буфер трис-NaCl с трегалозой, содержащий очищенный маннан <i>Candida albicans</i> Консервант: ProClin 300 - 0,151%	1 флакон 2,0 мл Готов к использованию
R4d	Калибратор 500	Калибратор 500 пг/мл Буфер трис-NaCl с трегалозой, содержащий очищенный маннан <i>Candida albicans</i> Консервант: ProClin 300 - 0,151%	1 флакон 2,0 мл Готов к использованию
R0	Отрицательный контроль	Отрицательный контроль Сыворотка человека, не содержащая маннана и не содержащая антитела к антигену HBs, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антитела к вирусу гепатита С Консервант: ProClin 300 - 0,3%	2 флакона 1,5 мл Готов к использованию
R5	Положительный контроль	Положительный контроль Сыворотка человека, содержащая маннан и не содержащая антител к антигену HBs, антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, и антител к вирусу гепатита С Консервант: ProClin 300 - 0,15%	2 флакона 1,5 мл Готов к использованию
R6	Конъюгат	Конъюгат Моноклональное антитело к маннану, меченное пероксидазой Бромкрезоловый пурпурный Консервант: ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 17 мл Готов к использованию
R7	Раствор для обработки образцов (Sample Treatment Solution)	Раствор для обработки образцов (Sample Treatment Solution) Кислотный раствор ЭДТА без консерванта	1 флакон 10,5 мл Готов к использованию
R9	Хромоген ТМБ	Раствор хромогена ТМБ Раствор, содержащий < 0,1% 3,3', 5,5' тетраметилбензидин (ТМБ) и < 1,0% H ₂ O ₂	1 флакон 28 мл Готов к использованию
R10	Останавливающий раствор	Останавливающий раствор Раствор серной кислоты (H ₂ SO ₄ 1N)	1 флакон 28 мл Готов к использованию

4.2 Требования к хранению и обращению

Этот набор необходимо хранить при температуре +2-8 °С.

Реактивы можно использовать до истечения срока годности, указанного на упаковке, даже после вскрытия (за исключением особых указаний).

Подлинность	Хранение
R1	После вскрытия герметичного пакета полоски с микролунками хранят при температуре 2–8 °С в течение не более 8 недель в оригинальном пакете с влагопоглотителем, повторно запечатав его лентой.
R2	Рабочий раствор для промывки можно хранить при температуре 2–30 °С в течение 2 недель. Концентрированный раствор для промывки (R2) можно хранить при температуре 2–30 °С до истечения срока годности даже после вскрытия.
R3, R4a, R4b, R4c, R4d, R0, R5	После вскрытия эти реактивы, хранящиеся при температуре 2–8 °С, сохраняют стабильность в течение 8 недель, если они не содержат загрязнений.
R6, R7, R9	После вскрытия эти реактивы, хранящиеся при температуре 2–8 °С, сохраняют стабильность в течение 8 недель, если они не содержат загрязнений.
R10	После вскрытия этот реактив, хранящийся при температуре 2–8 °С, сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на этикетке, если он не содержит загрязнений.

5 ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностического применения *in vitro*.

Изделие пригодно только для использования специалистами в лабораторных условиях.

Для пациента/пользователя/третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с аналогичным режимом нормативно-правового регулирования (Регламент 2017/746/EU о медицинских изделиях для диагностики *in vitro*); сообщите производителю и в национальные компетентные органы, если во время применения данного изделия или в результате его применения произошло серьезное происшествие.

5.1 Меры предосторожности в отношении здоровья и безопасности

- Только квалифицированный персонал, обученный методикам лабораторных исследований и осведомленный о потенциальных опасностях, имеет право работать с данным набором для анализа. Используйте защитную спецодежду, перчатки, средства защиты для глаз/лица, при работе соблюдайте требования Надлежащей лабораторной практики.
- Набор для анализа содержит компоненты крови человека. Ни один из известных методов испытаний не может гарантировать полное отсутствие инфекционных агентов. Таким образом, все производные крови человека, реактивы и образцы крови человека следует использовать так, как если бы они могли передавать инфекционное заболевание, в соответствии с рекомендуемыми универсальными мерами предосторожности при работе с переносимыми кровью патогенами, согласно местным, региональным и национальным нормам.
- Утечка биологических продуктов: пролитые материалы человеческого происхождения следует рассматривать как потенциально инфекционные.
Продукты утечки, не содержащие кислоты, должны быть незамедлительно обеззаражены, включая место утечки, материалы и любые загрязненные поверхности или оборудование с помощью соответствующего химического дезинфицирующего средства, эффективного в отношении потенциальных биологически опасных веществ (чаще всего, с помощью хозяйственного отбеливателя, разбавленного в соотношении 1:10, 70–80% раствора этанола или изопропанола, йодофора (например, 0,5% Wescodyne Plus и т. д.)), после чего места утечки должны быть насухо вытерты. Продукты утечки, содержащие кислоты, должны быть соответствующим образом удалены (вытерты) или нейтрализованы, место утечки следует промыть водой и вытереть насухо. Материалы, использованные для поглощения продуктов утечки, могут потребовать соответствующей утилизации, применимой к биологически опасным отходам. Место утечки должно быть обеззаражено при помощи химических дезинфицирующих средств.

ПРИМЕЧАНИЕ. Не помещайте растворы, содержащие отбеливатель, в автоклав!

- Утилизируйте все образцы и материалы, использованные для проведения теста, как если бы они содержали инфекционный агент. Обращение с лабораторными, химическими или биологическими опасными отходами и их утилизацию следует осуществлять в соответствии со всеми требованиями местных, региональных и национальных руководств.

- Для ознакомления с фразами риска и предупредительными фразами в данном наборе для анализа смотрите коды H и P, указанные на маркировке, а также информацию, представленную в конце данной инструкции по применению. С паспортом безопасности материала можно ознакомиться на сайте www.bio-rad.com.

5.2 Меры предосторожности в связи с методикой

5.2.1 Приготовление

Надежность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил надлежащей лабораторной практики:

- Не используйте набор, если упаковка каких-либо компонентов повреждена.
- Не используйте реактивы с истекшим сроком годности.
- Перед использованием подождите 30 минут для стабилизации реактивов при комнатной температуре (18–30 °C).
- Тщательно восстановите реактивы, не допуская контаминации.
- Рекомендуется использовать одноразовые материалы. Если вы используете стеклянную посуду, тщательно промойте ее и ополосните деионизированной водой.
- Не смешивайте и не используйте реактивы из разных партий в одной серии испытаний.
- Следите за тем, чтобы между окончанием промывки и распределением реактивов микропланшет не высох.
- Название теста и собственный идентификационный номер теста указаны на раме каждого микропланшета. Этот собственный идентификационный номер также указан на каждой полоске.

Platelia Candida Ag Plus: собственный идентификационный номер = 82

- Перед использованием проверьте специальный идентификационный номер. Если идентификационный номер отсутствует или отличается от указанного номера, соответствующего тесту, который предполагается использовать, полоску не следует использовать.

ПРИМЕЧАНИЕ: Допускается использовать партии раствора для промывки (R2, обозначение на этикетке: 20× окрашено зеленым), хромогена (R9, обозначение на этикетке: окрашено бирюзовым) и останавливающего раствора (R10, обозначение на этикетке: 1N окрашено красным), которые отличаются от партий, содержащихся в наборе, при условии, что в данной серии испытаний используется одна партия. Эти реактивы можно использовать с некоторыми другими продуктами нашей компании. Для получения подробной информации обратитесь в нашу техническую службу.

ПРИМЕЧАНИЕ: Раствор для промывки (R2, обозначен зеленым цветом как 20x) нельзя смешивать с промывочным раствором (R2 обозначен* синим цветом как 10X), входящим в наборы реактивов Bio-Rad.*

** на этикетке флакона*

- Проявляющий раствор или рабочий раствор конъюгата следует готовить в чистом пластиковом лотке или в стеклянном контейнере. Рекомендуется использовать одноразовые пластиковые контейнеры. При использовании многоразовых пластиковых контейнеров их можно очищать, замачивая на ночь в дистиллированной воде или растворе для промывки. При использовании стеклянных контейнеров их можно промыть 1 н. раствором HCl, тщательно промыть дистиллированной водой и высушить.
- Проявляющий раствор необходимо хранить в темном месте.
- Ферментативная реакция очень чувствительна к ионам металлов. Следовательно, не следует допускать контакт какого-либо металлического элемента с различными растворами конъюгата или субстрата.
- Проявляющий раствор должен быть бесцветным. Появление синего окрашивания свидетельствует о том, что реактив загрязнен и его нельзя использовать.
- Тщательно перемешивают каждый реактив перед использованием.
- Тщательно перемешивают концентрированный раствор для промывки (R2) перед приготовлением рабочего раствора для промывки, следует соблюдать осторожность во избежание микробной контаминации.
- Необходимо ограничить контакт растворов (сыворотки крови, плазмы крови, конъюгатов) или открытых контейнеров (планшетов, пробирок, пипеток) с воздухом.

5.2.2 Обработка

Соблюдение инструкции по применению необходимо для обеспечения надлежащей работы представленного продукта.

- АНАЛИЗ ЗАМОРОЖЕННЫХ ОБРАЗЦОВ СЫВОРОТКИ ИЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ, КОТОРЫЕ ХРАНИЛИСЬ В НЕУСТАНОВЛЕННЫХ УСЛОВИЯХ, МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РЕЗУЛЬТАТАМ ИЗ-ЗА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГРИБКАМИ И/ИЛИ БАКТЕРИЯМИ.
- Не изменяйте процедуру количественного определения.
- Каждая серия теста с использованием этого набора реактивов должна проводиться до завершения без перерывов. Приемлем перерыв <5 минут между двумя этапами.
- Необходимо проверить пипетки и другое оборудование на точность и исправность работы.
- Не используйте один контейнер для распределения конъюгата и проявляющего раствора.
- Не следует выполнять тест в присутствии реакционно-способных испарений (кислотные, щелочные, альдегидные испарения) или пыли, которые могут изменить ферментативную активность конъюгата.

- Необходимо использовать новый наконечник пипетки для каждого образца.
- Распределение образца следует начинать сразу после распределения конъюгата. Время ожидания между распределением конъюгата и образцов не должно превышать 30 минут.
- Промывка лунок является важным этапом в этой процедуре: необходимо выполнять рекомендуемое количество циклов промывки и убедиться, что все лунки полностью заполнены и полностью опорожнены. Неправильная промывка может привести к получению неточных результатов.
- Следует тщательно выполнять указанные процедуры промывки для обеспечения максимальной эффективности теста. Для некоторых инструментов может потребоваться оптимизация процедуры промывки (увеличение числа этапов промывки и/или объема промывочного буфера для каждого цикла) для достижения приемлемого фонового уровня для отрицательных образцов.
- Контрольные образцы следует подвергнуть термической обработке раствором для обработки образцов (R7) в качестве образцов пациентов, они будут использоваться в качестве контрольных образцов обработки.
- Для обработки образцов и контрольных образцов пробирки следует поставить в нагревательное устройство, если внутри пробирки можно достичь температуру 120°C в нагревательном блоке и 100°C на кипящей водяной бане. Проверьте соответствие температуры спецификации, используя калиброванный термометр, вставленный в пробирку с минеральным маслом и помещенный в нагревательный прибор.
- Для проведения испытания необходимо строго соблюдать заданную температуру и время анализа, а также необходимо использовать рекомендованное оборудование.
- Если для обработки образцов и контрольных образцов используется нагревательный блок, пробирки должны быть точно вставлены в лунки для обеспечения плотного контакта пробирок со стенками и максимального сохранения тепла.
- По вопросам, касающимся адаптации и специальных процедур, следует обращаться к местному торговому представителю.

6 ОБРАЗЦЫ

Тесты выполняют с использованием образцов сыворотки или плазмы, взятых на антикоагулянте, таком как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), гепарин натрия или натрий цитрат.

Следует соблюдать следующие указания применительно к забору образцов, обработке и хранению образцов крови:

- Образцы крови отбирают в соответствии с существующей практикой.
- Для получения сыворотки густку позволяют полностью сформироваться перед центрифугированием.
- Пробирки держат закрытыми.
- После центрифугирования необходимо извлечь сыворотку или плазму крови и поместить их на хранение в закрытую пробирку.
- Образцы хранят при 2–8 °C, если анализ выполняют в течение 5 дней.
- Если анализ не выполнен в течение 5 дней, образцы замораживают при -20 °C (или -80 °C).
- Не следует проводить более пяти циклов замораживания/размораживания. Образцы необходимо осторожно гомогенизировать (Vortex) после размораживания до проведения анализа.

На результаты не влияют образцы, содержащие 60 г/л человеческого альбумина, 200 мг/л неконъюгированного билирубина или 200 мг/л конъюгированного билирубина (соответствующего 100 мг/л неконъюгированного билирубина), 50 г/л гаммаглобулинов, липемические образцы, содержащие эквивалент 30 г/л триолеина (триглицерида) или 5 г/л холестерина или гемолизированные образцы, содержащие 2 г/л гемоглобина. Однако не рекомендуется использовать образцы гиперлипемической или гипергемолизированной сыворотки или плазмы крови.

7 МЕТОДИКА

7.1 Необходимые материалы, не включенные в набор

- Вода стерильная дистиллированная или деминерализованная для разбавления концентрированного раствора для промывки.
 - Натрий гипохлорит (хозяйственный отбеливатель) и натрия бикарбонат
 - Фильтровальная бумага
 - Одноразовые перчатки
 - Клейкая пленка
 - Защитные очки
 - Одноразовые пробирки
 - Автоматические или полуавтоматические, регулируемые или установленные пипетки или многоканальные пипетки для измерения и дозирования объемом от 10 мкл до 1 000 мкл, 1 мл, 2 мл и 10 мл.
 - Мерные цилиндры объемом 25 мл, 50 мл, 100 мл и 1 000 мл.
 - Вихревая мешалка
 - Полипропиленовые микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл с герметичными пробками, способные выдерживать нагревание до 120°C
 - Пробирки с завинчивающейся крышкой: конические пробирки объемом 1,5 мл ИЛИ
 - Пробирки с защелкивающейся крышкой: микропробирки EZ объемом 1,5 мл
 - Замок на крышке микропробирок предотвращает открывание крышек при изменении температуры и давления.
 - Лабораторная настольная центрифуга для полипропиленовых пробирок объемом 1,5 мл, вращающаяся при 10 000 x 1 г
 - Нагревательный блок (одноблочные или двухблочные модели) или кипящая водяная баня при 100°C (*)
 - Плавающий круглый штатив микроцентрифуги для стакана объемом 1 л (в случае использования водяной бани с кипящей водой)
 - Термометр, встроенный в пробирку, заполненную минеральным маслом, для контроля температуры нагревательного устройства
 - Автоматический (EVOLIS или EVOLIS Twin PLUS Bio-Rad systems*) или полуавтоматический процессор
 - Система для ручной мойки микропланшетов
 - Водяная баня или эквивалентный термостат для микропланшетов, термостатически установленный на 37 ± 1 °C*
 - Устройство считывания микропланшетов, оборудованное фильтрами 450 нм, 490 нм и 620–700 нм*
 - Контейнер для биологически опасных отходов
- (*) Для получения более полной информации относительно оборудования, рекомендованного нашим техническим отделом, следует обратиться к местному представителю Bio-Rad .

7.2 Приготовление реактивов

7.2.1 Готовые к использованию реактивы

Реактив 1 (R1): микропланшет

Каждая опорная рама, содержащая 12 полосок, упакована в герметичный пакет. Разрезают пакет ножницами выше шва на 0,5–1 см. Открывают пакет и извлекают раму. Складывают неиспользованные полоски обратно в пакет с влагопоглотителем. Пакет тщательно закрывают и возвращают на хранение при температуре 2–8 °C.

Реактив 3 (R3): Калибратор 0, Реактив 4a (R4a): Калибратор 62,5, Реактив 4b (R4b): Калибратор 125, Реактив 4c (R4c): Калибратор 250, Реактив 4d (R4d): Калибратор 500

Реактив 0 (R0): отрицательный контрольный образец, Реактив 5 (R5): положительный контрольный образец

Контрольные образцы следует подвергнуть термической обработке раствором для обработки образцов (R7) в качестве образцов пациентов, они будут использоваться в качестве контрольных образцов обработки.

Реактив 6 (R6): конъюгат, Реактив 7 (R7): раствор для обработки образца, Реактив 9 (R9): хромоген ТМБ, Реактив 10 (R10): останавливающий раствор

7.2.2 Реактивы для восстановления

Реактив 2 (R2): концентрированный раствор для промывки (20×)

- Разводят в соотношении 1:20 в воде дистиллированной, чтобы получить готовый к использованию раствор для промывки.
- Подготавливают 650 мл на одну пластину из 12 полосок.
- Рабочий раствор для промывки допускается хранить при температуре 2–30 °С не более 2 недель.

7.3 Методика анализа

Следует строго соблюдать процедуру анализа и требованиям надлежащей лабораторной практики.

7.3.1 Обработка образцов сыворотки/плазмы крови и контрольных образцов

Отрицательный контрольный образец (R0) и положительный контрольный образец (R5) необходимо обработать одновременно со всеми образцами пациента путем добавления 100 мкл раствора для обработки (R7). Готовые к использованию калибраторы R3, R4a, R4b, R4c и R4d не следует подвергать данной обработке.

1. Добавляют с помощью пипетки по 300 мкл исследуемой сыворотки/плазмы крови и контрольного образца в отдельные полипропиленовые пробирки объемом 1,5 мл.
2. Добавляют 100 мкл раствора для обработки образцов (R7) в каждую пробирку.
3. Тщательно перемешивают содержимое пробирок вихревым способом.
4. Герметично закрывают пробирки, чтобы они не открылись во время нагревания.

Вариант использования нагревательного блока:

Измеряют температуру внутри пробирок термометром, который вставляют в пробирку с минеральным маслом. После достижения температуры 120°C ставят пробирки с образцами и контрольными образцами в блок.

Пробирки нагревают в течение **6 минут при 120°C. (*)**

ИЛИ

Вариант использования водяной бани:

Измеряют температуру внутри пробирок термометром, который вставляют в пробирку с минеральным маслом. После достижения температуры 100°C ставят пробирки с образцами и контрольными образцами на водяную баню.

Пробирки нагревают в течение **3 минут при 100°C. (*)**

5. Осторожно снимают горячие пробирки с нагревательного блока или водяной бани с кипящей водой и ставят их в центрифугу.
6. Центрифугируют пробирки при 10 000 x 1 г в течение 10 минут. Используют супернатант для обнаружения маннанового антигена.
7. Проверяют надосадочную жидкость, используя следующую методику. Испытание следует провести в течение двух часов после тепловой обработки сыворотки или плазмы.

() Для проведения испытания необходимо строго соблюдать заданную температуру и время анализа, а также необходимо использовать рекомендованное оборудование. Не полагайтесь на температуру, которую отображает прибор, проверьте соответствие температуры спецификациям с помощью калиброванного датчика температуры, вставленного в пробирку с минеральным маслом: внутри пробирки в нагревательном блоке должна достигаться температура 120°C, а в нагревательном блоке – 100°C на кипящей водяной бане.*

Примечание:

- Все образцы, обработанные в соответствии с данной методикой, можно использовать для тест-системы Platelia Aspergillus Ag, поскольку методики обработки образцов идентичны для двух тестов.
- Не следует хранить образцы (отрицательный контрольный образец, положительный контрольный образец и образцы пациентов) после термической обработки.

7.3.2 Метод ИФА

1. **Перед использованием доводят реактивы до комнатной температуры (+18-30 °С), оставляя их не менее чем на 30 минут.**
2. Используют все калибраторы, отрицательный и положительный контрольные образцы при каждом запуске блока для проверки результатов.
3. Готовят рабочий раствор для промывки R2 (см. раздел 7.2).
4. Подготавливают таблицу для идентификации калибраторов, отрицательного контрольного образца, положительного контрольного образца и образцов пациентов в соответствии со следующим планом:
 - A1: положительный контрольный образец R5 (супернатант обработанного контрольного образца)

- В1: калибратор 500 пг/мл (R4d)
- С1: калибратор 250 пг/мл (R4с)
- D1: калибратор 125 пг/мл (R4b)
- E1: калибратор 62,5 пг/мл (R4а)
- F1: калибратор 0 пг/мл (R3)
- G1: отрицательный контрольный образец R0 (супернатант обработанного контрольного образца)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R5	S2	S10									
B	R4d	S3	S11									
C	R4c	S4										
D	R4b	S5										
РЕЗУЛЬТАТ	R4а	S6										
F	R3	S7										
Г	R0	S8										
H	S1	S9										

5. Извлекают держатель планшета и полоски с микролунками (R1) из защитного пакета. Все полоски, которые не будут использоваться в тесте, помещают в пакет с влагопоглотителем и тщательно закрывают пакет.
6. Добавляют с помощью пипетки **100 мкл** супернатанта обработанного образца пациента и 100 мкл супернатанта обработанного контрольного образца R0 и R5 в соответствующие лунки.
7. Затем добавляют с помощью пипетки **100 мкл** R4d, R4c, R4b, R4а и R3 в соответствии с последовательностью обработки планшета.

Примечание: распределение диапазона калибратора можно проверить на данной стадии: цвет соответствующих лунок от оранжевого (R4d) до светло-желтого (R3).

8. Перед использованием перемешивают содержимое флакона R6 посредством переворачивания. При использовании многоканальной пипетки отбирают лишь объем, необходимый для цикла: 2,5 мл на две полоски по 8 лунок.
9. Добавляют **100 мкл** раствора конъюгата (R6) в каждую лунку.
10. **Закрывают микропланшет** при помощи приспособления для заклеивания планшетов, чтобы вся поверхность была закрыта и защищена от воды.
11. Непосредственно после этого микропланшет инкубируют в сухом термостате для микропланшетов в течение 90 ± 10 минут при $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.
12. С планшета снимают клейкое покрытие. Отсасывают содержимое всех лунок в контейнер для биологически опасных отходов (в котором находится натрий гипохлорит). Промывают микропланшет **5 раз с помощью устройства** для мойки микропланшетов (с использованием **800 мкл** рабочего раствора для промывки). После последнего цикла промывки **переворачивают микропланшет на фильтровальной бумаге и слегка постукивают по нему для удаления оставшейся жидкости.**
13. Быстро добавляют 200 мкл раствора хромогена (R9) в каждую лунку, **не допуская воздействия яркого света.**
14. Микропланшет инкубируют в темноте при температуре $+19\text{--}25 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение $30\text{+/-}5$ минут. **На этапе инкубирования не используют клейкую пленку.**
15. Добавляют 100 мкл останавливающего раствора (R10) в каждую лунку, придерживаясь того же порядка и темпа, как при добавлении раствора хромогена. Тщательно перемешивают.
16. Тщательно вытирают дно каждого планшета.
17. Считывают оптическую плотность каждой лунки при длине волны 450 нм (эталонный фильтр 620 нм). Считывание микропланшетов следует проводить **в течение 30 минут** после добавления останавливающего раствора. До считывания полоски должны все время находиться в защищенном от света месте.
18. Перед расшифровкой результатов проверяют соответствие распечатки считывателя плану распределения в микропланшете.

7.4 Контроль качества

Следует использовать калибраторы на каждом микропланшете каждый раз, когда проводится тест.

7.5 Критерии соответствия испытания требованиям

	Валидационные критерии
R4a	Оптическая плотность (OD) R4a должна быть $> 0,280$
R0	Оптическая плотность (OD) R0 должна быть $< OD R4a$
R4a / R3	Соотношение (OD R4a/OD R3) должно быть $> 1,25$
R4b / R4a	Соотношение (OD R4b/OD R4a) должно быть $> 1,15$
R4c / R4b	Соотношение (OD R4c/OD R4b) должно быть $> 1,15$
R4d / R4c	Соотношение (OD R4d/OD R4c) должно быть $> 1,20$
R5	Концентрация R5 должна соответствовать концентрации, указанной на флаконе $\pm 30\%$.

7.6 Расчет/интерпретация результатов

Построение калибровочной кривой

Калибровочную кривую определяют с использованием 5 калибраторов: 0, 10, 20, 40 и 80 УЕ/мл.

Строят калибровочную кривую с использованием 5 калибраторов: 0 пг/мл, 62,5 пг/мл, 125 пг/мл, 250 пг/мл и 500 пг/мл. Строят калибровочную кривую [OD = функция (пг/мл)] посредством фиксирования OD для калибраторов R3, R4a, R4b, R4c и R4d на вертикальной оси (ось Y), затем отмечают соответствующие концентрации в пг/мл на горизонтальной оси (ось X).

Составляют кривую, соединяя последовательные точки калибратора.

Определение концентрации маннана (пг/мл) в испытуемых образцах

Концентрацию маннана, выраженную в пг/мл, можно определить с помощью калибровочной кривой для каждого испытуемого образца.

Интерпретация результатов

- Образцы концентрации менее 62,5 пг/мл ($C < 62,5$) считаются не содержащими **маннановый антиген**.
- Образцы концентрации от 62,5 до 125 пг/мл ($62,5 \leq C < 125$) считаются «**промежуточными**» для **маннанового антигена**.
- Образцы концентрации выше или равной 125 пг/мл ($C \geq 125$) считаются **содержащими маннановый антиген**.

Калибраторы, использованные для построения калибровочной кривой, нельзя использовать для получения точного титрования концентраций выше 500 пг/мл.

Для более точного определения концентрации высокоположительных образцов тест проводят повторно после предварительного разведения супернатанта обработанного образца (новая обработка) в рабочем промывочном растворе в соотношении 1:5 (см. раздел 7.2).

Рассчитывают концентрацию высокоположительных образцов путем умножения полученного титра на 5. «Промежуточный» результат можно подтвердить, отобрав новый образец у пациента в течение нескольких недель после даты отбора образца с промежуточным результатом.

8 ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

1. Отрицательный тест не может исключить диагноз инвазивного кандидоза по причине очень низкой концентрации и быстрого выведения маннанового антигена во время инфекции. Диагноз инвазивный кандидоз можно поставить только после рассмотрения в совокупности клинических, терапевтических, радиологических, цитологических, прямых микологических и серологических данных. Каждый критерий в отдельности следует интерпретировать с осторожностью.
2. Отрицательный тест на маннановый антиген также следует интерпретировать вместе с результатами теста на антитела к маннани: даже в случае инвазивного кандидоза маннановый антиген сложнее обнаружить у пациентов с положительным результатом на антитела к маннани (см. к разделу 10 - Эффективность).
3. Эффективность обнаружения маннанового антигена в сыворотке или плазме крови зависит от частоты тестов, проводимых у пациента. Рекомендуется проводить регулярный мониторинг пациентов с высоким уровнем риска, а также скрининг на антитела к маннани для повышения чувствительности и выявления раннего положительного результата теста.
4. Необходимо придерживаться инструкций для проведения процедуры Platelia Candida Ag Plus и интерпретации результатов при тестировании образцов на наличие маннанового антигена. Перед проведением испытания пользователю набора рекомендуется внимательно прочитать листок-вкладыш. В частности, при пипетировании образцов и реактивов, промывании планшетов и выборе времени стадий инкубации необходимо тщательно соблюдать процедуру проведения испытания.

5. Добавление образцов или реактивов с отклонением от инструкций процедуры может привести к получению ложноотрицательного результата. Повторное испытание дополнительных образцов следует рассматривать при наличии клинического подозрения на инвазивный кандидоз или процедурной ошибки.
6. Загрязнение лунок с отрицательными образцами пациентов положительными контрольными образцами, калибраторами или лунками с образцами пациентов возможно, если содержимое одной лунки переливается в другую лунку из-за грубого обращения с микропланшетом или неправильной техники пипетирования при добавлении реактивов.
7. Функциональные характеристики тест-системы Platelia Candida Ag Plus с образцами неонатальной или педиатрической сыворотки или плазмы не оценивали.
8. Функциональные характеристики тест-системы Platelia Candida Ag Plus для ручного считывания и/или визуального определения результатов установлены не были.
9. Сообщалось о перекрестных реакциях у пациентов, получавших инфузии серий плазмозамещающих средств на основе гидроксипропилкрахмала (таких как Гестерил 6%), используемых для лечения недостаточности кровообращения: гиповолемии, геморрагического шока и септического шока. Таким образом, при интерпретации результатов данного теста следует учитывать введение плазмозамещающих средств на основе гидроксипропилкрахмала.
10. Наблюдались ложноположительные результаты для образцов, которые при проверке являлись реактивными в отношении антител к токсоплазмозу.

9 ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Распространенность маннанового антигена *Candida*, измеренную с помощью тест-системы Platelia Candida Ag Plus, оценивали на панели из 613 образцов от 51 голландского пациента (площадка 2 — Нидерланды), госпитализированного для лечения рака (онкогематологическая патология и негематологический рак у 49 и 2 пациентов соответственно) при интенсивной химиотерапии.

Установили, что 88 из 613 образцов являлись положительными и 51 - промежуточными, что соответствует распространенности $88/613 = 14,4\%$ [ДИ 95%: 11,7–17,4%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и , и $139/613 = 22,7\%$ [ДИ 95%: 19,4–26,2%] с учетом промежуточных результатов как положительных. Что касается пациентов, то из 51 испытуемого пациента у 23 был не менее чем один образец, демонстрирующий положительный результат, а у 14 — не менее чем один образец, демонстрирующий промежуточный результат, и ни одного образца, демонстрирующего положительный результат, при распространенности $23/51 = 45,1\%$ [ДИ 95%: 31,1–59,7%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и $37/51 = 72,6\%$ [ДИ 95%: 58,3–84,1%] с учетом промежуточных результатов как положительных.

Среди 51 пациента у 30 (388 образцов) не было документально подтвержденного инвазивного кандидоза. В числе последних 20 были колонизированы дрожжами (12 *Candida albicans*, 7 *Candida albicans*, связанными с другим видом *Candida*, и 1 пациент был колонизирован не менее чем одним видом *Candida*, не относящимся к *Candida albicans*). У четырех из этих пациентов были клинические симптомы и микробиологические признаки поверхностной инфекции, вызванной *Candida*. У 24 из этих пациентов наблюдалось тяжелое поражение барьера слизистой оболочки. Из соответствующих 388 образцов 41 продемонстрировали положительный результат и 43 — промежуточный, что соответствует распространенности $41/388 = 10,6\%$ [ДИ 95%: 7,7–14,1%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и $84/388 = 21,7\%$ [ДИ 95%: 17,7–26,1%] с учетом промежуточных результатов как положительных. Что касается пациентов, из 30 испытуемых у 10 был не менее чем 1 образец, продемонстрировавший положительный результат, а у 11 представили — не менее чем 1 образец, продемонстрировавший промежуточный результат, и ни одного положительного результата для распространенности $10/30 = 33,3\%$ [ДИ 95%: 17,3–52,8%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и $21/30 = 70,0\%$ [ДИ 95%: 50,6–85,3%] с учетом промежуточных результатов как положительных.

10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данные, представленные ниже, были получены во время оценки посредством тест-системы Platelia Candida Ag Plus. Результаты, полученные в лаборатории, могут от них отличаться.

10.1 Аналитические функциональные характеристики

Все аналитические исследования проводили в научно-исследовательской лаборатории компании «Био-Рад» (Bio-Rad).

10.1.1 Исследование прецизионности

Для тест-системы Platelia Candida Ag Plus исследовали сходимость, внутрилабораторную прецизионность и прецизионность между партиями.

Для исследований сходимости, внутрилабораторной прецизионности и прецизионности между партиями панель воспроизводимости включала 2 отрицательных, 1 промежуточный и 2 положительных образца.

10.1.1.1 Повторяемость

Панель воспроизводимости (Nbr = 5) испытывали в 32-кратной повторности в один и тот же день на тест-системе Platelia Candida Ag Plus из одной испытуемой партии. Для каждого образца определяли среднее значение, стандартное отклонение и процентный коэффициент вариации (CV) по количественным значениям (пг/мл). Резюме данных для настоящего исследования представлено в таблице I.

Таблица I: Результаты исследования сходимости

Панель образцов	Среднее значение (пг/мл)	SD	CV (%)	N
Образец, демонстрирующий низкоотрицательный результат	25,1	4,107	16,3%	32
Образец, демонстрирующий высокоотрицательный результат	54,8	5,205	9,5%	32
Образец, демонстрирующий промежуточный результат	63,8	4,275	6,7%	32
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат	154,1	8,011	5,2%	32
Образец, демонстрирующий среднеположительный результат	261,8	16,930	6,5%	32

CV для образцов, демонстрирующих положительный результат, выраженные количественными значениями (пг/мл), для сходимости составляют $\leq 10\%$.

10.1.1.2 Внутрिलाбораторная прецизионность

Панель прецизионности (Nbr = 5) испытывали дважды в день в течение 20 дней на тест-системе Platelia Candida Ag Plus из одной испытуемой партии (всего 80 повторностей). Для каждого образца по количественным значениям (пг/мл) с использованием вложенной однофакторной модели ANOVA, как описано в руководстве CLSI EP5-A3, исследовали сходимость (между испытаниями, в пределах дня, между днями) и общую прецизионность. Резюме данных для настоящего исследования представлено в таблице II.

Таблица II: Результаты исследования внутрिलाбораторной прецизионности

Идентификационный номер образца	Nbr	Среднее значение (пг/мл)	Повторяемость		Между испытаниями		В пределах дня		Между днями		Общая прецизионность	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Образец, демонстрирующий низкоотрицательный результат	77**	25,0	2,88	11,5%	4,31	17,2%	5,18	20,7%	0,78	3,1%	5,24	20,9%
Образец, демонстрирующий высокоотрицательный результат	79**	54,4	3,97	7,3%	9,47	17,4%	10,27	18,9%	0,00*	0,0%*	10,27	18,9%
Образец, демонстрирующий промежуточный результат	80	70,0	8,58	12,3%	8,68	12,4%	12,21	17,4%	8,04	11,5%	14,62	20,9%
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат	80	161,6	11,63	7,2%	20,92	12,9%	23,93	14,8%	18,71	11,6%	30,38	18,8%
Образец, демонстрирующий среднеположительный результат	79**	264,9	9,48	3,6%	31,90	12,0%	33,28	12,6%	20,30	7,7%	38,98	14,7%

*отрицательные значения дисперсии устанавливают равными 0; CV не подлежит оценке. ** выбросы были удалены из анализа (значение $>$ среднее значение + 3 IQR).

CV для образцов, демонстрирующих положительный результат, выраженные количественными значениями (пг/мл), для внутрिलाбораторной прецизионности составляют $\leq 25\%$.

10.1.1.3 Прецизионность между партиями

Панель прецизионности (Nbr = 5) испытывали в трех повторностях с использованием 3 партий реактивов посредством тест-системы Platelia Candida Ag Plus. Для каждого образца по количественным значениям (пг/мл) с использованием вложенной однофакторной модели ANOVA, как описано в руководстве CLSI EP5-A3, исследовали прецизионность (в пределах партии реактивов, между партиями реактивов) и общую прецизионность. Резюме данных для настоящего исследования представлено в таблице III.

Таблицы III: Результаты исследования прецизионности в пределах партии

Идентификационный номер образца	Nbr	Среднее значение (пг/мл)	В пределах партии реактивов		Между партиями реактивов		Общая прецизионность	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Образец, демонстрирующий низкоотрицательный результат	8*	15,9	2,45	15,5%	4,16	26,2%	4,83	30,5%
Образец, демонстрирующий высокоотрицательный результат	9	39,4	3,81	9,7%	8,21	20,9%	9,05	23,0%
Образец, демонстрирующий промежуточный результат	9	63,8	3,32	5,2%	6,56	10,3%	7,35	11,5%
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат	9	164,3	10,87	6,6%	1,01	0,6%	10,92	6,6%
Образец, демонстрирующий среднеположительный результат	9	257,1	31,72	12,3%	18,82	7,3%	36,89	14,3%

**Выброс результата отклоняется*

CV для образцов, демонстрирующих положительный результат, выраженные количественными значениями (пг/мл), для прецизионности в пределах партии составляют $\leq 15\%$.

10.1.2 Предел обнаружения

Предел обнаружения для тест-системы Platelia Candida Ag Plus определяли в соответствии с требованиями CLSI EP17-A («Оценка способности обнаружения для клинических лабораторных процедур измерения»). В данном исследовании самый низкий уровень маннанового антигена *Candida*, который может быть надежно детектирован с помощью тест-системы Platelia Candida Ag Plus, составляет 55,5 пг/мл.

10.1.3 Диапазон измерений

Калибровочную кривую определяют с использованием 5 калибраторов: 0, 62,5, 125, 250 и 500 пг/мл. Образцы со значением ОП ниже, чем у калибратора R3 (ОП 450/620 нм), обозначают как «<Min». Образцы со значением ОП выше, чем у калибратора R4d (ОП 450/620 нм), обозначают как «>Max».

10.1.4 Диапазон линейности

Чтобы определить диапазон линейности разведения для тест-системы Platelia Candida Ag Plus, 5 высокоположительных образцов были последовательно разведены до соотношения 1:10. Анализ, выполненный в соответствии со статистическим подходом процедуры CLSI EP6-A, демонстрирует диапазон линейности разведения для тест-системы Platelia Candida Ag Plus от 35 до 500 пг/мл.

10.1.5 Аналитическая специфичность

С помощью тест-системы Platelia Candida Ag Plus была исследована панель образцов, отобранных как положительные в отношении маркеров, ассоциированных с заболеванием, отличных от инвазивного кандидоза, которые могут вызывать перекрестные реакции. Эта панель (nbr = 80) включала образцы, демонстрирующие положительный результат в отношении антител к токсоплазмозу (10), миеломе (IgG и IgM) (20), ревматоидному фактору (10), аутоантителам (ANA) (10), антителам человека к Ig мыши (НАМА) (10), двухцепочечной ДНК (10) и *Aspergillus* (10).

При анализе данных 80 образцов установили, что 6 образцов имеют положительные или промежуточные результаты тест-системы Platelia Candida Ag Plus. Установили, что 3 образца имеют положительные результаты и 1 образец имеет промежуточные результаты у пациентов с IgG токсоплазмоза. Установили, что 1 образец *Aspergillus* и 1 образец IgG миеломы имеет промежуточные результаты.

Аналитическая специфичность тест-системы Platelia Candida Ag Plus в этой популяции составляет 96,3% (77/80) с 95% доверительным интервалом [89,4–99,2%] с учетом промежуточных результатов в качестве отрицательных и 92,5% (74/80) с 95% доверительным интервалом [84,4–97,2%] с учетом промежуточных результатов в качестве положительных.

10.1.6 Эффект высокой дозы

Существование возможного эффекта высокой дозы исследовали путем испытания 5 образцов с высоким титром (от 500 до 2000 пг/мл) в различных разведениях. Какими бы ни были образцы, для неразбавленных образцов отрицательного результата не наблюдалось, что указывает на отсутствие эффекта высокой дозы.

10.2 Характеристики клинической эффективности

На 3 различных площадках для оценки клинической специфичности и клинической чувствительности тест-системы Platelia Candida Ag Plus проводили клинические исследования с использованием в общей сложности 852 образцов от 505 пациентов.

10.2.1 Специфичность диагностики

Клиническую специфичность определяли на панели из 416 образцов, отобранных на 2 площадках во Франции и распределенных следующим образом:

- Площадка 1: 216 образцов от 216 французских пациентов-доноров крови.
- Площадка 3: 200 образцов от 200 французских пациентов женского пола, которые во время беременности проходили обследование на токсоплазмоз и у которых не было никаких клинических симптомов инфекции, вызванной *Candida*.

В следующей таблице резюмированы результаты исследования клинической специфичности, полученные на различных площадках для проведения испытаний с помощью тест-системы Platelia Candida Ag Plus.

Таблица IV: Клиническая специфичность тест-системы Platelia Candida Ag Plus

Категория пациентов	Результаты для тест-системы Platelia Candida Ag Plus				
	Количество пациентов			Специфичность (промежуточные результаты, учитываемые как положительные)	Специфичность (промежуточные результаты, учитываемые как отрицательные)
	Положительный результат	Промежуточный результат	Отрицательный результат		
Площадка 1: 216 доноров крови	1	1	214	99,1% ДИ 95% [96,7–99,9%]	99,5% ДИ 95% [97,5–100%]

Площадка 3: 200 беременных женщин, подвергнутых серологическому мониторингу в отношении токсоплазмоза	3	2	195	97,5% ДИ 95% [94,3–99,2%]	98,5% ДИ 95% [95,7–99,7%]
ВСЕГО 416 образцов	4	3	409	98,3% ДИ 95% [96,6–99,3%]	99,0% ДИ 95% [97,6–99,7%]

Общая специфичность тест-системы Platelia *Candida* Ag Plus составляет 98,3% (409/416) с 95% доверительным интервалом [96,6–99,3%] с учетом промежуточных результатов как положительных и 99,0% (412/416) с 95% доверительным интервалом [97,6–99,7%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных.

10.2.2 Диагностическая чувствительность

Клиническую чувствительность тест-системы Platelia *Candida* Ag Plus исследованы на панели из 436 образцов, отобранных у 89 пациентов, госпитализированных на 2 площадках в Нидерландах и Франции. Распределение образцов представлено ниже:

- Площадка 2 (Нидерланды): 225 образцов от 21 голландского пациента, поступившего в больницу для лечения злокачественной гемопатии (острый миелоидный лейкоз, острый лимфатический лейкоз, хронический лимфатический лейкоз, миелома, миелодиспластический синдром, апластическая анемия или неходжкинская лимфома) или негематологического рака путем интенсивной химиотерапии с последующей, при необходимости, трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. У 21 пациента развился инвазивный кандидоз, подтвержденный микробиологически на основании не менее чем одного результата посева крови, положительного в отношении *Candida* spp. 12 из 21 пациента были инфицированы *Candida albicans*. Остальные 9 пациентов были инфицированы другими видами *Candida*: 3 — *Candida glabrata*, 2 — *Candida tropicalis*, 1 — *Candida krusei*, 1 — *Candida dubliniensis*, 1 — *Candida arapsilosis* и 1 — *Candida lusitanae*. Суммарно для испытаний было доступно 225 образцов сыворотки, отобранных у каждого пациента с первого дня госпитализации до окончательной выписки, что варьировалось от 339 до 253 дней после микробиологического подтверждения инвазивного кандидоза.
- Площадка 3 (Франция): 211 образцов от 68 французских пациентов, поступивших в различные отделения реанимации и интенсивной терапии (хирургии, трансплантации, ожогов, травматологии, пульмонологии) или онкогематологии (злокачественная гемопатия). У всех пациентов развился инвазивный кандидоз, микробиологически подтвержденный не менее чем одной культурой, положительной в отношении *Candida* (34 в отношении *Candida albicans*, 15 — *Candida parapsilosis*, 12 — *Candida norvegensis*, 4 — *Candida glabrata*, 2 — *Candida krusei* и 1 — *Candida tropicalis*), в дни до или после отбора испытуемого образца крови. Образцы крови отбирали через 6 дней (в среднем) после получения первого результата посева, положительного в отношении *Candida* (не менее чем 61 день до, не более чем 67 дней после).

Образцы тест-системы Platelia *Candida* Ag Plus также проверили на наличие антител к маннану с помощью набора Platelia *Candida* Ab Plus. Статус пациента в отношении присутствия маннанового антигена *Candida* или антител к маннану *Candida* считается положительным, если результат хотя бы одного из двух испытаний положительный. При отсутствии положительного испытания статус считается промежуточным, если результат хотя бы один из двух испытаний является промежуточным, и отрицательным, если результаты обоих испытаний отрицательны.

В следующих таблицах резюмированы результаты исследования клинической чувствительности, полученные с помощью тест-системы Platelia *Candida* Ag Plus отдельно или в сочетании с тест-системой Platelia *Candida* Ab Plus.

Таблица V: Клиническая чувствительность тест-системы Platelia *Candida* Ag Plus

Клиническая база	Результаты для тест-системы Platelia <i>Candida</i> Ag Plus				
	Количество пациентов (количество образцов)			Чувствительность (промежуточные результаты, учитываемые как отрицательные)	Чувствительность (промежуточные результаты, учитываемые как положительные)
	Положительный результат	Промежуточный результат	Отрицательный результат		
Площадка 2: 21 пациент (225 образцов) не менее чем с одним результатом посева, положительным в отношении <i>Candida</i> spp.	13 (47)	3 (8)	5 (170)	61,9% ДИ 95% [38,4–81,9%]	76,2% ДИ 95% [52,8–91,8%]
Площадка 3: 68 пациентов (211 образцов), демонстрирующие не менее чем один положительный результат посева крови в отношении <i>Candida</i> spp.	35 (86)	7 (14)	26 (111)	51,5% ДИ 95% [39,0–63,8%]	61,8% ДИ 95% [49,2–73,3%]

Всего: 89 пациентов (436 образцов)	45 (133)	10 (22)	31 (281)	53,9% ДИ 95% [43,0–64,6%]	65,2% ДИ 95% [54,3–75,0%]
--	-----------------	----------------	-----------------	-------------------------------------	-------------------------------------

Таблица VI: Клиническая чувствительность комбинации тест-систем *Platelia Candida Ag Plus* и *Platelia Candida Ab Plus*

Клиническая база	Результаты для тест-системы <i>Platelia Candida Ag Plus</i>				
	Количество пациентов (количество образцов)			Чувствительность (промежуточные результаты, учитываемые как отрицательные)	Чувствительность (промежуточные результаты, учитываемые как положительные)
	Положительный результат	Промежуточный результат	Отрицательный результат		
Площадка 2: 21 пациент (225 образцов) не менее чем с одним результатом посева, положительным в отношении <i>Candida spp.</i>	15 (98)	4 (34)	2 (93)	71,4% ДИ 95% [47,8–88,7%]	90,5% ДИ 95% [69,6–98,8%]
Площадка 3: 68 пациентов (211 образцов), демонстрирующих не менее чем один положительный результат посева крови в отношении <i>Candida spp.</i>	48 (122)	8 (40)	12 (49)	70,6% ДИ 95% [58,3–81,0%]	82,4% ДИ 95% [71,2–90,5%]
Всего: 89 пациентов (436 образцов)	63 (220)	12 (74)	14 (142)	70,8% ДИ 95% [60,2–80,0%]	84,3% ДИ 95% [75,0–91,1%]

Общая чувствительность тест-системы *Platelia Candida Ag Plus* составляет 53,9% (48/89) с 95% доверительным интервалом [43,0–64,6%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и 65,2% (58/89) с 95% доверительным интервалом [54,3–75,0%] с учетом промежуточных результатов как положительных.

Клиническая чувствительность тест-системы *Candida Ag Plus* значительно повышается при ее использовании в комбинации с тест-системой *Platelia Candida Ab Plus*. Общая чувствительность комбинированного детектирования маннанового антигена *Candida* и антител к маннану *Candida* составляет 70,8% (63/89) с 95% доверительным интервалом [60,2–80,0%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и 84,3% (75/89) с 95% доверительным интервалом [75,0–91,1%] с учетом промежуточных результатов как положительных.

10.2.3 Диагностическая преждевременность

Из 89 госпитализированных пациентов с площадок 2 и 3 у 55 был отобран и подвергнут испытаниям не менее чем один образец до получения результатов с помощью посева крови.

В следующих таблицах резюмировано число пациентов, у которых был выявлен положительный результат до того, как диагноз инвазивного кандидоза был подтвержден микробиологически на основании хотя бы одного результата посева крови, положительного в отношении *Candida spp.* Промежуточные результаты учитывали как положительные.

Клиническая база	Тест-система <i>Platelia Candida Ag Plus</i>		
	Положительный/промежуточный результат	Отрицательный результат	Преждевременность (%)
Количество пациентов не менее чем с одним положительным образцом сыворотки крови до первого результата посева крови, демонстрирующего положительный результат в отношении <i>Candida spp.</i>			
Площадка 2: 18 пациентов	8	10	44,4% ДИ 95% [21,5–69,2%]
Площадка 3: 37 пациентов	14	23	37,8% ДИ 95% [22,5–55,2%]
Всего: 55 пациентов	22	33	40,0% ДИ 95% [27,0–54,1%]

Клиническая база Количество пациентов не менее чем с одним положительным образцом сыворотки крови до первого результата посева крови, демонстрирующего положительный результат в отношении <i>Candida</i> spp.	Комбинация тест-системы <i>Platelia Candida Ab Plus</i> и тест-системы <i>Platelia Candida Ag Plus</i>		
	Положительный/промежуточный результат	Отрицательный результат	Преждевременность (%)
Площадка 2: 18 пациентов	14	4	77,8% ДИ 95% [52,4–93,6%]
Площадка 3: 37 пациентов	27	10	73,0% ДИ 95% [55,9–86,2%]
Всего: 55 пациентов	41	14	74,6% ДИ 95% [61,0–85,3%]

В 40% случаев (22/55) тест-система *Platelia Candida Ag Plus* диагностировала инвазивный кандидоз до того, как стал известен результат посева крови. Комбинация тест-систем *Platelia Candida Ag Plus* и *Platelia Candida Ab Plus* улучшает раннюю диагностику инвазивного кандидоза. При таком сочетании тест-систем у 74,6% пациентов (41/55) диагноз был поставлен до получения результатов посева крови.

11 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alam, F.F., Mustafa, A.S., Khan, Z.U. 2007. Сравнительная оценка (1,3)-бета-D-глюкана, маннана и антител к маннану, *Candida* snPCR у пациентов с кандидемией. *BMC Infectious Diseases* 7(103): p. 1-9.
2. Asciglu, S., Rex, J.H., de Pauw, B., Bennett, J.E., Bille, J., Crokaert, F., Denning, D.W., Donnelly, J.P., Edwards, J.E., Erjavec, Z., Fiere, D., Lortholary, O., Maertens, J., Meis, J.F., Patterson, T.F., Ritter, J., Selleslag, D., Shah, P.M., Stevens, D.A., Walsh, T.J. 2002. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clinical Infectious Diseases* 34: p. 7-14.
3. Clancy CJ et al. 2018. Diagnosing Invasive Candidiasis. *JCM*.
4. Ellepola, A.N.B., Morrison, C.J. 2005. Laboratory Diagnosis of Invasive Candidiasis. *Journal of Microbiology* 43(No. S): p. 65-84.
5. Ellis, M., Al-Ramadi, B., Bernsen, R., Kristensen, J., Alizadeh, H., Hedstrom U. 2009. Prospective evaluation of mannan and anti-mannan antibodies for diagnosis of invasive *Candida* infections in patients with neutropenic fever. *Journal of medical microbiology* 58(5): p. 606-615.
6. Guery, B.P., Arendrup, M.C., Auzinger, G., Azoulay, E., Borges Sá, M., Johnson, E.M., Müller, E., Putensen, C., Rotstein, C., Sganga, G., Venditti, M., Zaragoza Crespo, R., Kullberg, B.J. 2009. Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part I. Epidemiology and diagnosis. *Intensive Care Med.* 35: p. 55–62.
7. Held J. et al. 2013. Сравнение (1->3)-β-D-глюкана, маннана/антител к маннану и антигена *Cand-ТесCandida* в качестве сывороточных биомаркеров кандидемии. *JCM*
8. Nucci, M., Colombo, A.L. 2007. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 58: p. 77–82.
9. Oliveri, S., Trovato, L., Betta, P., Romeo, M.G., Nicoletti, G. 2008. Experience with the *Platelia Candida* ELISA for the diagnosis of invasive candidiasis in neonatal patients. *Clinical Microbiology and Infection* 14 (4): p. 377-397.
10. Pappas, et al.. 2016. Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*
11. Persat, F., Topenot, R., Piens, M.A., Thiebaut, A., Dannaoui, E., Picot, S. 2002. Evaluation of different commercial ELISA methods for the serodiagnosis of systemic candidiasis. *Mycoses* 45: p. 455–460.
12. Prella, M., Bille, J., Pugnale, M., Duvoisin, B., Cavassini, M., Calandra, T., Marchetti, O. 2005. Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 51: p. 95–101.
13. Rentz, A.M., Halpern, M.T., Bowden, R. 1998. The Impact of Candidemia on Length of Hospital Stay, Outcome, and Overall Cost of Illness. *Clinical Infectious Diseases* 27: p. 781–788.
14. Ruan, S.-Y., Hsueh, P.-R. 2009. Invasive Candidiasis: An Overview from Taiwan. *J. Formos. Med. Assoc.* 108(6): p. 443–451.

15. **Sendid, B., Poirot, J.L., Tabouret, M., Bonnin, A., Caillot, D., Camus, D., Poulain, D.** 2002. Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *J. Med. Microbiol.* 51: p. 433–442.
16. **Sendid, B., Caillot, D., Baccouch-Humbert, B., Klingspor, L., Grandjean, M., Bonnin, A., Poulain, D.** 2003. Contribution of the Platelia *Candida*-specific antibody and antigen tests to early diagnosis of systemic *Candida tropicalis* infection in neutropenic adults. *Journal of Clinical Microbiology* 41(10): p. 4551–4558.
17. **Tortorano, A.M., Peman, J., Bernhardt, H., Klingspor, L., Kibbler, C.C., Faure, O., Biraghi, E., Canton, E., Zimmermann, K., Seaton, S., Grillot, R.** 2004. Epidemiology of Candidaemia in Europe: Results of 28-Month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Hospital-Based Surveillance Study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 23: p. 317–322.
18. **Vardakas, K. Z., Michalopoulos, A., Kiriakidou, K. G., Siampali, E. P., Samonis, G., Falagas, M. E.** 2009. Candidaemia: incidence, risk factors, characteristics and outcomes in immunocompetent critically ill patients. *Clin. Microbiol. Infect.* 15: p. 289–292.
19. **Verduyn Lunel, F.M., Donnelly, J.P., van der Lee, H. A. L., Blijlevens, N.M. A., Verweij, P. E.** 2009. Circulating *Candida*-specific anti-mannan antibodies precede invasive candidiasis in patients undergoing myelo-ablative chemotherapy. *Clin. Microbiol. Infect.* 15(4): p. 380-386.

(RU) • Этот продукт содержит материалы человеческого или животного происхождения. Обращаться с осторожностью.



H314 - H317 - H412
P280 - P305+P351+P338
P301+P330+P331
P303+P361+P353
P333+P313 - P273 - P501

(RU)

Опасно

Вызывает тяжелые ожоги кожи и повреждение глаз. Может вызывать аллергическую кожную реакцию. Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями.

Надевать защитные перчатки/защитную одежду/средства защиты для глаз/средства защиты для лица. ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжите промывать глаза. ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту. ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/принять душ. При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу. Избегать попадания в окружающую среду. Утилизируйте содержимое/контейнер в соответствии с местными/региональными/национальными/международными правилами.

BIO-RAD является торговой маркой компании Bio-Rad Laboratories, Inc. (в определенных юрисдикциях).
PLATELIA является торговой маркой Bio-Rad Europe, GmbH (в определенных юрисдикциях).
Все используемые в настоящем документе торговые марки являются собственностью их владельцев.

Bio-Rad

3, Бульвар Раймон Пуанкаре
92430 Марн-Ла-Кокетт -
Франция, тел.: +33 (0) 1 47 95 60
00

Факс: +33 (0) 1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



/Логотип: CE 0459/

11.2020
0001312