

Platelia Candida Ab Plus

1 планшет – ∇ 96

REF 62785

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ДВУХСТУПЕНЧАТЫЙ НЕПРЯМОЙ ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НА ОСНОВЕ МИКРОПЛАНШЕТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО ЧИСЛА АНТИМАННАНОВЫХ АНТИТЕЛ КЛАССА Ig В ОБРАЗЦАХ СЫВОРОТКИ ИЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.



CE 0459



0001313 – 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	10
9.	ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ.....	11
10.	ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	11
11.	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	16

1. ПРИМЕНЕНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

Platelia *Candida* Ab Plus представляет собой двухступенчатый непрямой иммуноферментный анализ на основе микропланшетов для определения общего числа антиманнанных антител класса Ig в образцах сыворотки или плазмы крови человека.

Данный набор можно использовать для скрининга или в качестве вспомогательного средства для диагностики инвазивного кандидоза у пациентов в группе риска в рамках комплексного диагностического анализа, сочетающего внутренние и ятрогенные факторы риска, а также клинические и микологические данные. Platelia *Candida* Ab Plus также можно использовать для мониторинга концентрации антиманнанных антител (в ЕОП/мл) у пациентов из группы риска.

Рекомендуется использовать данный набор в сочетании с набором Platelia *Candida* Ag Plus (код 62784) с целью улучшения клинической чувствительности и скорости диагностики инвазивного кандидоза.

Набор Platelia *Candida* Ab Plus можно использовать вручную или на автоматизированных микропланшетных системах.

2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ИСПЫТАНИЮ

Диагноз инвазивный кандидоз должен основываться на комбинированном детектировании антител и циркулирующих антигенов¹⁵.

Platelia *Candida* Ab Plus (код 62785) представляет собой тест, который при использовании вместе с набором Platelia *Candida* Ag Plus (код 62784), позволяет улучшить раннее детектирование 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 в качестве вспомогательного средства при выборе метода лечения¹¹.

Инфекции *Candida* считаются основной причиной внутрибольничных грибковых инфекций. Кандидемия является четвертой из наиболее распространенных причин внутрибольничных инфекций кровотока (BSI)^{14,17,18}. Инвазивный кандидоз представляет собой наиболее серьезную форму инфекции *Candida*, уровень смертности у пациентов после иммуносупрессивной терапии составляет 30–70%. 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.

Набор Platelia *Candida* Ab Plus определяет антитела, направленные против *Candida* маннанового антигена, основного компонента клеточной стенки дрожжевого грибка вида *Candida*. Маннан, биомаркер для диагностики кандидоза, является полисахаридом, обладающим высокой иммуногенностью.

Серологический мониторинг антител *anti-Candida* позволяет скоординировать или уточнить диагноз, дополнив результаты микологических исследований^{12,15,16}. Регулярный мониторинг пациентов с риском развития инвазивного кандидоза, включающий в себя процедуры по определению циркулирующего маннанового антигена и антиманнанных антител, упрощает процесс диагностики таких инфекций¹¹.

3. ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Тест Platelia *Candida* Ab Plus представляет собой количественный двухступенчатый непрямой иммуноферментный анализ на основе микропланшетов для определения антиманнанных антител в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Разбавленные образцы сыворотки или плазмы крови распределяют по лункам микропланшета, активированным маннаном, очищенным от *Candida albicans*.

После инкубации при 37 °C полоски промывают для удаления всего несвязанного материала.

Конъюгат (меченые пероксидазой козы античеловеческие IgG/IgA/IgM поликлональные антитела) добавляют в каждую лунку микропланшета и инкубируют при 37 °C.

Если в образце присутствуют антиманнанные антитела, формируется комплекс: маннан - человеческий антиманнан Ig - козы античеловеческое IgG/IgA/IgM антитело/ пероксидаза.

Полосы промывают для удаления любого несвязанного материала.

Добавление хромогена, содержащего субстрат пероксидазы, и инкубирование при комнатной температуре 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	Представление/приготовление 62785
R1	Микропланшет (Microplate)	Микропланшет (Microplate) 12 полосок по 8 лунок, активированные маннаном, очищенным от <i>Candida albicans</i> <i>Собственный идентификационный номер = 84</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 УЕ/мл Трис-NaCl буфер Консервант: метилизотиазолон 0,02%, бромонитродioxidан 0,02%, ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4a	Калибратор 5	Калибратор 5 ЕОП/мл Трис-NaCl буфер Сыворотка человека, содержащая антиманнанные Ab и не содержащая антитела к антигену HBs, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антитела к вирусу гепатита С Консервант: метилизотиазолон 0,02%, бромонитродioxidан 0,02%, ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4b	Калибратор 10	Калибратор 10 УЕ/мл Трис-NaCl буфер Сыворотка человека, содержащая антиманнанные Ab и не содержащая антитела к антигену HBs, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антитела к вирусу гепатита С Консервант: метилизотиазолон 0,02%, бромонитродioxidан 0,02%, ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4c	Калибратор 20	Калибратор 20 УЕ/мл Трис-NaCl буфер Сыворотка человека, содержащая антиманнанные Ab и не содержащая антитела к антигену HBs, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антитела к вирусу гепатита С Консервант: метилизотиазолон 0,02%, бромонитродioxidан 0,02%, ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4d	Калибратор 80	Калибратор 80 УЕ/мл Трис-NaCl буфер Сыворотка человека, содержащая антиманнанные Ab и не содержащая антитела к антигену HBs, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антитела к вирусу гепатита С Консервант: метилизотиазолон 0,02%, бромонитродioxidан 0,02%, ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R6	Конъюгат	Конъюгат Общее число меченых пероксидазой козьих античеловеческих поликлональных антител класса Ig Малахитовый зелёный Консервант: ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 26 мл Готов к использованию
R7a	Разбавитель для образца 1	Разбавитель для образца 1 Трис-NaCl буфер 0,1% Твин 20 Феноловый красный Консервант: ProClin 300 - 0,151%	1 флакон 28 мл Готов к использованию
R7b	Разбавитель для образца 2	Разбавитель для образца 2 Трис-NaCl буфер 0,1% Твин 20 Бромтимоловый синий Консервант: ProClin 300 - 0,151%	1 флакон 26 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 , 1 н.)	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	После вскрытия эти реактивы, хранящиеся при температуре 2–8 °С, сохраняют стабильность в течение 8 недель, если они не содержат загрязнений.
R6, R7a, R7b, 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. Следовательно, со всеми производными крови человека, реактивами и образцами крови человека следует обращаться таким образом, как если бы они могли передавать инфекционное заболевание. Необходимо соблюдать рекомендуемые универсальные меры 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, следует незамедлительно обеззаразить, обработать в том числе 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 Н и Р, 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 °С).
- 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 Ab Plus: собственный идентификационный номер = 84

- 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, обозначенный зеленым как 20×) нельзя смешивать с промывочным раствором (R2, обозначенным* синим как 10×), 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 ополоснуть 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 следует использовать 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.
- 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 сгустку позволяют полностью сформироваться перед центрифугированием.
- Пробирки держат закрытыми.
- После центрифугирования экстрагируют сыворотку или плазму и хранят в закрытой пробирке.
- Образцы хранят при 2–8 °С, если анализ выполняют в течение 4 дней.
- Если анализ не выполнен в течение 4 дней, образцы замораживают при -20 °С (или -80 °С).
- Не следует проводить более трех 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), липемические образцы, содержащие эквивалент 30 г/л триолеина (триглицерида) или 5 г/л холестерина или гемолизованные образцы, содержащие 2 г/л гемоглобина. Однако не рекомендуется использование образцов гиперлипемической или гипергемолизированной сыворотки и образцов, содержащих более 5 г/л гаммаглобулина.

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
- 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 5, Реактив 4b (R4b): Калибратор 10, Реактив 4c (R4c): Калибратор 20, Реактив 4d (R4d): Калибратор 80

Реактив 6 (R6): Конъюгат, Реактив 7a (R7a): Разбавитель образца 1, Реактив 7b (R7b): Разбавитель образца 2, Реактив 9 (R9): Раствор хромогена 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 °C не более 2 недель.

7.3. Методика анализа

Следует строго соблюдать процедуру анализа и требованиям надлежащей лабораторной практики.

1. **Перед использованием доводят реактивы до комнатной температуры (+18-30 °C), оставляя их не менее чем на 30 минут.**
2. В каждой серии испытаний для валидации результатов необходимо использовать все калибраторы.
3. Готовят рабочий раствор для промывки R2 (см. раздел 7.2).
4. Приготавливают таблицу для идентификации калибраторов и образцов, отобранных у пациентов, в соответствии со следующим планом:
 - A1: Калибратор 0 ЕОП/мл (R3)
 - B1: Калибратор 5 ЕОП/мл (R4a)
 - C1: Калибратор 10 ЕОП/мл (R4b)
 - D1: Калибратор 20 ЕОП/мл (R4c)
 - E1: Калибратор 80 ЕОП/мл (R4d)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R3	S4	S12									
B	R4a	S5										
C	R4b	S6										
D	R4c	S7										
E	R4d	S8										
F	S1	S9										
Г	S2	S10										
Н	S3	S11										

5. Предварительно разбавляют образцы непосредственно перед тестированием в отношении 1:20, то есть 10 мкл сыворотки или плазмы + 190 мкл разбавителя испытуемого образца 1 (R7a). После предварительного разбавления образцы приобретают темно-красную окраску.
6. 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.
7. Распределяют 190 мкл разбавителя испытуемого образца 2 (R7b) по лункам, предназначенным для тестируемых образцов, и добавляют 10 мкл предварительно разбавленных в отношении 1:20 образцов, осторожно перемешивают при помощи вакуумной мешалки 2 или 3 раза.
***ПРИМЕЧАНИЕ:** На данном этапе можно проверить распределение, так как после добавления 10 мкл предварительного разбавленного образца лунки, содержащие образцы, окрашиваются в коричневый цвет. Лунка без образца по цвету зеленая.*
8. Затем распределяют **200 мкл** R4d, R4c, R4b, R4a и R3 в соответствии с последовательностью планшета.
9. При возможности (например, при ручной обработке) микропланшет закрывают при помощи **приспособления для заклеивания планшетов**, чтобы вся поверхность была закрыта и защищена от воды.
10. Непосредственно после этого микропланшет инкубируют в сухом термостате для микропланшетов в течение 60 ± 5 минут при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$).
11. При необходимости с планшета снимают клейкое покрытие. Отсасывают содержимое всех лунок в контейнер для биологически опасных отходов (в котором находится натрий гипохлорит). Промывают микропланшет **4 раза с помощью устройства для мойки микропланшетов** (используя **800 мкл** рабочего раствора для промывки). После последнего цикла промывки **переворачивают микропланшет на фильтровальной бумаге и слегка постукивают по нему для удаления оставшейся жидкости.**
12. Перед использованием перемешивают содержимое флакона R6 посредством переворачивания. При использовании многоканальной пипетки берут только объем, необходимый для одной серии: 3,5 мл на две полоски по 8 лунок.
13. Добавляют 200 мкл раствора конъюгата (R6) в каждую лунку.
14. При возможности (например, при ручной обработке) микропланшет закрывают при помощи **приспособления для заклеивания планшетов**, чтобы вся поверхность была закрыта и защищена от воды.
15. Непосредственно после этого микропланшет инкубируют в сухом термостате для микропланшетов в течение 60 ± 5 минут при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$).
16. При необходимости с планшета снимают клейкое покрытие. Отсасывают содержимое всех лунок в контейнер для биологически опасных отходов (в котором находится натрий гипохлорит). Промывают микропланшет **4 раза с помощью устройства для мойки микропланшетов** (используя **800 мкл** рабочего раствора для промывки). После последнего цикла промывки **переворачивают микропланшет на фильтровальной бумаге и слегка постукивают по нему для удаления оставшейся жидкости.**
17. Быстро добавляют 200 мкл раствора хромогена (**R9**) в каждую лунку, **не допуская воздействия яркого света.**
18. Микропланшет инкубируют в темноте при температуре $18\text{--}30 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение $30\text{+/-}5$ минут. **На этапе инкубирования не используют клейкую пленку.**
19. Добавляют 100 мкл останавливающего раствора (R10) в каждую лунку, придерживаясь того же порядка и темпа, как при добавлении раствора хромогена. Тщательно перемешивают.
20. Тщательно вытирают дно каждого планшета.
21. 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.
22. 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 $> 0,160$
R4a / R3	Соотношение (OD R4a/OD R3) должно быть $> 6,00$
R4b / R4a	Соотношение (OD R4b/OD R4a) должно быть $> 1,20$
R4c / R4b	Соотношение (OD R4c/OD R4b) должно быть $> 1,20$
R4d / R4c	Соотношение (OD R4d/OD R4c) должно быть $> 1,20$

7.6. Расчет/интерпретация результатов

Построение калибровочной кривой

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

Строят калибровочную кривую [OD = функция (УЕ/мл)] посредством фиксирования OD для калибраторов R3, R4a, R4b, R4c и R4d на вертикальной оси (ось Y), затем отмечают соответствующие концентрации в УЕ/мл на горизонтальной оси (ось X).

Составляют кривую, соединяя последовательные точки калибратора.

Определение концентрации антиманнановых антител (ЕОП/мл) в исследуемых образцах

Концентрацию антиманнановых антител, выраженную в ЕОП/мл, можно определить на основании калибровочной кривой для каждого тестируемого образца.

Интерпретация результатов

- Образцы с концентрацией 5 ЕОП/мл ($C < 5$) расценивают как «отрицательные» в отношении наличия антиманнановых антител.
- Образцы с концентрацией в пределах от 5 до 10 ЕОП/мл ($5 \leq C < 10$) расценивают как «промежуточные» в отношении наличия антиманнановых антител.
- Образцы с концентрацией ≥ 10 ЕОП/мл ($C \geq 10$) расценивают как «положительные» в отношении наличия антиманнановых антител.

Калибраторы, использованные для построения калибровочной кривой, нельзя использовать для получения точного титрования концентраций выше 80 УЕ/мл.

Для более точного определения концентрации высокоположительных образцов необходимо повторно провести тест, выполнив дополнительное предварительное разведение образца разбавителем испытуемого образца 1 (R7a) в соотношении 1:10.

После начального предварительного разведения образца следует придерживаться процедуры, описанной в разделе 7 (предварительное разведение в соотношении 1:20 разбавителем R7a, затем разведение в соотношении 1:20 разбавителем R7b).

Концентрацию высокоположительных образцов рассчитывают посредством умножения концентрации на фактор 10.

«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 инвазивный кандидоз. Интерпретация отсутствия антител представляет сложность у пациентов с ослабленной иммунной системой. 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 присутствие антиманнановых антител также следует сравнить с результатами теста на маннановый антиген: даже в случае инвазивного кандидоза антиген сложнее обнаружить у пациентов с положительным результатом на антиманнановые антитела (смотрите 10 - Эффективность).
3. Определение антиманнановых антител в сыворотке или плазме связано с частотой проведения тестов у пациента. Регулярный мониторинг пациентов из группы риска и тестирование на маннановый антиген рекомендуется проводить для повышения чувствительности и ранней позитивности теста.
4. Необходимо придерживаться инструкций для проведения процедуры Platelia Candida Ab Plus и интерпретации результатов при тестировании образцов на наличие антиманнановых антител. Перед проведением испытания пользователю набора рекомендуется внимательно прочитать листок-вкладыш. В частности, при пипетировании образцов и реагентов, промывании планшетов и выборе времени стадий инкубации необходимо тщательно соблюдать процедуру проведения испытания.

5. Добавление образцов или реагентов 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 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 реагентов.
7. Функциональные характеристики тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus с образцами неонатальной или педиатрической сыворотки или плазмы не оценивали.
8. Функциональные характеристики тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus для ручного считывания и/или визуального определения результатов установлены не были.
9. Ложноположительные результаты наблюдались для образцов, содержащих более 5 г/л человеческих гаммаглобулинов, а также для некоторых образцов, которые давали положительный результат в отношении ревматоидного фактора или наличия антител к двухцепочечной ДНК или антител класса IgG к *Aspergillus*.

9. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Распространенность антител к специфическому маннановому антигену *Candida*, измеренную с помощью тест-системы Platelia *Candida* Ab 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.

Из 613 образцов 114 продемонстрировали положительный результат, а 136 — промежуточный результат с распространенностью $114/613 = 18,6\%$ [95% ДИ: 15,6—21,9%] (при этом промежуточные результаты рассматривали как отрицательные) и $250/613 = 40,8\%$ [95% ДИ: 36,9—44,8%] (при этом промежуточные результаты рассматривали как положительные). Что касается пациентов, то из 51 испытуемого пациента у 14 был не менее чем один образец, демонстрирующий положительный результат, а у 20 — не менее чем один образец, демонстрирующий промежуточный результат, и ни одного образца, демонстрирующего положительный результат, при распространенности $14/51 = 27,5\%$ [95% ДИ: 15,9—41,7%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и $34/51 = 66,7\%$ [95% ДИ: 52,1—79,2%] 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 53 продемонстрировали положительный результат и 95 — промежуточный, что соответствует распространенности $53/388 = 13,7\%$ [95% ДИ: 10,4—17,5%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и $148/388 = 38,1\%$ [95% ДИ: 33,3—43,2%] с учетом промежуточных результатов как положительных. Что касается пациентов, из 30 испытуемых у 7 был не менее чем 1 образец, продемонстрировавший положительный результат, а у 12 представили — не менее чем 1 образец, продемонстрировавший промежуточный результат, и ни одного положительного результата для распространенности $7/30 = 23,3\%$ [95% ДИ: 9,9—42,3%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных и $19/30 = 63,3\%$ [95% ДИ: 43,9—80,1%] с учетом промежуточных результатов как положительных.

10. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данные, представленные ниже, были получены во время оценки посредством тест-системы Platelia *Candida* Ab 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* Ab Plus исследовали сходимость, внутрилабораторную прецизионность и прецизионность между партиями.

Для исследований сходимости, внутрилабораторной прецизионности и прецизионности между партиями панель воспроизводимости включала 1 отрицательный, 1 промежуточный и 4 положительных образца.

10.1.1.1 Повторяемость

Панель воспроизводимости (Nbr = 6) испытывали в 30-кратной повторности в один и тот же день на тест-системе Platelia *Candida* Ab Plus из одной испытуемой партии. Для каждого образца определяли среднее значение, стандартное отклонение и процентный коэффициент вариации (CV) по количественным значениям (ЕОП/мл). Резюме данных для настоящего исследования представлено в таблице I.

Таблица I: Результаты исследования сходимости

Панель образцов	Среднее значение (ЕОП/мл)	SD	CV (%)	Nbr
Образец, демонстрирующий отрицательный результат	3,1	0,123	3,9%	30
Образец, демонстрирующий промежуточный результат	7,9	0,547	6,9%	30
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат (№ 1)	10,2	0,424	4,2%	30
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат (№ 2)	10,1	0,464	4,6%	30
Образец, демонстрирующий среднеположительный результат	38,4	3,836	10,0%	30
Образец, демонстрирующий высокоположительный результат	67,6	4,070	6,0%	30

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

10.1.1.2 Внутрिलाбораторная прецизионность

Панель прецизионности (Nbr = 6) испытывали дважды в день в течение 20 дней на тест-системе Platelia *Candida* Ab Plus из одной испытуемой партии (всего 80 повторностей). Для каждого образца по количественным значениям (ЕОП/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 (ЕОП/мл)	Повторяемость		Между испытаниями		В пределах дня		Между днями		Общая прецизионность	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Образец, демонстрирующий отрицательный результат	80	3,5	0,204	5,7%	0,258	7,3%	0,329	9,3%	0,057	1,6%	0,33	9,4%
Образец, демонстрирующий промежуточный результат	80	8,2	0,380	4,7%	0,490	6,0%	0,620	7,6%	0,541	6,6%	0,82	10,1%
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат (№ 1)	80	11,5	0,481	4,2%	1,191	10,3%	1,284	11,2%	0,764	6,6%	1,49	13,0%
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат (№ 2)	80	11,4	0,872	7,6%	0,963	8,4%	1,299	11,4%	0,671	5,9%	1,46	12,8%
Образец, демонстрирующий среднеположительный результат	80	32,8	2,211	6,7%	5,316	16,2%	5,757	17,6%	2,656	8,1%	6,34	19,3%
Образец, демонстрирующий высокоположительный результат	80	62,6	1,860	3,0%	7,026	11,2%	7,269	11,6%	0,000*	0,0%*	7,27	11,6%

*отрицательные значения дисперсии устанавливаются равными 0; CV не может быть оценен.

CV для образцов, демонстрирующих положительный результат, выраженные количественными значениями (ЕОП/мл), для внутрिलाбораторной прецизионности составляют $\leq 20\%$.

10.1.1.3 Прецизионность между партиями

Панель прецизионности (Nbr=6) испытывали в двух повторностях с использованием 3 партий реагентов посредством тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus. Для каждого образца по количественным значениям (ЕОП/мл) с использованием вложенной однофакторной модели ANOVA, как описано в руководстве CLSI EP5-A3, исследовали прецизионность (в пределах партии реагентов, между партиями реагентов) и общую прецизионность. Резюме данных для настоящего исследования представлено в таблице III.

Таблица III: Результаты исследования прецизионности в пределах партии

Идентификационный номер образца	Nbr	Среднее значение (ЕОП/мл)	В пределах партии реагентов		Между партиями реагентов		Общая прецизионность	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Образец, демонстрирующий отрицательный результат	6	2,6	0,10	3,7%	0,40	15,3%	0,41	15,7%
Образец, демонстрирующий промежуточный результат	6	9,9	0,33	3,3%	0,53	5,4%	0,62	6,3%
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат (№ 1)	6	10,2	0,64	6,3%	1,35	13,3%	1,49	14,7%
Образец, демонстрирующий низкоположительный результат (№ 2)	6	10,7	0,53	5,0%	1,99	18,6%	2,06	19,3%

Образец, демонстрирующий среднеположительный результат	6	26,4	2,97	11,3%	0,00*	0,0%*	2,97	11,3%
Образец, демонстрирующий высокоположительный результат	6	40,3	2,21	5,5%	5,70	14,1%	6,11	15,2%

*отрицательные значения дисперсии устанавливаются равными 0; CV не может быть оценен.

CV для образцов, демонстрирующих положительный результат, выраженные количественными значениями (ЕОП/мл), для прецизионности в пределах партии составляют $\leq 20\%$.

10.1.2 Предел обнаружения

Предел обнаружения для тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus определяли в соответствии с требованиями CLSI EP17-A («Оценка способности обнаружения для клинических лабораторных процедур измерения»). В данном исследовании самый низкий уровень антител к специфическому манновому антигену *Candida*, который может быть надежно детектирован с помощью тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus, составляет 0,8 ЕОП/мл.

10.1.3 Диапазон измерений

Калибровочную кривую определяют с использованием 5 калибраторов: 0, 5, 10, 20 и 80 ЕОП/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* Ab Plus, 5 высокоположительных образцов были последовательно разведены до соотношения 1:64 или 1:96. Анализ, выполненный в соответствии со статистическим подходом процедуры CLSI EP6-A, демонстрирует диапазон линейности разведения для тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus от 2 до 80 ЕОП/мл.

10.1.5 Аналитическая специфичность

С помощью тест-системы Platelia *Candida* Ab 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 (npr = 203) включала образцы, демонстрирующие положительный результат в отношении антител к токсоплазме (10), мислеме (IgG и IgM) (20), ревматоидному фактору (31), аутоантителам (ANA) (10), антителам человека к Ig мыши (НАМА) (12), двухцепочечной ДНК (10) и аспергиллам (110).

Из этих 203 образцов 21 оказался положительным, а 39 — неопределимыми с помощью тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus. Из этих мешающих образцов 24 были подтверждены как положительные или неопределенные с помощью других наборов для детектирования *Candida* с маркировкой CE.

Аналитическая специфичность тест-системы Platelia *Candida* Ab Plus в этой популяции составляет 95,0% (170/179) с 95% доверительным интервалом [90,7–97,7%] с учетом промежуточных результатов в качестве отрицательных и 79,9% (143/179) с 95% доверительным интервалом [73,3–85,5%] с учетом промежуточных результатов в качестве положительных.

10.1.6 Эффект высокой дозы

Существование возможного эффекта высокой дозы исследовали путем испытания 6 образцов с высоким титром (от 80 до 290 ЕОП/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* Ab Plus проводили клинические исследования с использованием в общей сложности 836 образцов от 489 пациентов.

10.2.1 Специфичность диагностики

Клиническую специфичность определяли на панели из 400 образцов, отобранных на 2 площадках во Франции и распределенных следующим образом:

- Площадка 1: 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*.
- Площадка 3: 200 образцов от 200 французских пациентов-доноров крови.

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

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

Категория пациентов	Результаты для тест-системы Platelia Candida Ab Plus				
	Количество пациентов			Специфичность (промежуточные результаты, учитываемые как положительные)	Специфичность (промежуточные результаты, учитываемые как отрицательные)
	Положительный результат	Промежуточный результат	Отрицательный результат		
Площадка 1: 200 доноров крови	8	28	164	82,0% 95% ДИ [76,0—87,1%]	96,0% 95% ДИ [92,3—98,3%]
Площадка 3: 200 беременных женщин, подвергнутых серологическому мониторингу в отношении токсоплазма	9	35	156	78,0% 95% ДИ [71,6—83,5%]	95,5% 95% ДИ [91,6—97,9%]
ВСЕГО 400 образцов	17	63	320	80,0% 95% ДИ [75,7—83,8%]	95,8% 95% ДИ [93,3—97,5%]

Общая специфичность тест-системы Platelia Candida Ab Plus составляет 80% (320/400) с 95% доверительным интервалом [75,7–83,8%] с учетом промежуточных результатов как положительных и 95,8% (383/400) с 95% доверительным интервалом [93,3–97,5%] с учетом промежуточных результатов как отрицательных.

10.2.2 Диагностическая чувствительность

Клиническую чувствительность тест-системы Platelia Candida Ab 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 lusitaniae*. 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).

Наряду с использованием тест-системы Platelia Candida Ab Plus те же образцы были испытаны на присутствие специфического маннанового антигена *Candida* с помощью тест-системы Platelia Candida Ag 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 Ab Plus*

Клиническая база	Результаты для тест-системы <i>Platelia Candida Ab 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>	7 (61)	8 (41)	6 (123)	33,3% 95% ДИ [14,6—57,0%]	71,4% 95% ДИ [47,8—88,7%]
Площадка 3: 68 пациентов (211 образцов), демонстрирующих не менее чем один положительный результат посева крови в отношении <i>Candida spp.</i>	30 (71)	13 (51)	25 (89)	44,1% 95% ДИ [32,1—56,7%]	63,2% 95% ДИ [50,7—74,6%]
Всего: 89 пациентов (436 образцов)	37 (132)	21 (92)	31 (212)	41,6% 95% ДИ [31,2—52,5%]	65,2% 95% ДИ [54,3—75,0%]

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

Клиническая база	Комбинация тест-систем <i>Platelia Candida Ab Plus</i> и <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% 95% ДИ [47,8—88,7%]	90,5% 95% ДИ [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% 95% ДИ [58,3—81,0%]	82,4% 95% ДИ [71,2—90,5%]
Всего: 89 пациентов (436 образцов)	63 (220)	12 (74)	14 (142)	70,8% 95% ДИ [60,2—80,0%]	84,3% 95% ДИ [75,0—91,1%]

Общая чувствительность тест-системы *Platelia Candida Ab Plus* составляет 41,6% (37/89) с 95% доверительным интервалом [31,2—52,5%] 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 Ab Plus* значительно повышается при ее использовании в комбинации с тест-системой *Platelia Candida Ag 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 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.	Тест-система <i>Platelia Candida Ab Plus</i>		
	Положительный/промежточный результат	Отрицательный результат	Ранняя диагностика (%)
Площадка 2: 18 пациентов	11	7	61,1% 95% ДИ [35,8—82,7%]
Площадка 3: 37 пациентов	21	16	56,8% 95% ДИ [39,5—73,0%]
Всего: 55 пациентов	32	23	58,2% 95% ДИ [44,1—71,4%]

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-систем <i>Platelia Candida Ab Plus</i> и <i>Platelia Candida Ag Plus</i>		
	Положительный/промежточный результат	Отрицательный результат	Преждевременность (%)
Площадка 2: 18 пациентов	14	4	77,8% 95% ДИ [52,4—93,6%]
Площадка 3: 37 пациентов	27	10	73,0% 95% ДИ [55,9—86,2%]
Всего: 55 пациентов	41	14	74,6% 95% ДИ [61,0—85,3%]

В 58% случаев (32/55) тест-система *Platelia Candida Ab 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. Comparative evaluation of (1,3)-beta-D-glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and *Candida* species-specific snPCR in patients with candidemia. *BMC Infectious Diseases* 7(103): p. 1-9.
2. Ascioğlu, 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 Sä, 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. Comparison of (1->3)-β-D-glucan, mannan/anti-mannan antibodies, and Cand- Tec *Candida* antigen as serum biomarkers for candidemia. *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 candidiosis 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 candidiosis. *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., Siampli, 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.

- (BG)** • Този продукт съдържа материали с човешки или животински произход. Работете с него внимателно.
- (CZ)** • Tento produkt obsahuje materiály z lidských nebo zvířecích zdrojů. Zacházejte s ním opatrně.
- (DE)** • Dieses Produkt enthält Materialien humanen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.
- (DK)** • Dette produkt indeholder humane eller animalske kildematerialer. Ska! håndteres med forsigtighed.
- (RU)** • Этот продукт содержит материалы человеческого или животного происхождения. Обращаться с осторожностью.
- (ES)** • Este producto contiene materiales de origen material o humano. Manipúlelo con cuidado.
- (FR)** • Ce produit contient des substances d'origine humaine ou animale. Manipuler avec précaution.
- (GR)** • Το προϊόν αυτό περιέχει υλικά ανθρώπινης ή ζωικής προέλευσης. Να το μεταχειρίζεστε προσεκτικά.
- (HR)** • Ovaj proizvod sadrži materijale ljudskog ili životinjskog podrijetla. Obazrivo postupajte s njim.
- (HU)** • Ez a termék human, illetve állati eredetű anyagokat tartalmaz. Vigyázat, sérülékeny!
- (IT)** • Questo prodotto contiene materiali di origine umana o animale. Trattare con cautela.
- (LT)** • Šiame gaminyje yra žmogiškios arba gyvūninės kilmės medžiagų. Elgtis atsargiai.
- (LV)** • Šis produkts satur cilvēku vai dzīvnieku izcelsmes materiālus. Ievērot piesardzību.
- (NO)** • Dette produktet inneholder kildematerialer fra mennesker eller dyr. Håndteres forsiktig.
- (PL)** • Ten produkt zawiera materiały pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Zachować ostrożność.
- (PT)** • Este produto contém materiais de origem humana ou animal. Manusear com cuidado.
- (RO)** • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manipulați cu atenție.
- (SE)** • Denna produkt innehåller material från människor eller djur. Hantera varsamt.
- (SK)** • Tento produkt obsahuje materiály ľudského alebo zvieracieho pôvodu. S výrobkom zaobchádzajte opatrne.



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. Утилизировать содержимое/контейнер в соответствии с местными/региональными/национальными/международными руководствами.

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
Бульвар Раймон Пуанкаре 3,
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

CE 0459

11.2020
0001313