

Pastorex Staph-Plus

▼ 5 x 50



56353

▼ 1 x 50



56356

Тест для идентификации *Staphylococcus aureus* методом агглютинации

/Логотип: /Логотип: CE 0459/

IVD/



0001325 - 2020/03

Инструкция по применению полностью пересмотрена в соответствии с новой редакцией Европейского Регламентом (ЕС) 2017/746 (IVDR).

Изменения в предыдущей версии выделены серым цветом.

Серым цветом выделены заголовки подразделов, в которые были внесены значительные изменения; такие подразделы требуют внимательного прочтения.

/Логотип: BIO RAD/

1/13 (EN)

Содержание

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

1 ПРИМЕНЕНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

Pastorex Staph-Plus – это ручной количественный тест, предназначенный для идентификации *Staphylococcus aureus* методом агглютинации в предполагаемых колониях стафилококков, полученных на планшетах с культурой на агаре, для диагностики пациентов с ранами или инфекцией дыхательных путей, бактериемией, связанной с оказанием медицинской помощи, внутрибольничной пневмонией.

Тест позволяет одновременно детектировать аффинность к фибриногену (фактор слипания), протеин А и капсулярные полисахариды *Staphylococcus aureus*.

2 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ИСПЫТАНИЮ

Staphylococcus aureus является одним из наиболее часто встречающихся патогенов в клинических образцах. Быстрое разграничение между этим видом и другими менее вирулентными стафилококками имеет большое значение для надлежащего лечения пациентов. Тест для детекции продукции свободной коагулазы (коагулазный тест в пробирке) считается стандартным тестом для дифференциации *S. aureus* и коагулазонегативного стафилококка (CoNS) [1, 2]. Однако, этот тест занимает от 4 до 24 часов, а между партиями могут быть различия в плазме, которые могут повлиять на реакцию [3].

На протяжении многих лет разрабатывались реактивы агглютинации, обеспечивающие более быстрое и надежное детектирование *S. aureus* [4]. Самый ранний из этих тестов состоял из эритроцитов, сенсibilизированных фибриногеном с целью детекции фактора слипания [5]. Позже было разработано второе поколение тестов, в которых использовались покрытые латексными частицами и/или сенсibilизированные эритроциты овец для идентификации *S. aureus* путем одновременного обнаружения фактора слипания и протеина А, которые являются биохимическими характеристиками *S. aureus* [3, 6]. Изначально сообщалось, что эти тесты были очень точными, однако, более поздние исследования показали, что некоторые штаммы *S. aureus* (в основном, метициллин-резистентные штаммы (MRSA)) не агглютинировали при использовании этих тестов методом агглютинации [7, 8, 9]. Исследование этих штаммов показало, что все они обладают капсулярными полисахаридами [8]. Была выдвинута гипотеза о том, что полисахаридная капсула, которая покрывает все бактерии при определенных условиях (прямые образцы, изоляция культуры и клон бактерий), маскирует протеин А и фактор слипания, тем самым предотвращая агглютинацию латексных частиц, сенсibilизированных только для обнаружения фактора слипания и протеина А. После исследований было продемонстрировано, что капсулярные полисахариды типа 5 и типа 8 являются специфическими антигенами, которые присутствуют на поверхности до 80% штаммов *S. aureus* [10].

Поэтому были разработаны тесты латексной агглютинации третьего поколения, которые включали антитела к капсулярным полисахаридам или антитела к группо-специфическим антигенам на клеточной поверхности *S. aureus* [8, 11, 6] и позволяли одновременно обнаруживать фактор аффинности к фибриногену, протеин А и капсулярные полисахариды *S. aureus*. Комбинация фибриногена, иммуноглобулина G и антикапсулярных антител в одном и том же реактиве позволяет распознавать сильно инкапсулированные штаммы *S. aureus*, а также слабо инкапсулированные штаммы. Для сильно инкапсулированных штаммов антикапсулярные полисахаридные антитела агглютинируют бактерии. Для штаммов, утративших полисахаридную капсулу, бактерии агглютинируются фибриногеном и иммуноглобулином G.

3 ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Тест Pastorex Staph-Plus был разработан таким образом, чтобы обеспечить одновременную детекцию следующих трех компонентов, специфичных для *Staphylococcus aureus*:

- 1) фактор аффинности к фибриногену, также именуемый связанной коагулазой или "фактором слипания";
- 2) протеин А, который обладает аффинностью к кристаллизующемуся фрагменту (Fc) гамма-иммуноглобулинов (IgG);
- 3) капсулярные полисахариды *S. aureus*.

Реактив изготовлен из латексных частиц, сенсibilизированных фибриногеном и иммуноглобулином G, а также специфических моноклональных антител к капсулярным полисахаридам *S. aureus* [12, 13, 14, 15].

Изоляты культуры *S. aureus* смешивают с латексным реактивом на предметном стекле. После полного перемешивания предметное стекло визуально оценивают на наличие агглютинации, что указывает на присутствие организмов *S. aureus*.

4 РЕАКТИВЫ

4.1 Описание

А) Pastorex Staph-Plus, код 56356 (50 тестов):

Идентификатор на маркировке	Описание	Форма выпуска/приготовление
Латекс-тест Pastorex Staph-Plus	Красный латекс, сенсibilизированный раствором бычьего альбумина, фибриногеном, иммуноглобулином G и моноклональными антителами, направленными против капсулярных полисахаридов <i>S. aureus</i> . Консервант: <1,5% ProClin 300	1 мл 1 флакон-капельница с красным колпачком, готов к использованию
Отрицательный контроль Pastorex Staph-Plus	Реактив красного латекса, сенсibilизированного раствором бычьего альбумина, для отрицательного контроля. Консервант: <1,5% ProClin 300	1 мл 1 флакон-капельница с белым колпачком, готов к использованию
	Одноразовые карты для реакции агглютинации (8 кругов)	16 одноразовых карт для реакции агглютинации
	Одноразовые палочки для перемешивания	2 x 100 единиц

В) Pastorex Staph-Plus, код 56353 (5 x 50 тестов):

Идентификатор на маркировке	Описание	Форма выпуска/приготовление
Латекс-тест Pastorex Staph-Plus	Красный латекс, сенсibilизированный раствором бычьего альбумина, фибриногеном, иммуноглобулином G и моноклональными антителами, направленными против капсулярных полисахаридов <i>S. aureus</i> . Консервант: <1,5% ProClin 300	5 x 1 мл 1 флакон-капельница с красным колпачком, готов к использованию
Отрицательный контроль Pastorex Staph-Plus	Реактив красного латекса, сенсibilизированного раствором бычьего альбумина, для отрицательного контроля. Консервант: <1,5% ProClin 300	5 x 1 мл 1 флакон-капельница с белым колпачком, готов к использованию
	Одноразовые карты для реакции агглютинации (8 кругов)	4 x 16 одноразовых карт для реакции агглютинации
	Одноразовые палочки для перемешивания	3 x 100 единиц

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.
- **ЛАТЕКС-РЕАКТИВЫ НЕЛЬЗЯ ЗАМОРАЖИВАТЬ.**
- Убедитесь, что колпачки флаконов-капельниц плотно закручены, во избежание попадания загрязнений или высыхания реактивов.
- Храните флаконы с латекс-реактивами в вертикальном положении (в пенопластовой упаковке, имеющейся в наборе).

Подлинность	Стабильность
Латекс-тест	После первого вскрытия: до истечения срока годности, указанного на упаковке, при температуре +2-8°С
Отрицательный контроль	

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/ЕС о медицинских изделиях для диагностики *in vitro*); сообщите производителю и в органы государственной власти, 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 об их потенциальных опасностях, имеет право работать с данной тест-системой. Используйте защитную спецодежду, перчатки, средства защиты глаз/лица; при работе соблюдайте требования Надлежащей лабораторной практики.
- Утилизируйте все образцы и материалы, использованные для проведения теста, как если бы они содержали инфекционный агент. Лабораторные, химические или биологически опасные отходы должны обрабатываться и утилизироваться в соответствии со всеми требованиями местных, региональных и национальных руководств.
- Для ознакомления с рекомендациями по обнаружению опасностей и мерам предосторожности в отношении некоторых химических компонентов данного тестового набора см. **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

- Не используйте набор, если упаковка каких-либо компонентов повреждена.
- Не используйте реактивы с истекшим сроком годности.
- Не смешивайте и не используйте реактивы из разных партий в одном испытании.
- Перед использованием подождите 10 минут для стабилизации реактивов при комнатной температуре (18–30 °С).
- Не прикасайтесь к реакционной поверхности карт для реакции агглютинации.
- Рекомендуется идентифицировать круги на карте с помощью тестов с реактивами до начала процедуры определения подлинности.
- Используйте только пластиковые палочки для перемешивания, поставляемые в наборе, или петлю для перемешивания реактивов с бактериальными колониями.

5.2.2 Обработка

- Не изменяйте процедуру количественного определения.
- Не прикасайтесь к реакционной поверхности карт для реакции агглютинации.
- Проводите тест при комнатной температуре (в диапазоне 18–30°С), избегая расположения под потоком воздуха из кондиционера.
- Перед использованием тщательно встряхивайте реактивы. Перед использованием убедитесь, что латексная суспензия осталась однородной.

- Для обеспечения надлежащего внесения капель всегда удерживайте флаконы-капельницы с реактивом в вертикальном положении.
- Протрите кончик флакона-капельницы с реактивом, чтобы получить капли одинакового размера.
- Меняйте палочку или петлю для перемешивания для каждой реакции.

6 ОБРАЗЦЫ

Тест Pastorex Staph-Plus необходимо проводить со **свежими и хорошо изолированными** потенциальными стафилококковыми колониями (грамположительными, каталазаположительными) на следующей рекомендованной изоляционной среде культуры в агаре:

- Соево-казеиновый агар (напр., Bio-Rad, номер по каталогу 63884)
- Колумбийский кровяной агар (напр., Bio-Rad, номер по каталогу 63804, 63784)
- Агар Бэрда-Паркера
- Маннитол-солевой агар (Чапмена) (напр., Bio-Rad, номер по каталогу 63844)
- MRSASelect II (Bio-Rad, номер по каталогу 63757, 63758, 63759, 63763)
- SASelect (Bio-Rad, номер по каталогу 63748)

7 МЕТОДИКА

7.1 Необходимые материалы

7.1.1 Материалы, включенные в набор

- Все материалы, перечисленные в разделе "Реактивы", и их контроли
- Одноразовые карты для реакции агглютинации (Bio-Rad, номер по каталогу 61723)

7.1.2 Необходимые материалы, не включенные в набор

- Петля для сбора бактериальных колоний
- Секундомер
- Дезинфицирующая баня

7.2 Методика анализа

Каждый потенциальный штамм бактерий стафилококка должен быть протестирован как с помощью латекс-теста, так и отрицательного контроля в специально предназначенных кругах.

- Осторожно встряхните латекс-реактив. Держа флакон-капельницу вертикально, внесите **одну каплю** латекс-реактива в круг на карте для реакции агглютинации.
- Используя петлю или палочку для перемешивания, входящую в комплект, соберите от 1 до 3 потенциальных колоний стафилококков (грамположительных, каталазаположительных) на планшете с агаром.
- Используя петлю или палочку для перемешивания, тщательно эмульгируйте колонии в капле латекса в течение 10 секунд таким образом, чтобы получить однородную суспензию. Затем нанесите суспензию на всю поверхность круга.
- Плавное поворачивайте карту горизонтально, **больше 30 секунд, но максимум 1 минуту**.
- Наблюдайте за любой агглютинацией, видимой невооруженным глазом, **в течение максимум 1 минуты**.

Примечание: На MRSASelect II собирайте колонии розового цвета; на SASelect собирайте колонии розового или оранжевого цвета. Подробную информацию см. в листке-вкладыше в упаковке.

7.3 Контроль качества

- После встряхивания латекс-реактив должен быть полностью однородным.
- Оценивайте тестовый латекс-реактив во время каждого использования путем проверки отсутствия неспецифической агглютинации при нанесении латекса на карту. Латекс следует периодически тестировать (в соответствии с лабораторными процедурами) с использованием ранее идентифицированных штаммов *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. Тестовый латекс-реактив должен агглютинировать с *Staphylococcus aureus* и демонстрировать отсутствие агглютинации с *Staphylococcus epidermidis* в течение максимум 1 минуты.
- Отрицательный контроль должен продемонстрировать отсутствие агглютинации с обоими вышеупомянутыми микроорганизмами.

7.4 Интерпретация результатов

Положительная реакция

На положительную реакцию указывают красные сгустки, видимые невооруженным глазом. Интенсивность и время появления агглютинации зависят от тестируемого штамма.

Агрегаты латексных частиц могут быть разного размера с более или менее мутным розоватым фоном.

Медленная и слабая агглютинация может означать неспецифическую агглютинацию. В случае сомнений проведите анализ еще раз с большим количеством колоний, чем использовали ранее.

Отрицательная реакция

На отрицательную реакцию указывает однородная суспензия молочного цвета без комков после 30 секунд перемешивания. Не делайте вывод об отрицательном результате раньше, чем через 1 минуту.

Интерпретация результатов

Интерпретация	Критерии	
	Латекс-тест	Отрицательный контроль
Положительный результат	Положительная реакция	Отрицательная реакция
Отрицательный результат	Отрицательная реакция	Отрицательная реакция
Результат, не подлежащий интерпретации	Положительная или отрицательная реакция	Положительная реакция

Результат, не подлежащий интерпретации

Реакция не поддается интерпретации, если с отрицательным контролем появляются сгустки. В этом случае определяйте подлинность с помощью другой методики, например, теста на присутствие свободной коагулазы и термостабильной ДНКазы.

8 ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

- а) Сообщалось о ложноположительных результатах с использованием некоторых штаммов стафилококков.
- Сообщалось, что *S. lugdunensis* и *S. schleiferi* обладают фактором аффинности к фибриногену [16, 17] и могут вступать в реакцию с Pastorex Staph-Plus, в зависимости от штаммов и изоляционной среды [11, 18, 6, 19, 20, 21].
 - Некоторые штаммы *S. haemolyticus* распознаются антителами, направленными против капсулярного полисахарида типа 5 [22], и при использовании Pastorex Staph-Plus могут приводить к ложноположительным результатам [11, 18].
 - Согласно описаниям, некоторые штаммы *S. epidermidis* обладают капсулярным полисахаридом типа 8 [23] и при использовании Pastorex Staph-Plus могут давать ложноположительные результаты [24, 18].
 - Сообщалось, что другие стафилококки, такие как *S. cohnii*, *S. capitis* и *S. hominis*, очень редко дают ложноположительные результаты [6, 20, 25, 18, 19].
- б) Некоторые штаммы стафилококков (*S. saprophyticus*, *S. epidermidis*) и *Micrococcus luteus* могут вызывать неспецифическую агрегацию, которая ведет к получению неверных результатов [6, 20, 26].
- в) Бактерия *S. intermedius*, которая, в основном, встречается при патологии у животных и очень редко выделяется у человека, может давать положительную реакцию при использовании классических коагулазных тестов и, следовательно, также может вступать в реакцию с тестами на определение фактора аффинности к фибриногену [21, 17].
- г) Некоторые стрептококки обладают протеином с аффинностью к Fc-фрагментам иммуноглобулинов и поэтому могут вступать в реакцию с латексом [27].
- е) Сообщалось и о неспецифических реакциях для *Candida albicans* [27, 28, 29]. Перед проведением латекс-теста рекомендуется провести окрашивание по Граму и каталазный тест на колониях, подлежащих тестированию.
- ф) Ложноотрицательные реакции могут возникать, если изолированная бактерия *S. aureus* не продуцирует фактор аффинности к фибриногену (фактор слипания), протеин А или капсулярные полисахариды, к которым были получены специфические моноклональные антитела [30, 20].
- г) Ложноотрицательные результаты возможны при недостаточном количестве посевной культуры.
- х) Как и во всех случаях лабораторной диагностики, окончательный диагноз не может быть основан только на результатах одного единственного теста, он должен основываться на совокупности клинических данных и результатов биохимических, цитологических и иммунологических исследований.

9 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 Аналитические функциональные характеристики

9.1.1 Исследование прецизионности

Для определения воспроизводимости и прецизионности теста Pastorex Staph-Plus использовалась панель из 3 образцов. Трехчленная панель для определения воспроизводимости включала 1 отрицательную (колонии *S. epidermidis*) и 2 положительные колонии, состоящие из двух разных штаммов колоний *S. aureus* (штамм 1, использованный для определения фактора активности фибриногена, и штамм 2, использованный для обнаружения капсулярных полисахаридов).

9.1.1.1 Повторяемость

Панель для определения воспроизводимости (N=3) была протестирована в 10 повторностях в один день, с той же партией теста Pastorex Staph-Plus, результаты считывались одним оператором. Отрицательные и положительные члены панели дали одинаковые ожидаемые результаты по всем 10 повторностям.

Таблица I: Результаты исследования сходимости

Повторяемость с тестом Pastorex Staph-Plus	Отрицательный контроль			Латекс-тест		
Член панели штамма	Всего повторностей	Нереактивный	Реактивный	Всего повторностей	Нереактивный	Реактивный
Отрицательный (<i>S. epidermidis</i>)	10	10	0	10	10	0
Положительный (<i>S. aureus</i> , штамм 1)	10	10	0	10	0	10
Положительный (<i>S. aureus</i> , штамм 2)	10	10	0	10	0	10

9.1.1.2 Внутрिलाбораторная прецизионность

Панель для определения воспроизводимости (N=3) использовалась в 20 повторностях двумя независимыми операторами, каждый из которых проводил по 2 повторности в день в течение 5 дней. Как представлено в таблице II, отрицательные и положительные члены панели дали одинаковые ожидаемые результаты по всем 20 повторностям.

Таблица II: Результаты определения прецизионности между анализами, в разные дни и разными операторами

Повторяемость с тестом Pastorex Staph-Plus	Отрицательный контроль			Латекс-тест		
Член панели штамма	Всего повторностей	Нереактивный	Реактивный	Всего повторностей	Нереактивный	Реактивный
Отрицательный (<i>S. epidermidis</i>)	20	20	0	20	20	0
Положительный (<i>S. aureus</i> , штамм 1)	20	20	0	20	0	20
Положительный (<i>S. aureus</i> , штамм 2)	20	20	0	20	0	20

9.1.1.3 Прецизионность между партиями

Панель для определения прецизионности между партиями, включая реактивные и нереактивные колонии штаммов, было протестировано с тремя партиями теста Pastorex Staph-Plus. Как представлено в таблице III, отрицательные и положительные члены панели дали одинаковые ожидаемые результаты по трем партиям.

Таблицы III: Результаты исследования прецизионности в пределах партии

Прецизионность между партиями с тестом Pastorex Staph-Plus		Интенсивность агглютинации (от 0 до 3)*					
		Латекс-тест			Отрицательный контроль		
Член панели штамма		Партия А	Партия В	Партия С	Партия А	Партия В	Партия С
Положительный результат	<i>Staphylococcus aureus</i> (a)	2	3	2,5-	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> (b)	2,5	3	2,5	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> (c)	3	3	3	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> (d)	3	3	3-	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> (e)	3	3	3-	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> (f)	2,5	3	2,5	0	0	0
Отрицательный результат	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (g)	0	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (h)	0	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus kloosii</i> (i)	0	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (j)	0	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus warneri</i> (k)	0	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (l)	0	0	0	0	0	0
Отрицательный результат	Физиологически стерильная вода	0	0	0	0	0	0

Примечание: (*) Интенсивность агглютинации была точно настроена с помощью суффикса .5 и + или - (например, 2.5- находится в диапазоне 2 и 3, с немного меньшей интенсивностью, чем 2.5)

9.1.2 Аналитическая специфичность

Исследование перекрестной реактивности

См. §9.2.1 Диагностическая специфичность с колониями из бактериальных культур.

9.1.3 Эффект прозоны

Поскольку количество тестируемых колоний не может превышать 10 единиц (что дает точные результаты), эффект прозоны при использовании Pastorex Staph-Plus не имеет значения.

9.2 Характеристики клинической эффективности

Исследования клинической эффективности были проведены в одном клиническом центре ретроспективным способом на хорошо описанных и идентифицированных изолятах штаммов, полученных путем культивирования свежих клинических образцов (напр., исследования чувствительности и специфичности). Исследование чувствительности было проведено со штаммами, известными как *Staphylococcus aureus*, с/без устойчивости к оксациллину. Исследование специфичности проводилось с коагулазонегативными штаммами стафилококков (CNS).

Кроме того, клиническая эффективность Pastorex Staph-Plus измерялась посредством поиска в литературе, охватывающего 25 лет (с 1993 по 2018 год), на основе 17 научных публикаций [6, 9, 11, 18, 19, 20, 25 и с 31 по 40]. Диагностическая специфичность и чувствительность описана для 5723 штаммов, включая 2911 клинических штаммов, 2162 коллекций эталонных штаммов и 650 штаммов смешанного происхождения.

9.2.1 Специфичность диагностики

Специфичность с колониями из бактериальной культуры

Специфичность, протестированная в клиническом центре с помощью теста Pastorex Staph-Plus на 77 коагулазонегативных стафилококках (CNS), составляет 98,7% (76/77) при ДИ 95 [93,0–100%] и 1 ложно положительном результате (*S. lugdunensis*).

Специфичность, определенная в результате поиска в литературе (14 ссылок), представляющих 1947 штаммов CNS, составила 97,0% (1889/1947) при ДИ 95 [96,2–97,7%], а ложная реактивность наблюдалась у нескольких из следующих штаммов (*S. schleiferi*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* и *S. cohnii*).

Таблица IV: Специфичность на основе данных из литературы

Первый автор [ссылка]	Первый автор [ссылка]	Специфичность (%)	Количество штаммов
Das D. <i>et al</i> [31]	Клиническая	98,1	52
Weist K. <i>et al</i> [32]		98,0	150
Van Griethuysen A. <i>et al</i> [18]		95,7	443
Araj G.F. <i>et al</i> [33]		94,4	126
Tveten Y. [25]		98,9	87
Wu J.J. <i>et al</i> [34]		100,0	86
Wichelhaus T.A. <i>et al</i> [38]		93,0	100
Cuny C. [39]		98,0	100
Idelevich E.A. <i>et al</i> [20]		99,2	127
Andriesse G.I. <i>et al</i> [19]	Сбор	90,4	83
Davies S. <i>et al</i> [35]		98,8	255
Fournier J.M. <i>et al</i> [11]		100,0	30
Neher C. <i>et al</i> [37]		96,1	128
Brakstad O.G. <i>et al</i> [40]		99,0	96
	Сбор/клиническая	100,0	84
	Всего	97,0	1,947

9.2.2 Диагностическая чувствительность

Чувствительность с колониями из бактериальной культуры

Чувствительность, протестированная в клиническом центре с помощью теста Pastorex Staph-Plus на 123 штаммах *S. aureus*, составляет 98,4% (121/123) при ДИ 95 [94,3–99,8%] и 2 ложноотрицательных результатах (оксациллин-резистентный *S. aureus* (ORSA)).

Чувствительность, определенная в результате поиска в литературе (17 ссылок), представляющих 3568 штаммов *S. aureus*, включая 1354 метициллин-чувствительных штамма *S. aureus* (MSSA) и 1450 метициллин-резистентных штаммов *S. aureus* (MRSA), составляет 99,1% (3536/3568) при ДИ 95 [98,7–99,4%], и ложноотрицательном результате, который чаще наблюдается при штаммах MRSA, чем при MSSA (1,4 против 0,6%, соответственно).

Таблица V: Чувствительность на основе данных из литературы

Первый автор исследования [ссылка]	Источник штамма	Все штаммы		Штаммы MSSA/OSSA		Штаммы MRSA/ORSA	
		Чувствительность (%)	Количество	Чувствительность (%)	Количество	Чувствительность (%)	Количество
Das D. <i>et al</i> [31]	Клиническая	100,0	31				
Weist K. <i>et al</i> [32]		97,8	135	98,8	83	96,2	52
Van Griethuysen A. <i>et al</i> [18]		98,7	449	98,6	278	98,8	171
Araj G.F. <i>et al</i> [33]		99,6	244				
Luijendijk A.D. <i>et al</i> [9]		100,0	300	100,0	222	100,0	78
Tveten Y. [25]		98,4	128	100,0	50	97,4	78
Wu J.J. <i>et al</i> [34]		99,6	267	98,7	75	100,0	192
Idelevich E.A. <i>et al</i> [20]		100,0	86				
	Сбор	97,1	35				
Andriesse G.I. <i>et al</i> [19]		98,3	528	99,24	262	97,4	266
Davies S. <i>et al</i> [35]		100,0	98	100,0	50	100,0	48
Walker C.W.B. [36]		100,0	64			100,0	64
Personne P. <i>et al</i> [6]		99,7	318				
Fournier J.M. <i>et al</i> [11]		98,6	220	100,0	159	95,1	61
Neher C. <i>et al</i> [37]		100,0	99			100,0	99
Wichelhaus T.A. <i>et al</i> [38]	Сбор/клиническая	98,7	231			98,3	181
Cuny C. [39]		100,0	200	100,0	120	100,0	80
Brakstad O.G. <i>et al</i> [40]		98,5	135	100,0	55	97,5	80
	Всего	99,1	3,568	99,4	1,354	98,6	1,450

Примечание: OSSA: оксациллин-чувствительный *Staph. Aureus*

10 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kloos WE. and Lambe DW. *Staphylococcus Manual of Clinical Microbiology*, 5th Ed. Edited by Balows A., Hausler W.J., Hermann K.L., Isenberg H.D., and Shadomy J.J. American Society for Microbiology, Washington, DC., 222-237, 1991.
2. Kloos WE. and Schleifer KH. *Staphylococcus Bergey's manual of systematic bacteriology*. vol. 2, 1013-1035, 1986.
3. Selepack ST. and Witebsky FG. Inoculum size and lot-to-lot variation as significant variables in the tube coagulase test for *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 22:835-837, 1985.
4. Esserts I. and Radebold K. Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. J. Clin. Microbiol., 12:641-643, 1980.
5. Pennels D.R., Rott-Petri J.A., Kurzynski T.A. Evaluation of Three Commercial Agglutination Tests for the Identification of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 20:614-617, 1984.
6. Personne P., Bes M., Lina G., Vandernes F., Brun Y., Etienne J. Comparative Performances of Six Agglutination Kits Assessed by Using Typical and Atypical Strains of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 35:1138-1140, 1997.
7. Ruane P.J., Morgan M.A., Citron D.M., and Mulligan M.E. Failure of rapid agglutination methods to detect oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 24:490-492, 1986.
8. Fournier J.M., Boutonnier A., and Bouvet A. *Staphylococcus aureus* strains which are not identified by rapid agglutination methods are of capsular serotype 5. J. Clin. Microbiol., 27:1372-1374, 1989.
9. Luijendijk A.D., Alex van Belkum, Verbrugh H., and Kluytmans J. Comparison of Five Tests for Identification of *Staphylococcus aureus* from Clinical Samples. J. Clin. Microbiol., 34:2267-2269, 1996.

10. Verdier I., Durand G., Bes M., Taylor KL., Lina G., Vandenesch F., Fattom AI., Etienne J. Identification of the Capsular Polysaccharides in *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates by PCR and Agglutination Tests. J. Clin. Microbiol., 45:725-729, 2007.
11. Fournier JM., Bouvet A., Mathieu D., Nato F., Boutonnier A., Gerbal R., Brunengo P., Saulnier C., Sagot N., Slizewicz B., Mazie J.C. New Latex Reagent Using Monoclonal Antibodies to Capsular Polysaccharide for Reliable Identification of Both Oxacillin-Susceptible and Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 31:1342-1344, 1993.
12. Boutonnier A., Nato F., Bouvet A., Lebrun L., Audurier A., Mazie J.C., and Fournier JM. Direct testing of blood cultures for detection of the serotype 5 and 8 capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 27:989-993, 1989.
13. Fournier JM., Bouvet A., Boutonnier A., Audurier A., Goldstein F., Pierre J., Bure A., Lebrun L., and Hochkeppel H.K. Predominance of capsular polysaccharide type 5 among oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 25:1932-1934, 1987.
14. Hochkeppel HK., Braun DG., Vischer W., Imm A., Sutter S., Staebli U., Guggenheim R., Kaplan EL., Boutonnier A., and Fournier JM. Serotyping and electron microscopy studies of *Staphylococcus aureus* clinical isolates with monoclonal antibodies to capsular polysaccharide types 5 and 8. J. Clin. Microbiol., 25:526-530, 1987.
15. Karakawa WW., Fournier JM., Vann WF., Arbeit R., Schneerson, RS. and Robbins JB. Method for the serological typing of the capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 22:445-447, 1985.
16. Hébert G.A. Hemolysins and Other Characteristics That Help Differentiate and Biotype *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus schleiferi*. J. Clin. Microbiol., 28:2425-2431, 1990.
17. Wilkerson M., McAllister S., Miller M., Heiter BJ., Bourbeau PP. Comparison of Five Agglutination Tests for Identification of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 35:148-151, 1997.
18. Van Griethuysen A., Bes M., Etienne J., Zbinden R., Kluytmans J. International Multicenter Evaluation of Latex Agglutination tests for Identification of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 39:86-89, 2001.
19. Andriesse G.I., Elberts S., Vrolijk A., Verhulst C., Kluytmans J.A.J.W. Evaluation of a fourth-generation latex agglutination test for the identification of *Staphylococcus aureus*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 30:259-264, 2011.
20. Idelevitch E.A., Walther T., Molinaro S., Li X., Xia G., Wieser A., Peters G., Peschel A., Becker K. Bacteriophage-Based Latex Agglutination Test for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 52:3394-3398, 2014.
21. Carricajo A., Treny A., Fonsale N., Bes M., Reverdy ME., Gille Y., Aubert G., Freydiere AM. Performance of the Chromogenic Medium CHROMagar Staph Aureus and the Staphychrom Coagulase Test in the Detection and Identification of *Staphylococcus aureus* in Clinical Specimens. J. Clin. Microbiol., 39:2581-2583, 2001.
22. Poutrel B., Mendolia C., Sutra I., Fournier JM. Reactivity of Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Cow and Goat Milk with Monoclonal Antibodies to *Staphylococcus aureus* Capsular Polysaccharide Types 5 and 8. J. Clin. Microbiol., 28:358-360, 1990.
23. Blake JE., Metcalfe MA. A Shared Noncapsular Antigen Is Responsible for False-Positive Reactions by *Staphylococcus epidermidis* in Commercial Agglutination Tests for *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 39:544-550, 2001.
24. Hollyday MG., Ford M., Perry JD., Gould FK. Rapid Identification of *Staphylococcus aureus* by Using Fluorescent Staphylocoagulase Assays. J. Clin. Microbiol., 37:1190-1192, 1999.
25. Tveten Y. Evaluation of New Agglutination Test for Identification of Oxacillin-Susceptible and Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 33:1333-1334, 1995.
26. Gregson D.B., Low D.E., Skulnick M., Simor A.E. Problems with Rapid Agglutination Methods for Identification of *Staphylococcus aureus* When *Staphylococcus saprophyticus* Is Being Tested. J. Clin. Microbiol., 26:1398-1399, 1988.
27. Kronvall G. A Surface Component in Group A, C, and G Streptococci with Non-Immune Reactivity for Immunoglobulin G. J. Immunology., 11:1401-1406, 1973.
28. Becker K., Almasri A.S., von Eiff C., Peters G., Heilmann C. Fegeler W. Systematic Survey of Nonspecific Agglutination by *Candida* spp. in Latex Assays. J. Clin. Microbiol., 45:1315-1318, 2007.
29. Goncalves Rodrigues A., Pina-Vas C., Costa-de-Oliveira S., Tavares C. Expression of Plasma Coagulase among Pathogenic *Candida* Species. J. Clin. Microbiol., 41:5792-5793, 2003.
30. Compernelle V., Verschaeegen G., Claeys G. Combined Use of Pastorex Staph-Plus and Either of Two New Chromogenic Agars, MRSA ID and CHROMagar MRSA, for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 45:154-158, 2007.
31. Das, D., Gupta, P., Chakraborty, A., & Halder, K. K. Evaluation of Pastorex Staph-Plus Rapid Agglutination Test to Confirm *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Specimens in a Tertiary Care Teaching Hospital. Journal of Advances in Medicine and Medical Research, 26 (2), 1-8, 2018.
32. Weist K., Cimbal A.-K., Lecke C., Kampf G., Rüden H., Vonberg R.-P. Evaluation of six agglutination tests for *Staphylococcus aureus* identification depending upon local prevalence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). Journal of Medical Microbiology 55:3 (283-290) 2006.
33. Araj G.F., Atamian R.B. Reliability of rapid kits for *Staphylococcus aureus* identification. Laboratory Medicine 28:2 (126-130) 1997.

34. Wu J.J., Chang T.C., Chen H.M. Evaluation of four commercial rapid diagnostic kits for identifying *Staphylococcus aureus*. Chinese journal of microbiology and immunology 28:3 (218-225) 1995.
35. Davies S., McIntyre S.M., McKinven A. Evaluation of a new *Staphylococcus aureus* latex agglutination kit, Prolex Staph Xtra, against other third-generation kits. British Journal of Biomedical Science 65:3 (142-144), 2008.
36. Walker C.W.B., Brown D.F.J. Identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by latex agglutination kits: Performance with epidemic strains (EMRSA) and strains causing problems with latex agglutination methods. Clinical Microbiology and Infection 5:1 (53-56) 1999.
37. Neher C., Allerberger F., Prodinger W. Dierich MP. Evaluation of commercially available agglutination tests for methicillin-resistant. 8th ECCMID Congress, Lausanne, 1997. Laboratoriums Medizin, 21:9 (501-506), 1997.
38. Wichelhaus T.A., Kern S., Schäfer V., Brade V., Hunfeld K.-P. Evaluation of modern agglutination tests for identification of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 18:10 (756-758) 1999.
39. Cuny C., Pasemann B., Witte W. The ability of the Dry Spot Staphytest Plus test, in comparison with other tests, to identify staphylococcus species, in particular *S. aureus*. Clinical Microbiology and Infection 5:2 (114-116) 1999.
40. Brakstad O.G., Tveten Y., Nato F., Fournier J.M. Comparison of various methods and reagents for species identification of *Staphylococcus aureus* positive or negative for the *mecA* gene. APMIS 101:8 (651-654) 1993.

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

(RU)

Внимание

Может вызывать аллергическую кожную реакцию. Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. Использовать защитные перчатки/защитную одежду/средства защиты глаз. ПОСЛЕ КОНТАКТА С КОЖЕЙ: необходимо обильно промыть водой с мылом. Избегать попадания в окружающую среду. При раздражении кожи или появлении сыпи. Обратиться за медицинской помощью/консультацией. Утилизируйте содержимое/контейнер в соответствии с местными/региональными/национальными/международными правилами.

BIO-RAD является торговой маркой компании Bio-Rad Laboratories, Inc.
Все используемые в настоящем документе торговые марки являются собственностью их владельцев.

Дистрибьютор в США
«Био-Рад Лабораториз Инк.» (Bio-Rad Laboratories, Inc.)
6565 185-я Авеню Н. Е.
Редмонд, Вашингтон 98052-5039
Телефон для заказов клиентов: 1-800-2-BIORAD
Телефон технической службы: 1-800-2- BIORAD (1-800 224-6723)

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/

2020/03
0001325

Пасторекс Менингитис

25

№ 61607	№ 61611	№ 61616
№ 61608	№ 61613	№ 61618
№ 61610	№ 61614	

Тест на агглютинацию для качественного определения вручную растворимых антигенов *Neisseria meningitidis* групп А, С, Y/W135 и В/Е. coli K1; *Haemophilus influenzae* типа b, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus* группы В в посевах спинномозговой жидкости и крови; и для идентификации *Neisseria meningitidis* групп А, С и В/Е. coli K1; *Haemophilus influenzae* типа b, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus* группы В из выделенных колоний на культуральной среде на основе агара.

/Логотип: /Логотип: СЕ 0459/

IVD/

16008552 - 2020/05

Изменения в предыдущей версии выделены серым цветом.

Серым цветом выделены заголовки подразделов, в которые были внесены значительные изменения; такие подразделы требуют внимательного прочтения.

/Логотип: BIO RAD/

Содержание

1	ПРИМЕНЕНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ	5
2	КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ИСПЫТАНИЮ	5
3	ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ	6
4	РЕАКТИВЫ	6
5	ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	10
6	ОБРАЗЦЫ	11
7	МЕТОДИКА	12
8	ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ	16
9	ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	17
10	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	25

1 ПРИМЕНЕНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

Пасторекс Менингитис представляет собой ручной качественный тест на агглютинацию, предназначенный для быстрой диагностики бактериального менингита у пациентов с подозрением на клинические симптомы, такие как лихорадка, головная боль, ригидность затылочных мышц, измененное состояние сознания или другие менингеальные симптомы.

Пасторекс Менингитис используется в качестве вспомогательного средства для диагностики бактериального менингита посредством обнаружения растворимых антигенов к *Neisseria meningitidis* групп A, B/E, coli K1, C, Y/W135, *Haemophilus influenzae* типа b, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus* группы B в спинномозговой жидкости (СМЖ) и посевах крови. Пасторекс Менингитис также используется для диагностики бактериального менингита посредством идентификации этих бактериальных штаммов (за исключением Nm-группы Y/W135) из подозреваемых колоний, выделенных на культуральной среде на основе агара.

2 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ИСПЫТАНИЮ

Несмотря на прогресс, достигнутый в диагностике и лечении инфекционных заболеваний, бактериальный менингит остается основной причиной заболеваемости и смертности. Быстрое и точное определение возбудителя имеет важное значение при оказании медицинской помощи и проведении соответствующего лечения [1, 2, 3, 4]. *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* b признаны основными возбудителями бактериального менингита [1, 5]. *Streptococcus* группы B [6] and *Escherichia coli* K1 [7, 8] являются основными бактериальными патогенами, вызывающими менингит у новорожденных и недоношенных детей. Полисахаридный антиген, специфичный к *N. meningitidis* группы B, идентичен полисахаридному антигену, обнаруженному в *E. coli* K1, это позволяет диагностировать менингит *E. coli* у новорожденных, из которых около 80% заражены штаммом K1 [7]. *Streptococcus pneumoniae* [8] и *Neisseria meningitidis* являются основными патогенами у детей и взрослых. Инфекционные заболевания, вызванные *Haemophilus influenzae* b, в Европе постепенно исчезают после внедрения систематической вакцинации [3].

Ранняя диагностика позволяет быстро начать терапевтическое лечение и провести профилактические мероприятия [10, 11]. Основным способом исследования до сих пор является анализ СМЖ [11]. Окраска по Граму позволяет идентифицировать бактерии в 50–80% случаев, а посев является положительным примерно для 80% образцов СМЖ. Однако в случае раннего лечения чувствительность этих двух тестов составляет менее 50% [3, 4].

Традиционный метод идентификации бактерий с использованием посева, хотя и необходим для тестирования на восприимчивость и подтверждения диагноза, требует 18–24 часов, что неприемлемо для оказания неотложной помощи. Более того, могут быть получены ложноотрицательные результаты, если образец транспортировался и хранился в ненадлежащих условиях или если до взятия образца была начата антибактериальная терапия [10, 11, 12].

Таким образом, иммунологические методы, такие как методы агглютинации латексных частиц для обнаружения растворимых антигенов, выделяемых возбудителями в биологические жидкости, позволяют проводить более раннюю диагностику, в частности, с использованием СМЖ при инфекционном заболевании [13, 14].

Пасторекс Менингитис — это простой тест, требующий базового лабораторного оборудования, простой в выполнении, позволяет обнаруживать серогруппы бактерий, вызывающих менингит, всего за несколько минут. [1, 15, 16, 17]. Его удобство было продемонстрировано во время вспышек путем принятия решения о назначении соответствующей вакцины [11, 14, 15, 16, 17, 18].

Таким образом, иммунологические методы, такие как методы агглютинации латексных частиц для обнаружения растворимых антигенов, выделяемых возбудителями в биологические жидкости, позволяют проводить более раннюю диагностику, в частности, с использованием СМЖ при инфекционном заболевании [12, 13]. Пасторекс Менингитис — это простой тест, требующий базового лабораторного оборудования, простой в выполнении, позволяет обнаруживать серогруппы бактерий, вызывающих менингит, всего за несколько минут. [14, 15, 16]. Его удобство было продемонстрировано во время вспышек путем принятия решения о назначении соответствующей вакцины [10, 13, 14, 15, 16, 17].

3 ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Пасторекс Менингитис основан на агглютинации латексных частиц с использованием визуальной интерпретации. Полисахаридные антигены, специфичные к бактериям, вызывающим менингит, обнаруживаются с помощью окрашенных латексных частиц, покрытых штамм-специфическими антителами. Реакция в присутствии этих специфических антигенов приводит к образованию видимых окрашенных комков латексных частиц. При отсутствии антигенов латексные частицы остаются в виде однородной суспензии.

4 РЕАКТИВЫ

4.1 Описание

Идентификатор на маркировке		Описание	Форма выпуска/приготовление
R1	<i>N. meningitidis</i> B/ <i>E. coli</i> K1 Латекс	Латексная суспензия красного цвета, сенсibilизированная мышинным моноклональным антителом, специфичным к <i>N. meningitidis</i> группы B/ <i>E. coli</i> K1 Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат.	0,40 мл 1 Крышка белого цвета Флакон-капельница готов к использованию
R2	<i>N. meningitidis</i> B/ <i>E. coli</i> K1 Отрицательный контроль Латекс	Латексная суспензия красного цвета, сенсibilизированная мышинным моноклональным антителом, специфичным к столбнячному анатоксину Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл 1 Прозрачная крышка Флакон-капельница готов к использованию
R3	<i>H. influenzae</i> b Латекс	Латексная суспензия белого цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>H. influenzae</i> b Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл 1 Крышка оранжевого цвета Флакон-капельница готов к использованию

R4	<i>S. pneumoniae</i> Латекс	Латексная суспензия зеленого цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>S. pneumoniae</i> . Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат.	0,40 мл 1 Крышка зеленого цвета Флакон-капельница готов к использованию
R5	<i>Streptococcus B</i> Латекс	Латексная суспензия желтого цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>Streptococcus</i> группы В Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл 1 Крышка желтого цвета Флакон-капельница готов к использованию
R6	<i>N. meningitidis A</i> Латекс	Латексная суспензия синего цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>N. meningitidis</i> группы А Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл 1 Крышка синего цвета Флакон-капельница готов к использованию
R7	<i>N. meningitidis C</i> Латекс	Латексная суспензия красного цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>N. meningitidis</i> группы С Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл 1 Крышка красного цвета Флакон-капельница готов к использованию
R8	<i>N. meningitidis Y/W135</i> Латекс	Латексная суспензия розового цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>N. meningitidis</i> Y/W135 Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл 1 Крышка сливового цвета Флакон-капельница готов к использованию
R9	Отрицательный поливалентный контроль Латекс	Латексная суспензия сливового цвета, сенсibilизированная иммуноглобулинами IgG неиммунизированного кролика Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл 1 Прозрачная крышка Флакон-капельница готов к использованию
R10	Положительный поливалентный контроль Антигенный экстракт	Антигенный экстракт, содержащий полисахаридные антигены <i>N. meningitidis</i> А, С, В, Y/W135, <i>H. influenzae</i> b, <i>Streptococcus</i> группы В и <i>S. pneumoniae</i> . Консервант: 0,01% Bronidox	1 флакон лиофилизированного антигенного экстракта для разведения 1,0 мл стерильной воды (объем, достаточный для проведения 18 реакций)
-		Одноразовые карты для реакции агглютинации (9 кругов, каждый из которых идентифицирует отдельный латекс-реактив)	30 карт
-		Одноразовые палочки для перемешивания	3 x 100 палочек

b) Пасторекс Менингитис, индивидуальные латекс-тесты (по 25 тестов каждый):

Номер по каталогу	Подлинность		Описание	Форма выпуска/приготовление
61611	R1	N. meningitidis B/E. coli K1 Латекс	Латексная суспензия красного цвета, сенсibilизированная мышинным моноклональным антителом, специфичным к <i>N. meningitidis</i> группы B/E. coli K1 Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл x 1 Крышка белого цвета Флакон-капельница готов к использованию
61616	R3	H. influenzae b Латекс	Латексная суспензия белого цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>H. influenzae</i> b Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0.40 ml x 1 Крышка оранжевого цвета Флакон-капельница готов к использованию
61614	R4	S. pneumoniae Латекс	Латексная суспензия зеленого цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>S. pneumoniae</i> Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	0,40 мл x 1 Крышка зеленого цвета Флакон-капельница готов к использованию
61613	R5	Streptococcus B Латекс	Латексная суспензия желтого цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>Streptococcus</i> группы B Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат.	0,40 мл x 1 Крышка желтого цвета Флакон-капельница готов к использованию
61608	R6	N. meningitidis A Латекс	Латексная суспензия синего цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>N. meningitidis</i> группы A Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат.	0,40 мл x 1 Крышка синего цвета Флакон-капельница готов к использованию
61610	R7	N. meningitidis C Латекс	Латексная суспензия красного цвета, сенсibilизированная кроличьими антителами, специфичными к <i>N. meningitidis</i> группы C Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат.	0,40 мл x 1 Крышка красного цвета Флакон-капельница готов к использованию

с) Набор контрольных материалов Пасторекс Менингитис, код 61618, для отдельного латекс-теста (для 2 x 25 тестов):

Подлинность		Описание	Форма выпуска/приготовление
R2	<i>N. meningitidis B/ E. coli K1</i> Отрицательный контроль Латекс	Латексная суспензия красного цвета, сенсibilизированная мышинным моноклональным антителом, специфичным к столбнячному анатоксину Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат.	2 x 0,40 мл 2 Прозрачная крышка Флакон-капельница, готов к использованию
R9	Отрицательный поливалентный контроль Латекс	Латексная суспензия сливочного цвета, сенсibilизированная иммуноглобулинами IgG неиммунизированного кролика Консервант: 0,3% ProClin 300 и 0,005% гентамицина сульфат	2 x 0,40 мл 2 Прозрачная крышка Флакон-капельница, готов к использованию
R10	Положительный поливалентный контроль Антигенный экстракт	Антигенный экстракт, содержащий полисахаридные антигены <i>N. meningitidis</i> A, C, B, Y/W135, <i>H. influenzae</i> b, <i>Streptococcus</i> B и <i>S. pneumoniae</i> . Консервант: 0,01% Bronidox	2 флакона лиофилизированного антигенного экстракта для разведения 1,0 мл стерильной воды (объем, достаточный для проведения 18 реакций)
-		Одноразовые карты для реакции агглютинации (9 кругов, каждый из которых идентифицирует отдельный латекс-реактив)	2 x 20 карт
-		Одноразовые палочки для перемешивания	2 x 100 палочек

4.2 Требования к хранению и обращению

- Реактивы можно использовать до истечения срока годности, указанного на упаковке, после вскрытия.
- ЛАТЕКС-РЕАКТИВЫ НЕЛЬЗЯ ЗАМОРАЖИВАТЬ.
- Убедитесь, что колпачки флаконов-капельниц плотно закручены, во избежание попадания загрязнений или высыхания реактивов.
- Храните флаконы с латекс-реактивами в вертикальном положении (в пенопластовой упаковке, имеющейся в наборе).

Подлинность	Стабильность
R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9	После первого вскрытия: до истечения срока годности, указанного на упаковке, при температуре +2–8 °C.
R10	После восстановления: 1 месяц при температуре +2–8 °C; или до истечения срока годности при хранении в замороженном виде при температуре -20 °C (после оттаивания не замораживать повторно).

5 ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностики *in vitro*, проводимой профессиональными пользователями в лабораторных условиях.

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.
- 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.

Разливы, содержащие кислоту, следует надлежащим образом абсорбировать (вытереть) или нейтрализовать, область промыть водой и вытереть насухо; материалы, используемые для абсорбирования разлива, могут потребовать утилизации в качестве биологически опасных отходов. Затем область должна быть обеззаражена одним из 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. Лабораторные, химические или биологически опасные отходы должны обрабатываться и утилизироваться в соответствии со всеми требованиями местных, региональных и национальных руководств.
- Для ознакомления с рекомендациями по обнаружению опасностей и мерам предосторожности в отношении некоторых химических компонентов, входящих в состав данной тест-системы, см. пиктограммы, указанные на маркировке, а также информацию, представленную в конце данной инструкции по применению. С паспортом безопасности материала можно ознакомиться на сайте www.biorad.com.

5.2 Меры предосторожности в связи с методикой

5.2.1 Приготовление

- Не используйте набор, если упаковка каких-либо компонентов повреждена.
- Не используйте реактивы с истекшим сроком годности.
- Не смешивайте и не используйте реактивы из разных партий в одном испытании.
- Перед использованием подождите 30 минут для стабилизации реактивов при комнатной температуре (18–30 °C).
- Не прикасайтесь к реакционной поверхности карт для реакции агглютинации.
- Реактив R10 следует разводить дистиллированной стерильной водой, избегая любого загрязнения.
- Рекомендуется ранжировать латекс-реактивы в соответствии со схемой распределения карт до начала процедуры.
- В случае использования обычного лабораторного орбитального ротатора, отличного от ротатора, указанного для примера в §7.2,

оптимальная скорость должна быть тщательно отрегулирована с помощью реактива R10 для обеспечения однородной агглютинации по всей поверхности кругов. Перемешивание вручную не рекомендуется.

- Избегайте высыхания реактивов, нанесенных на карту(ы) для реакции агглютинации, во время вращения; убедитесь, что орбитальный ротатор не находится под потоком воздуха из кондиционера.
- В случае использования водяной бани для нагрева образцов СМЖ до температуры 100 °С или сухого термостата убедитесь, что температура внутри пробирки достигла 100 °С.
- Используйте только пластиковые палочки для перемешивания, поставляемые в наборе, или петлю для перемешивания реактивов с образцами или бактериальными колониями.

5.2.2 Обработка

- Не изменяйте процедуру количественного определения.
- Не прикасайтесь к реакционной поверхности карт для реакции агглютинации.
- Проводите тест при комнатной температуре (в диапазоне 18–30 °С), избегая расположения под потоком воздуха из кондиционера.
- Для нагрева образцов СМЖ до температуры 100 °С предпочтительно использовать сухой термостат. В случае использования водяной бани применяйте водонепроницаемые пробирки для предотвращения попадания в них воды.
- Перед испытанием убедитесь, что нагретые до 100 °С образцы СМЖ возвращены в условия комнатной температуре.
- Перед использованием тщательно встряхивайте реактивы. Перед использованием убедитесь, что латексная суспензия осталась однородной.
- Для обеспечения надлежащего внесения капель всегда удерживайте флаконы-капельницы с реактивом в вертикальном положении.
- Протрите кончик флакона-капельницы с реактивом, чтобы получить капли одинакового размера.
- Для каждой реакции следует использовать новую палочку для перемешивания.

6 ОБРАЗЦЫ

- Образцы спинномозговой жидкости: образцы СМЖ следует использовать как можно скорее после сбора. Если это невозможно, они могут храниться до четырех часов при температуре от +2 до +8 °С. Бактериологические исследования (посев) должны проводиться в первую очередь, для того чтобы избежать загрязнения образца. Минимальный объем образца для проведения теста Пасторекс Менингитис составляет 500 мкл.
В образцах СМЖ с аномальным уровнем концентрации гемоглобина (до 2 мг/мл для имитации гемолиза), не было обнаружено интерференции.
- Положительный посев крови: Образцы следует использовать немедленно. Учитывая большое разнообразие сред для посева крови, эффективность для всех сред не может быть гарантирована (см. Ограничение теста с).
- Бактериальные группы из выделенных колоний: Тест должен проводиться со свежими и хорошо выделенными колониями на культуральной среде на основе агара (см. Ограничения теста с и d).

7 МЕТОДИКА

7.1 НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

7.1.1 Материалы, включенные в набор

- Все материалы, перечисленные в разделе "Реактивы", и их контроли
- Одноразовые карты для реакции агглютинации
- Одноразовые палочки для перемешивания

7.1.2 Необходимые материалы, не включенные в набор

- Стандартная микропипетка для внесения 30 и 50 мкл
- Откалиброванные петли на 1 или 5 мкл для бактериальных групп
- Стерильная дистиллированная вода
- Стерильная физиологическая вода
- Бульон Тодда-Хьюита (Bio-Rad, номер по каталогу 55704)
- Набор Антисыворотка *Neisseria meningitidis* Y, W135, 29E (Bio-Rad, номер по каталогу 58704)
- Водонепроницаемые пробирки
- Сухой термостат или кипящая водяная баня при 100 °C для проведения процедуры количественного определения с СМЖ
- Водяная баня 37 °C
- Ротатор орбитального типа (т.е. скорость 120 об/мин при использовании модели IKA KS260 basic)
- Центрифуга для микропробирок
- Секундомер
- Дезинфицирующая баня

7.2 МЕТОДИКА АНАЛИЗА

7.2.1 Спинномозговая жидкость

Приготовление образца

- В случае, если СМЖ очень мутная или содержит эритроциты, ее центрифугируют в течение 5 минут при 350 g, после чего собирают надосадочную жидкость.
- Нагревайте все образцы СМЖ в течение 3 минут при 100 °C. Убедитесь, что температура образцов достигает комнатной температуры (18–30 °C), а затем выполните центрифугирование в течение 5 минут при 3000 g.

Методика испытания

- Нанесите 50 мкл предварительно обработанного супернатанта образца на каждый круг карты для реакции агглютинации.
- Осторожно встряхните латекс-реактивы.
- Удерживая флакон-капельницу в вертикальном положении, нанесите по одной капле каждого латекс-реактива на одноразовую карту в соответствии с указанной схемой распределения: R9, R6, R7, R1 и R2 на белые круги и R8, R3, R4 и R5 на черные круги.
- Смешайте латекс-реактивы и образец с помощью палочки на всей поверхности круга; используйте новую палочку для каждого латекс-реактива.

- Осторожно вращайте карту в горизонтальном положении, на ротаторе орбитального типа (см. §5.2.1.) **максимум в течение 10 минут**.
- Наблюдайте за любой агглютинацией, видимой невооруженным глазом, в течение максимум 10 минут. Подождите 10 минут для получения отрицательного результата.

7.2.2 Посев крови

- Проверьте морфологию бактерий и окраску по Граму на определения предполагаемой ориентации бактерий.
- Отберите 1–2 мл образца положительного посева крови.
- Центрифугируйте в течение 5 минут при 2000 g.

Методика испытания

- Нанесите 50 мкл супернатанта на каждый круг на одноразовой карте, соответствующий исследуемым латекс-реактивам, согласно методу окраски по Граму.
- Осторожно встряхивайте латекс-реактивы, отобранные для теста.
- Удерживая флакон-капельницу вертикальном положении, нанесите по одной капле каждого отобранного латекс-реактива на одноразовую карту.
- Смешайте латекс-реактивы и образец с помощью палочки на всей поверхности круга, используйте новую палочку для каждого латекс-реактива. Осторожно вращайте карту в горизонтальном положении, на ротаторе орбитального типа (см. §5.2.1.) **максимум в течение 5 минут**.
- Наблюдайте за любой агглютинацией, видимой невооруженным глазом, в течение максимум 5 минут. Подождите 5 минут для получения отрицательного результата.

7.2.3 Процедура группировки выделенных бактериальных штаммов

Перед выполнением теста, проверьте морфологию бактерий и окраску по Граму на определения предполагаемой ориентации бактерий.

Окраска по Граму и морфология	Тест на ориентацию	Предположительная идентификация бактерий
Грамотрицательные бактерии	Тест на оксидазу	(+): <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> b
		(-): <i>Escherichia coli</i> K1
Грамположительные кокки	Тест на каталазу	(+): Не проводите тест с этими колониями
		(-): <i>Streptococcus pneumoniae</i> *, группы B <i>Streptococcus</i>

* Неинкапсулированные штаммы *S. pneumoniae* не могут быть идентифицированы с помощью иммунологического метода латекс-агглютинации [8].

а) *N. meningitidis* (только группы А, В и С), *H. influenzae* b, *E. coli* K1, *S. pneumoniae*

Латекс-реактив (R8) *N. meningitidis* Y/W135 не может быть использован для группировки бактериальных штаммов (См. ограничения теста f).

- Нанесите 30 мкл стерильного физиологического раствора на круг(и) на одноразовой карте.
- Приготовление испытуемого образца:
 - *N. meningitidis*, *H. influenzae* b и *E. coli* K1: эквивалент петли на 1 мкл, что соответствует 2–3 колониям.
 - *S. pneumoniae*: эквивалент петли на 5 мкл, что соответствует **минимум** 10–12 колониям.
- Используя петлю, тщательно эмульгируйте отобранные колонии таким образом, чтобы получить однородную суспензию.
- Осторожно встряхивайте латекс-реактив(ы) R1, R3, R4, R6 или R7, отобранные для определения подлинности. Удерживая флакон(ы)-капельницу(ы) в вертикальном положении, нанесите одну каплю реактива(ов) на край бактериальной суспензии на одноразовой карте.
- Смешайте каплю латекса и образец суспензии с помощью палочки.
- Осторожно вращайте карту в горизонтальном положении, на ротаторе орбитального типа (см. §5.2.1.) **максимум в течение 2 минут**.
- Наблюдайте за любой агглютинацией, видимой невооруженным глазом, в течение **максимум 2 минут**. Подождите 2 минуты для получения отрицательного результата.
- Подтвердите подлинность вида бактерий с помощью обычного биохимического анализа.

б) *Streptococcus* группы В (β -гемолитические колонии)

- Используя петлю на 5 мкл, суспендируйте 7–8 колоний в 3 мл бульона Тодда-Хьюита (Bio-Rad, номер по каталогу 55704).
- Инкубируйте на водяной бане при температуре 37 °С в течение 2 или 3 часов.
- Центрифугируйте в течение 5 минут при 3000 g.
- Нанесите 50 мкл супернатанта на соответствующий круг одноразовой карты.
- Осторожно встряхните реактив R5; удерживая флакон-капельницу в вертикальном положении, нанесите одну каплю реактива на край бактериальной суспензии на одноразовой карте.
- Смешайте каплю латекса и образец с помощью палочки **на всей поверхности круга**.
- Осторожно вращайте карту **в горизонтальном положении, на ротаторе орбитального типа** (см. §5.2.1.) **максимум в течение 1 минуты**.
- Наблюдайте за любой агглютинацией, видимой невооруженным глазом, **в течение менее 1 минуты**.
- Подтвердите подлинность вида с помощью обычных биохимических анализов.

7.3 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

После встряхивания латекс-реактив должен быть полностью однородным.

- Нанесите **1 каплю** (50 мкл) R10 (положительный поливалентный контроль Латекс) на каждый круг на одноразовой карте.
- Осторожно встряхните латекс-реактивы. Удерживая флаконы-капельницы в вертикальном положении, нанесите по одной капле каждого латекс-реактива на одноразовую карту в соответствии с указанной схемой распределения: реактивы R9, R6, R7, R1 и R2 на белые круги; и реактивы R8, R3, R4 и R5 на черные круги.
- Смешайте латекс-реактивы и реактив R10 с помощью палочки, используйте новую палочку для каждого латекс-реактива.
- Осторожно вращайте карту **в течение 10 минут** (см. §5.2.1.). В течение этого 10-минутного периода наблюдайте за появлением агглютинации (сравните реакции испытуемого латекса с реакциями отрицательного контроля латекса).
- Интенсивность и скорость появления агглютинации зависят от avidности антигена/антитела. В результате наблюдаемые реакции отличаются для каждого латекс-реактива. У латекса (R1) *N. meningitidis* B/E. coli она более мелкая, чем у других.
- Стерильная физиологическая вода используется для контроля отсутствия специфической агглютинации каждого латекс-реактива. Для проведения этого теста контроля качества используется стерильная физиологическая вода в соответствии с процедурой для вышеупомянутого положительного поливалентного контроля Латекс.
- Не следует использовать латекс-реактивы, если они не агглютинируют с реактивом R10 или когда они неспецифически агглютинируют со стерильной физиологической водой (это может быть вызвано неправильными условиями хранения набора или загрязнением латекс-реактива).

7.4 ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Положительная реакция

На положительную реакцию указывает мелкая агглютинация, видимая невооруженным глазом, по сравнению с отрицательным контролем латекса R2 и R9. Интенсивность и время появления агглютинации зависят от концентрации антигена в испытуемом образце.

Несоответствие между положительным тестом на антитела и отрицательным посевом может быть объяснено отсутствием жизнеспособных бактерий в культивируемом образце (лечение антибиотиками началось до взятия образца или условия транспортировки не подходят для выживания хрупких бактерий).

В большинстве случаев положительная реакция с латексом (R1) *N. meningitidis* B/E. coli K1 у новорожденного или недоношенного ребенка указывает на заражение E. coli K1. У пожилых субъектов наиболее вероятен *N. meningitidis*. Посев образца должен подтвердить диагноз.

Отрицательная реакция

Однородная суспензия без комков указывает на отрицательную реакцию.

Результаты, не подлежащие интерпретации

Реакция не поддается интерпретации, если образец агглютинирует с отрицательными контролями латекса (реактив R2 или R9) и/или с более чем одним латекс-реактивом в наборе. В этом случае рекомендуется выполнить тест повторно с другим образцом и дождаться результата посева. В очень редких случаях инфекция может быть вызвана двумя различными видами бактерий.

8 ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

- a) Во многих случаях иммунологический метод латексной агглютинации позволяет провести предварительную диагностику организма. Однако концентрация антигена в образце может быть ниже нижнего предела обнаружения латекса и вызывать отрицательную реакцию. В этом случае может оказаться полезным повторить тест с этим образцом позже.
- b) Этот метод не может заменить культивирование бактерий, которое само по себе позволяет установить результат чувствительности к антимикробным препаратам.
- c) Некоторые среды для культивирования крови могут стать причиной неспецифических реакций или неправильной интерпретации. Чтобы предвидеть подобные ситуации, рекомендуется тестировать отрицательный контроль, используя посев крови, инокулированный стерильной кровью или другим организмом, отличным от тех, которые были обнаружены в результате проведения теста Пасторекс Менингитис.
- d) Слабая агглютинация отмечалась в результате проведения теста Пасторекс Менингитис со штаммом *E. coli* K1, выделенным на агаровой питательной среде ВСР.
- e) Отмечалось несколько примеров неродственных бактерий, обладающих сходными антигенами. Всегда следует учитывать возможность перекрестных реакций [18 – 24].
- f) Латекс-реактив (R8) *N. meningitidis* Y/W135 не может быть использован для группировки бактериальных штаммов, выделенных на культуральных средах на основе агара. Для определения этих групп рекомендуется использовать обычные антисыворотки (Набор Антисыворотка *Neisseria meningitidis* Y, W135, 29E, Bio-Rad, номер по каталогу 58704)
- g) Как и во всех случаях лабораторной диагностики, окончательный диагноз не может быть основан только на результатах одного единственного теста, он должен основываться на совокупности клинических данных и результатов биохимических, цитологических и иммунологических исследований.
- h) Обнаружение растворимых антигенов в посевах крови, а также группировок штаммов, выделенных на культуральных средах на основе агара, следует завершить определением подлинности вида бактериального штамма.

9 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1.1 Исследование прецизионности

Для определения воспроизводимости и прецизионности теста Пасторекс Менингитис использовалась панель из 2 образцов. Панель оценки прецизионности из 2 компонентов включала 1 отрицательный (не реагирующий со всеми латекс-реактивами) и 1 мультиположительный компонент, состоящий из семи антигенов, слабо реагирующих с реактивами R1, R3, R4, R5, R6, R7 и R8 и не реагирующих с реактивами R2 и R9.

9.1.1.1 Повторяемость

Панель оценки прецизионности (N = 2) была протестирована в 10 повторностях в один день, на одной партии теста Пасторекс Менингитис, результаты считывались одним оператором. Как показано в таблице I, отрицательные и положительные компоненты панели дали одинаковые ожидаемые результаты со всеми 10 повторностями.

Таблица I: Результаты исследования сходимости

Сходимость с Пасторекс Менингитис		Отрицательный результат Компонент панели			Мультиположительный Компонент панели		
Латекс-реактив	Обнаружение штамма	Общее кол-во повт.	Нереактивный	Реактивный	Общее кол-во повт.	Нереактивный	Реактивный
R1	<i>N. meningitidis</i> группы B/E. coli K1	10	10	0	10	0	10
R2	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 (Отрицательный контроль Латекс)	10	10	0	10	10*	0
R3	<i>H. influenzae</i> b	10	10	0	10	0	10
R4	<i>S. pneumoniae</i>	10	10	0	10	0	10
R5	<i>Streptococcus</i> группы B	10	10	0	10	0	10
R6	<i>N. meningitidis</i> группы A	10	10	0	10	0	10
R7	<i>N. meningitidis</i> группы C	10	10	0	10	0	10
R8	<i>N. meningitidis</i> группы Y/W135	10	10	0	10	0	10
R9	Отрицательный поливалентный контроль Латекс	10	10	0	10	10*	0

Примечание: (*) = ожидаемые результаты (R2 и R9 — латексные шарики контрольного материала).

9.1.1.2 Внутрिलाбораторная прецизионность

Панель оценки прецизионности (N = 2) была протестирована в 20 повторностях двумя независимыми операторами, по 2 повторности в день в течение 5 дней. Как показано в таблице II, отрицательные и положительные компоненты панели дали одинаковые ожидаемые результаты со всеми 20 повторностями.

Таблица II: Результаты определения прецизионности между анализами, в разные дни и разными операторами

Сходимость с Пасторекс Менингитис		Отрицательный результат Компонент панели			Мультиположительный Компонент панели		
Латекс-реактив	Обнаружение штамма	Общее кол-во повт.	Нереактивный	Реактивный	Общее кол-во повт.	Нереактивный	Реактивный
R1	<i>N. meningitidis</i> группы B/E. coli K1	20	20	0	20	0	20
R2	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 (Отрицательный контроль Латекс)	20	20	0	20	20*	0
R3	<i>H. influenzae</i> b	20	20	0	20	0	20
R4	<i>S. pneumoniae</i>	20	20	0	20	0	20
R5	<i>Streptococcus</i> группы B	20	20	0	20	0	20
R6	<i>N. meningitidis</i> группы A	20	20	0	20	0	20
R7	<i>N. meningitidis</i> группы C	20	20	0	20	0	20
R8	<i>N. meningitidis</i> группы Y/W135	20	20	0	20	0	20
R9	Отрицательный поливалентный контроль Латекс	20	20	0	20	20*	0

Примечание: (*) = ожидаемые результаты (реактивы R2 и R9 — латексные шарики контрольного материала).

9.1.1.3 Прецизионность между партиями

Панель оценки прецизионности между партиями, включающая реактивные растворимые менингеальные антигенные растворы, реактивные и нереактивные менингеальные штаммы и две нереактивные стандартные спинномозговые жидкости, была протестирована на трех партиях теста Пасторекс Менингитис. Как показано в таблице III результатов агглютинации, отрицательные и положительные компоненты панели показали одинаковые ожидаемые результаты с тремя партиями.

Таблицы III: Результаты исследования прецизионности в пределах партии

Прецизионность между партиями с тестом Пасторека Менингитис		Интенсивность агглютинации (от 0 до 3)*											
Латекс-реактив	Обнаружение штамма	Растворимые антигены			Панель штаммов			Стандартная СМЖ-1			Стандартная СМЖ-2		
		Партия 1	Партия 2	Партия 3	Партия 1	Партия 2	Партия 3	Партия 1	Партия 2	Партия 3	Партия 1	Партия 2	Партия 3
R1	<i>N. meningitidis</i> группы В <i>E. coli</i> K1	2,5-	2,5	2,5	3	3	3	0	0	0	0	0	0
		н/о			3	3	3						
R2	<i>N. meningitidis</i> группы В/ <i>E. coli</i> K1 (Отрицательный контроль Латекс)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R3	<i>H. influenzae</i> b	2,5	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
R4	<i>S. pneumoniae</i> *	1,5	2	2	3	3	2,5	0	0	0	0	0	0
		3	3	3									
R5	<i>Streptococcus</i> группы В	2,5	2,5	2	3	3	3	0	0	0	0	0	0
	<i>Streptococcus</i> группы А	н/о			0	0	0	н/о					
	<i>Streptococcus</i> группы С				0	0	0						
	<i>Streptococcus</i> группы D				0	0	0						
	<i>Streptococcus</i> группы F1				0	0	0						
	<i>Streptococcus</i> группы G				0	0	0						
R6	<i>N. meningitidis</i> группы А	2	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
R7	<i>N. meningitidis</i> группы С	3-	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
R8	<i>N. meningitidis</i> группы Y	2,5	2,5	3				0	0	0	0	0	0
	<i>N. meningitidis</i> группы W135	1,5	2,5	2,5				0	0	0	0	0	0
R9	Отрицательный поливалентный контроль Латекс	н/о			0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечания: н/о = не определено

(*) Оценка интенсивности агглютинации была точно определена при использовании ,5 с добавлением + или –

(например, 2,5+ составляет от 2 до 3 и имеет немного большую интенсивность, чем 2,5-)

(**) Два разных растворимых антигенных раствора *Streptococcus pneumoniae* (03 и 9V) были протестированы с использованием латекс-реактива R4.

9.1.2 Аналитическая специфичность

Исследование перекрестной реактивности

См. §9.2.1 Диагностическая специфичность с посевом крови или колониями из бактериальных культур.

9.1.3 Эффект прозоны

Существование возможного хук-эффекта изучали путем тестирования отрицательных образцов искусственной СМЖ с антигенным раствором в концентрации 100 мкг/мл в качестве образца с высоким титром при различных разведениях. Эквивалентность результатов, наблюдаемых для неразбавленных и разбавленных образцов, указывает на отсутствие хук-эффекта на протестированных образцах.

9.2 ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

9.2.1 Специфичность диагностики

а. Специфичность с образцами СМЖ

С помощью теста Пасторекс Менингитис был протестирован максимум 61 стерильный образец СМЖ с отрицательным результатом. Все протестированные образцы показали отрицательный результат с любым латекс-реактивом. Следовательно, как показано в Таблице IV, специфичность теста Пасторекс Менингитис составляет 100%. Некоторые из этих образцов были искусственно загрязнены бактериями, вызывающими менингит, но отличными от тех, которые были обнаружены при использовании теста Пасторекс Менингитис; они не оказывали влияния на специфичность, которая оставалась на уровне 100%.

Таблица IV: Специфичность с СМЖ

Специфичность на СМЖ	Обнаружение штамма	Стерильные образцы СМЖ			Образцы СМЖ с бактериальным загрязнением		
		Количество испытуемых единиц	Найденное количество Нерективный	Специфичность, %	Количество испытуемых единиц	Найденное количество Нерективный	Специфичность, %
R1	<i>N. meningitidis</i> группы B/ <i>E. coli</i> K1	12	12	100	н/о	н/о	н/о
R3	<i>H. influenzae</i> b	61	61	100	32	32	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	60	60	100	39	39	100
R5	<i>Streptococcus</i> группы B	49	49	100	58	58	100
R6	<i>N. meningitidis</i> группы A	52	52	100	50	50	100
R7	<i>N. meningitidis</i> группы C	52	52	100	56	56	100
R8	<i>N. meningitidis</i> группы Y/W135	40	40	100	40	40	100

в. Специфичность с колониями из бактериальной культуры

Специфичность, протестированная с использованием реактива R7 на 53 штаммах, принадлежащих к родам *Neisseria* (N = 20 с *meningitidis* групп A, C, Y, W135 и других), *Branhamella* (N = 1), *Acinetobacter* (N = 5), *Klebsiella* (N = 6), *Streptococcus* (N=7 с *B. pneumoniae* и другими), *Haemophilus influenza* (N = 6), *Serratia* (N = 1 *S. marscesens*) и *Enterobacter aerogenes* (N=1), *Pseudomonas aeruginosa* (N = 2), *Escherichia coli*, отличные от K1 (N = 4), составляет 90,6% (48/53), демонстрируя некоторую перекрестную реактивность. Как показано в Таблице V, один ложноположительный результат был получен с *Neisseria flavescens*, два ложноположительных — со штаммами *Klebsiella pneumoniae* и два ложноположительных — со штаммами *Acinetobacter haemolyticus* и *Acinetobacter baumannii*.

Специфичность, протестированная с использованием реактивов R3–R7 на 330 штаммах, принадлежащих к родам *Neisseria* (N ≤ 109), *Branhamella* (N ≤ 5), *Acinetobacter* (N ≤ 6), *Streptococcus* (N ≤ 11), *Klebsiella* (N ≤ 3), *Haemophilus* (N ≤ 10), *Escherichia coli* (N ≤ 1), *Moraxella* (N ≤ 3) и *Oligella* (N ≤ 1), составляет 100%.

Таблица V: Специфичность с колониями из бактериальной культуры

Специфичность на колониях	Обнаружение штамма	Количество испытуемых единиц	Найденное количество Нереактивный	Специфичность (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> группы В/ <i>E. coli</i> K1	53	48 (*)	90,6
R3	<i>H. influenzae</i> b	31	31	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	33	33	100
R5	<i>Streptococcus</i> группы В	17	17	100
R6	<i>N. meningitidis</i> группы А	122	122	100
R7	<i>N. meningitidis</i> группы С	127	127	100

Примечание: (*) Перекрестная реактивность со штаммами: Один ложноположительный результат был получен с *Neisseria flavescens*, два ложноположительных — со штаммами *Klebsiella pneumoniae* и два ложноположительных — со штаммами *Acinetobacter haemolyticus* и *Acinetobacter baumannii*.

с. Специфичность с посевом крови

Специфичность, протестированная с использованием реактива R7 на 29 посевах крови с идентифицированными штаммами, принадлежащими к родам *Acinetobacter* (N = 2), *Candida* (N = 1), *Klebsiella* (N = 7), *Staphylococcus* (N = 16), *Serratia* (N = 1), *Micrococcus* (N = 2), *Enterobacter* (N = 3) и *Escherichia coli* (N = 7) составляет 97,4% (38/39), демонстрируя незначительную перекрестную реактивность (был получен один ложноположительный результат со штаммами *Klebsiella pneumoniae*).

Как показано в Таблице VI, специфичность, протестированная с использованием реактивов R3–R7 на 37 образцах посева крови, составляет 100%.

Таблица VI: Специфичность с посевом крови

Специфичность на колониях	Обнаружение штамма	Количество испытуемых единиц	Найденное количество Нереактивный	Специфичность (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> группы В/ <i>E. coli</i> K1	39	38 (*)	97,4
R3	<i>H. influenzae</i> b	37	37	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	37	37	100
R5	<i>Streptococcus</i> группы В	37	37	100
R6	<i>N. meningitidis</i> группы А	37	37	100
R7	<i>N. meningitidis</i> группы С	37	37	100

Примечание: (*) Перекрестная реактивность: Один ложноположительный результат был получен с *Klebsiella pneumoniae*.

9.2.2 Диагностическая чувствительность

а. Чувствительность с образцами КСФ

Чувствительность, протестированная на 77 положительных образцах СМЖ, составляет от 91,7 до 100%, в зависимости от латекс-реактива.

Таблица VII: Чувствительность с СМЖ

Чувствительность на СМЖ	Обнаружение штамма	Количество испытуемых единиц	Найденное количество Реактивный	Чувствительность (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> группы B/ <i>E. coli</i> K1	3	3	100
R3	<i>H. influenzae</i> b	34	33	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	24	22	100
R5	<i>Streptococcus</i> группы B	1	1	100
R6	<i>N. meningitidis</i> группы A	12	12	100
R7	<i>N. meningitidis</i> группы C	3	3	100

б. Чувствительность с колониями из бактериальной культуры

Чувствительность, протестированная на 95 штаммах, составляет 100%.

Таблица VIII: Чувствительность с колониями из бактериальной культуры

Чувствительность на колониях	Обнаружение штамма	Количество испытуемых единиц	Найденное количество Реактивный	Чувствительность (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> группы B/ <i>E. coli</i> K1	10 (*)	10	100
R3	<i>H. influenzae</i> b	17	17	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	15	15	100
R5	<i>Streptococcus</i> группы B	15	15	100
R6	<i>N. meningitidis</i> группы A	22	22	100
R7	<i>N. meningitidis</i> группы C	16	16	100

Примечание: (*) 10 штаммов (9 *N. meningitidis* и 1 *E. coli* K1) были испытаны с латексом R1.

с. Чувствительность с посевом крови

Чувствительность, протестированная на 4 образцах посева крови с реактивами R4 (*S. pneumoniae* Латекс) и R5 (*Streptococcus* группы B Латекс), составляет 100%.

Таблица IX: Чувствительность с посевом крови

Чувствительность на посеве крови	Обнаружение штамма	Количество испытуемых единиц	Найденное количество Реактивный	Чувствительность (%)
R4	<i>S. pneumoniae</i>	2	2	100
R5	<i>Streptococcus</i> группы B	2	2	100

9.3 АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Аналитическую чувствительность теста Пасторекс Менингитис определяли для каждого латекс-реактива, используя серийные разведения соответствующих менингеальных антигенов известных концентраций до отсутствия обнаружения. В Таблице X приведены самые низкие обнаруживаемые, найденные для каждого латекс-реактива Пасторекс.

Таблица X: Аналитическая чувствительность теста Пасторекс Менингитис

Латекс-реактив	Обнаружение штамма	Порог чувствительности
R1	<i>N. meningitidis</i> группы B/ <i>E. coli</i> K1	62,5
R3	<i>H. influenzae</i> b	0,1
R4	<i>S. pneumoniae</i>	95
R5	<i>Streptococcus</i> группы B	20
R6	<i>N. meningitidis</i> группы A	2,5
R7	<i>N. meningitidis</i> группы C	2,5
R8	<i>N. meningitidis</i> группы Y	5,0
	<i>N. meningitidis</i> группы W135	2,5

10 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO. Meningitis Diagnostics Use Cases. 2019.
2. Denis F., Saulnier M. et Chiron J.P. Diagnostic étiologique rapide des méningites purulentes par agglutination passive indirecte de particules de latex et par contre-immunoélectrophorèse : expérience et perspectives. Bull. O.M.S., 1981, 59, 143-151.
3. ESCMID Guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. 2016 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: S37-S62.
4. Center for Diseases Control and Prevention. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis Caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. Second edition (2011). Chapter 13: Quality Control/Quality Assurance.
5. Systematic review of Rapid Diagnostic Tests for the diagnosis of meningitis in outbreak response in sub-Saharan Africa. Report for *WHO Meningitis guideline revision*. April 2014.
6. Tessier F. Dépistage et identification des streptocoques du groupe B. Intérêt en périnatalogie. Extrait de LABORAMA n°14, oct. 1982, Institut Pasteur Production edit.
7. Kaczmarek A. et al. Detection of K1 antigen of *Escherichia coli* rods isolated from pregnant women and neonates. *Folia Microbiol.* 59:419–422, 2014.
8. Robbins J.B., Mc Cracken G.H. Jr., Gotschlich G.C., Orskov F., Orskov I., Hanson L.A. *Escherichia coli* K1 capsular polysaccharide associated with neonatal meningitis. *New Engl. J. Med.* 290, 1216-1220, 1974.
9. Lund E. and Henrichsen J. Laboratory diagnosis, serology and epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*. In *Methods in Microbiology*, T. Bergan and J.R. Norris edit., 1978, 12, chap. XI, 241-262 (Academic press, London, New-York, San Francisco).
10. Carbonelle E. Apport des examens biologiques dans le diagnostic positif, la détermination de l'étiologie et le suivi d'une méningite suspectée bactérienne. *Médecine et maladies infectieuses*. 39. 581–605, 2009.
11. Astier-Theffenne et al. Rapid diagnostic test and epidemics of bacterial infectious diseases. Revue francophone des laboratoires - Juillet/Août 2015 - N°474.
12. Chaïbou et al. *Streptococcus pneumoniae* invasive infections in Burkina Faso, 2007 to 2011. *Médecine et maladies infectieuses*. 44.117–122, 2014.
13. Leinonen M. and Herva E. The latex agglutination test for the diagnosis of meningococcal and *Haemophilus influenzae* meningitis. *Scand. J. Infect.*, 9,187-191,1977.
14. Newman R.B., Stevens R.W. and Gaafar H.A. Latex agglutination test for the diagnosis of *Haemophilus influenzae* meningitis. *J. Lab. Clin. Med.*, 76, 107-113, 1970.

15. Djibos S. et al. Evaluation of the Pastorex Meningitis kit for the rapid identification of *Neisseria meningitidis* serogroups A and W135 (Burkina Faso). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. Jun*; 100(6):573-8, 2006.
16. Borel et al. - High sensitivity and specificity of the Pastorex latex agglutination test for *Neisseria meningitidis* serogroup A during a clinical trial in Niger. 2006.
17. Uadialea K. et al, Evaluation of Pastorex Meningitis kit performance for the rapid identification of *Neisseria meningitidis* serogroup C in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 110: 381–385, 2016.
18. Denis F. et Mounier M. Le diagnostic rapide des méningites cérébro-spinales : techniques, résultats, limites et perspectives. *Méd. Mal. Infect.* 14, 27-36, 1984.
19. Bradshaw M.W., Chneerson R., Parke J.C. Jr., Robbins J.B. Bacterial antigens cross-reactive with the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *Lancet, i* (May 29), 1095-1097, 1971.
20. Kasper D.L., Winkelhake J.L., Zollinger W.D., Brandt B.L., and Artenstein M.S. Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* 07: K1 (L): NM and group B *Neisseria meningitidis*. *J. Immunol.* 110, 262-268, 1973.
21. Lee P.C. and Wetherall B.L. Cross-reaction between *Streptococcus pneumoniae* and group C streptococcal latex reagent. *J. Clin. Microbiol.* 25, 152-153, 1987.
22. Djibo S., Njanpop Lafourcade B.-M., Boisier P., Moussa A., Kobo G., Sidikou F., Hien A., Bieboire G., Aguilera J.-F., Parent du Chatelet I., Gessner B.D., Chanteau S. Evaluation of the Pastorex meningitis kit for the rapid identification of *Neisseria meningitidis* serogroups A and W135. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 100:6 (573-578), 2006.
23. Shirokawa T., Nakajima J., Hirose K., Suzuki H., Nagaoka S., Suzuki M. Spontaneous meningitis due to *Streptococcus salivarius* subsp. *salivarius*: Cross-reaction in an assay with a rapid diagnostic kit that detected *Streptococcus pneumoniae* antigens. *Internal Medicine.* 53:3 (279-282), 2014.
24. Ozaki T., Nishimura N., Arakawa Y., Suzuki M., Narita A., Yamamoto Y., Koyama N., Nakane K., Yasuda N., Funahashi K. Community-acquired *Acinetobacter baumannii* meningitis in a previously healthy 14-month-old boy. *Journal of Infection and Chemotherapy.* 15:5 (322-324), 2009.

PASTOREX STREP

Набор реагентов для определения групповой принадлежности стрептококков методом агглютинации - Pastorex Strep

▽ 60

Кат 61721

Кат 61728

Кат 61733

Кат 61726

Кат 61729

Кат 61734

Кат 61727

Кат 61732

Определение принадлежности стрептококков к группам A, B, C, D, F, G



0001361 – 2021/03



ОГЛАВЛЕНИЕ

1. КЛИНИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ	3
2. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ	3
3. ФОРМА ВЫПУСКА	3
4. ХРАНЕНИЕ	3
5. МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА	3
6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
7. ПРОЦЕДУРА ТЕСТИРОВАНИЯ	4
8. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	4
9. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕСТА	4
10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	5
11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТ-СИСТЕМЫ	5
12. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА	5
13. БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	5

1. КЛИНИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ

Идентификация стрептококков основывается на оценке типа гемолиза вокруг колоний, выращенных на кровяном агаре (β , α), а также на детектировании группоспецифических полиозидных антигенов клеточной стенки.

Некоторые группы β -гемолитических стрептококков стабильно связаны с клиническим заболеванием (А, С, G), в то время как другие группы являются патогенными только вне естественной среды обитания (В, D).

Идентификация β -гемолитических стрептококков на основании полисахаридных антигенов (Lancefield, 1933) может быть затруднительной по ряду причин:

- некоторые штаммы имеют антигены двух групп (С и G);
- некоторые β -гемолитические штаммы имеют антиген группы С;
- некоторые атипичные штаммы образуют гемолитические микроколонии с антигенами А, С или G (1).

Тем не менее, в большинстве случаев быстрая идентификация группы позволяет поставить предварительный диагноз стрептококковой инфекции.

Стрептококки ответственны за ряд инфекционных заболеваний, включая фарингит с септическими осложнениями или без них, кожную инфекцию, послеродовой сепсис (2) и эндокардит. Некоторые заболевания вызваны специфической группой, такие как ревматический полиартрит и острый гломерулонефрит (группа А); инфекция мочевых путей, генитальная и неонатальная инфекции (септицемия, менингит) (группа В); послеоперационные инфекции (группа F); септицемия, связанная с внутривенным употреблением наркотических веществ (группа G) (3). Стрептококки группы С, высокопатогенные у животных, могут вызывать тяжелые инфекции у педиатрических пациентов (эндокардит, менингит) (4).

2. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

PASTOREX STREP – это экспресс-тест на основе латексной агглютинации, позволяющий определять принадлежность стрептококков к группам по Ланцефильду. В тесте используются латексные суспензии, специфичные для групп А, В, С, D, F и G.

Идентификация группоспецифических антигенов с помощью гомологических антисывороток требует предварительной экстракции.

В тесте PASTOREX STREP используется простая экстракция ферментов. Антиген, содержащийся в экстракте, выявляется с помощью латексных частиц, покрытых группоспецифическими гомологичными антителами. В присутствии гомологического антигена происходит агглютинация латексных частиц. В случае отсутствия антигена суспензия остается гомогенной.

3. ФОРМА ВЫПУСКА

1 - PASTOREX STREP, набор на 60 тестов, код 12016321, содержит:

- **Реагент для определения антигенов Streptococcus A, B, C, D, F, G (Pastorex Strep A, B, C, D, F, G Latex):** 6 флаконов латексной суспензии (1 мл), специфичной для групп А, В, С, D, F и G. Латексные частицы покрыты группоспецифическими иммуноглобулинами кролика в суспензии в глициновом буфере, pH 8,2, содержащем в качестве консервантов тимеросал 0,01 % и азид натрия 0,1 %.
- **Фермент для экстракции антигенов стрептококков (Pastorex Strep Extraction Enzyme):** Два флакона лиофилизированного фермента для экстракции в ТРИС-буфере, содержащем тимеросал 0,01 %. Содержимое флакона подлежит восстановлению 10 мл дистиллированной воды; полученный раствор может храниться в течение 4 мес. при температуре от +2 до +8 °C.
- **Контроль положительный поливалентный (Pastorex Strep Positive Control):** Один флакон, содержащий поливалентный положительный контрольный антиген (1,5 мл), полученный из смеси экстрактов стрептококков групп А, В, С, D и F по Ланцефильду, и тимеросал 0,02 % в качестве консерванта. (Объем для пяти тестов с использованием для каждого латексной суспензии.)
- Палочки для смешивания (Sticks), 2 x 125
- 60 Карт для агглютинации (Cards)

4. ХРАНЕНИЕ

Все реагенты остаются стабильными в течение всего срока годности, указанного на этикетках, при условии хранения при температуре 2-8 °C и отсутствия следов загрязнения реагентов (даже после открытия). Флаконы с латексными реагентами хранить вертикально.

ЛАТЕКС-СОДЕРЖАЩИЕ РЕАГЕНТЫ НЕ ПОДЛЕЖАТ ЗАМОРАЖИВАНИЮ.

5. МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Пипетки для диспенсирования 0,3 мл
- Петля для забора колоний бактерий
- Емкость для сброса отработанного материала или автоклавируемый контейнер для обеззараживания отработанного материала (карты и палочки)
- Пробирки для гемолиза (одна на штамм)
- Для индивидуальных латекс-тестов
- Одноразовые агглютинационные карты (x45) - код 61723
- Фермент для экстракции - код 61799

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Качество результатов зависит от соблюдения правил надлежащей лабораторной практики.

- Использовать все реагенты и образцы при комнатной температуре (от 18 до 30 °C).
- Не касаться реакционной поверхности агглютинационных карт.
- Перемешивать флаконы с латексом перед использованием.
- Вытирать наконечники флаконов-капельниц с реагентами, чтобы получить надлежащим образом откалиброванные капли.
- Держать флакон с реагентом вертикально, чтобы обеспечить осаждение капель.
- Для каждой реакции использовать новую палочку для перемешивания.
- Выбрасывать все использованные одноразовые материалы в автоклавируемый мешок для отходов или дезинфекционную ванну.

ИНСТРУКЦИИ ПО ГИГИЕНЕ И ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Всегда следуйте данным рекомендациям и мерам предосторожности относительно защиты против микробиологической опасности.

- Все латексные реагенты содержат азид натрия. Избегайте контакта реагентов с глазами, кожей и слизистыми оболочками.
- Азид натрия может реагировать со свинцом и медью, образуя взрывоопасные соединения. После слива реагентов в раковину необходимо промывать водопроводную систему большим количеством воды.

7. ПРОЦЕДУРА ТЕСТИРОВАНИЯ

1. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Тест-система PASTOREX STREP используется для идентификации колоний β-гемолитических стрептококков, выращенных на кровяном агаре или Колумбийском агаре с колистином и налидиксовой кислотой (колоний грамположительных, каталазоотрицательных кокков).

2. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ

- Поместить 0,3 мл раствора фермента для экстракции в пробирку для гемолиза для каждого изолированного штамма.
- Отобрать 5-10 колоний из свежей культуры стрептококка и поместить в ферментный раствор для диссоциации. Если диаметр колоний меньше 0,5 мм, увеличивать размер инокулята до тех пор, пока не появится помутнение, видимое невооруженным глазом.
- Инкубировать:
 - либо в течение 15 мин при комнатной температуре (18–30°C);
 - либо в течение 10–30 мин при температуре 37°C.

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ЭКСТРАКТОВ К ГРУППАМ

- Энергично встряхнуть каждый флакон для ресуспендирования латексных частиц.
- Нанести одну каплю каждой латексной суспензии на круги агглютинационной карты. (Держать флакон вертикально.)
- С помощью пипетки добавить одну каплю экстракта в каждый круг агглютинационной карты.
- Гомогенизировать содержимое каждого круга с помощью палочки. Для каждой реакции использовать новую палочку.
- Вращать карту в горизонтальном положении не более 1 мин.

При положительной реакции латексные частицы агглютинируются в течение 1 мин. Размер и скорость образования агрегатов зависит от концентрации антигена в экстракте.

8. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ: Красные агрегаты на зеленом фоне

Только ярко выраженная быстрая агглютинация только с латексной суспензией убедительно определяет группу штамма.

ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ: Однородная коричневая суспензия.

НЕИНТЕРПРЕТИРУЕМЫЕ РЕАКЦИИ:

- Небольшие агрегаты на коричневом фоне;
- Агглютинация с несколькими специфичными латексными реагентами. При возникновении подобной сомнительной реакции необходимо повторить процедуру изоляции.

9. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕСТА

1. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛАТЕКСНЫХ СУСПЕНЗИЙ

Иммунореактивность реагентов контролируется положительным контролем, который должен дать ярко выраженную агглютинацию соответствующей латексной суспензии менее чем за 1 мин.

2. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ФЕРМЕНТА

Активность ферментного раствора контролируется штаммом, группа которого известна. Антиген, экстрагированный из данного штамма, должен быстро агглютинировать соответствующую латексную суспензию.

3. КОНТРОЛЬ СПЕЦИФИЧНОСТИ

В качестве отрицательного контроля может использоваться экстракт фермента, используемый с гетерологичными латексными суспензиями.

10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Все производимые и реализуемые реагенты контролируются полноценной системой контроля качества от этапа получения сырья до этапа конечной реализации продукта.

Каждая партия подвергается контролю качества и выпускается на рынок только после подтверждения соответствия всем критериям приемки.

Документация по производству и контролю качества каждой партии продукции хранится в компании Bio-Rad.

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

Характеристики тест-системы PASTOREX STREP были оценены на 217 штаммах, в число которых входили 162 штамма стрептококков и энтерококков и 55 других штаммов, таких как штаммы коринебактерий, *Listeria monocytogenes*, *Gardnerella vaginalis*.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

	Итого	Положительные	Отрицательные	Чувствительность
<i>Streptococcus A</i>	67	67	0	100 %
<i>Streptococcus B</i>	41	41	0	100 %
<i>Streptococcus C</i>	9	9	0	100 %
<i>Streptococcus D</i>	27	24*	3	88,8 %
<i>Streptococcus F</i>	4	4	0	100 %
<i>Streptococcus G</i>	14	14	0	100 %

* *1 штамм *Enterococcus durans* не вступил в реакцию, возможно, из-за недостатка гомологичного антигена, 1 штамм *E. avium* и 1 штамм *E. gallinarum*, агглютинированные методом, используемым лабораторией, не вступили в реакцию ни при использовании тест-системы PASTOREX STREP D, ни при использовании тест-системы стороннего производителя.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

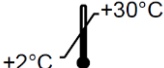
- При исследовании 55 штаммов стрептококков, принадлежащих группам, отличным от групп A, B, C, D, F и G, были получены следующие результаты:
 - агглютинация латекса C с 5 α -гемолитическими штаммами *S. pneumoniae* (реакции в присутствии общего антигена F (5));
 - агглютинация латекса B с 1 β -гемолитическим штаммом *Corynebacterium*.
- Отсутствие перекрестных реакций с другими штаммами (*S. mitis*, *G. vaginalis*, *L. monocytogenes* и негемолитическими штаммами *Corynebacteria*).

12. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Если приготовленная бактериальная суспензия имеет недостаточное количество колоний, результаты могут быть ложноотрицательными.
- Некоторые штаммы (*E. avium* и *E. gallinarum*) могут не агглютинировать с латексом D.

13. БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

1. CIMOLAI N., ELFord R.W., BRYAN L, ANAND C. and BERGER P. - Do the β -haemolytic Non-Group A Streptococci cause Pharyngitis? Reviews of Infections Diseases, 1988, 10, 587-601
2. KAVIT J. and WISER - Group A-haemolytic *Streptococcus* causing disseminated intra vascular coagulation and maternal death, The Lancet, 1988, I, 993-994
3. Mc MEEKLING A.A., HOLZMAN R.S., - Group G Streptococcal Bacteremia and Parenteral Drug Abusers The Journal of Infections Diseases, 1988, 157, 612-613
4. ARDITI M., SHULMAN ST., TODD DAVIS A. and YOGEV R. - Group C haemolytic streptococcal infections in children. Nine pediatric cases and review. Reviews of Infections Diseases, 1989, 11, 34-35
5. SKOV sVØRENSEN U.S., AND HENRICHSEN J. - Cross-Reactions between Pneumococci and Other Streptococci Due to C Polysaccharide and F Antigen. J. Clin. Microbiol., 1987, 1854-1859

	Обратитесь к инструкциям по эксплуатации		Применение
	Только для диагностики <i>in vitro</i>		Номер партии
	Хранить при температуре +2...+30°C		Производитель
	Тестов в наборе		Уполномоченный представитель
	№ по каталогу		

BIO-RAD является торговой маркой компании Bio-Rad Laboratories, Inc.
 Все торговые марки, упомянутые в настоящем документе, являются собственностью соответствующих владельцев.



Bio-Rad
 Адрес: 3, boulevard Raymond Poincaré
 92430 Marnes-la-Coquette - France
 Тел. +33 (0) 1 47 95 60 00
 Факс +33 (0) 1 47 41 91 33

0001361
 2021/03

ПАСТОРЕКС КРИПТО ПЛЮС (PASTOREX™ CRYPTO PLUS)

 60



61747

Обнаружение растворимых антигенов *Cryptococcus neoformans* в биологических жидкостях
(сыворотка крови, СМЖ, БАЛ, моча)

/Логотип: /Логотип: CE/

IVD/



881131 - 2014/07

/Логотип: BIO RAD/

Содержание

1	КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ	3
2	ПРИНЦИП.....	3
3	ФОРМА ВЫПУСКА.....	3
4	ХРАНЕНИЕ.....	4
5	НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ	4
6	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
7	ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ.....	5
8	ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	6
9	КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕСТА.....	7
10	КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СО СТОРОНЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	7
11	ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	7
12	ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ	9
13	ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ	9

1 КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Криптококкоз – это оппортунистическая инфекция, которая развивается у пациентов с иммунодефицитом, особенно у больных СПИДом. В настоящее время криптококкоз является основной причиной летальных исходов, обусловленных инфекцией, среди пациентов со СПИДом. Частота случаев криптококкоза варьируется от 2 до 10% в странах Западной Европы и Соединенных Штатах Америки; в некоторых регионах Африки данный показатель превышает 15% (3). У пациентов с иммунодефицитом инфекция, после исходной легочной фазы, быстро поражает центральную нервную систему (мягкие оболочки головного мозга) и другие органы (1). Через короткое время растворимые антигены обнаруживаются в сыворотке крови, спинномозговой жидкости (ЦСЖ), жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и моче.

Диагностика криптококкоза основывается на детектировании капсулированных дрожжей в ходе микроскопического исследования, росте *Cryptococcus neoformans* в культуральной среде, а также детектировании капсульных антигенов в биологических жидкостях организма (2).

2 ПРИНЦИП

Пасторекс Крипто Плюс (Pastorex™ Crypto Plus) – это качественный и полуколичественный тест, который основан на технике простой агглютинации для детектирования капсульного полисахарида *Cryptococcus neoformans*, глюкуроноксилманнана (ГКМ), в биологических жидкостях организма (сыворотка крови, СМЖ, БАЛ, моча). В данном тесте используются частицы, покрытые моноклональными антителами к глюкуроноксилманнану, который является основным компонентом капсулы *Cryptococcus neoformans* (4). Агглютинация, возникающая вследствие реакции между частицами и ГКМ, видна невооруженным глазом. Предел чувствительности составляет 50 нг/мл в сыворотке крови.

Тест можно выполнять на термоинактивированных образцах (30 минут при 56°C) во избежание риска инфицирования ВИЧ.

Для устранения интерференций и увеличения чувствительности детектирования требуется предварительная ферментативная обработка всех образцов, за исключением образцов мочи (5, 6, 7). Положительные образцы затем титруют путем последовательных разведений в буферном растворе.

- Титр антигена показывает стадию и распространение инфекции.
- Определение кинетики накопления антигенов в период заболевания позволяет оценить эффективность терапии (2).

3 ФОРМА ВЫПУСКА

Набор из 60 тестов - код 61747 - содержит:

- **Latex *Cryptococcus*:** 1 флакон-капельница, содержащий 1 мл частиц латекса *Cryptococcus*: латекса, сенсibilизированных антителами к глюкуроноксилманнану (мышинными), в глициновом буфере.
- **Антиген положительного контроля:** 1 флакон-капельница, содержащий 0,5 мл положительного контрольного образца: очищенного капсулярного полиозида *Cryptococcus neoformans*.

- **Буфер для разведения:** 1 капельница, содержащая 10 мл буферного раствора глицина и альбумина
- **Проназа:** 2 флакона, содержащие лиофилизированные ферменты (проназу), которые подлежат восстановлению 1 мл дистиллированной или деминерализированной воды.
- **Останавливающий раствор:** 1 флакон-капельница, содержащий 2 мл останавливающего раствора (ферментативный ингибитор)
- 15 одноразовых карт для реакции агглютинации
- 100 маленьких одноразовых палочек

Все реагенты содержат 0,02% мертиолата и менее 0,1% азиды натрия.

4 ХРАНЕНИЕ

Все реагенты сохраняют стабильность до даты истечения срока годности, указанной на маркировке, при условии хранения при +2-8°C в отсутствие микробной контаминации (даже после вскрытия). Восстановленный раствор проназы можно хранить в течение четырех недель при +2-8°C или нескольких месяцев при -20°C.

Флаконы с латексным реагентом следует хранить в вертикальном положении.

ЛАТЕКСНЫЕ РЕАГЕНТЫ НЕЛЬЗЯ ЗАМОРАЖИВАТЬ.

5 НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

- Прецизионные пипетки
- Плотнo укупоренные микропробирки
- Горизонтальный ротационный шейкер (160 об/мин)
- Вихревая мешалка
- Водяная баня 56°C
- Водяная баня 100°C
- Емкость с дезинфицирующим средством

6 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Качество результатов зависит от строгого соблюдения требований Надлежащей лабораторной практики.

- Все реагенты и испытуемый образец следует использовать при комнатной температуре (18–30°C).
- Не прикасайтесь к реакционной поверхности карт для реакции агглютинации.
- Для каждого испытуемого образца следует использовать новую пипетку или одноразовый наконечник.
- Встряхните флаконы с латексом перед использованием.
- Протрите кончик флакона-капельницы с реактивом, чтобы получить капли одинакового размера.
- Для появления капель держите флакон с реагентом вертикально.
- Для каждой реакции следует использовать новую палочку.
- Все использованные одноразовые материалы следует утилизировать в автоклавируемый мусорный бак или дезинфицирующую ванну.

ИНСТРУКЦИИ ПО ГИГИЕНЕ И БЕЗОПАСНОСТИ

Во всех случаях следует придерживаться современных методов и мер предосторожности, касающихся защиты от микробиологических рисков.

- Для ознакомления с рекомендациями по обнаружению опасностей и мерам предосторожности в отношении некоторых химических компонентов, входящих в состав данной тест-системы, см. пиктограммы, 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.

7 ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

1) ПРИГОТОВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТА ПРОНАЗЫ

Разводят содержимое одного флакона с проназой 1 мл дистиллированной или деминерализованной воды. При разведении следует избегать образования пены; необходимо удостовериться, что лиофилизат полностью растворился. Если ежемесячно выполняется 30–40 тестов, проназу следует хранить при +2–8°C (сохраняет стабильность в течение 4 недель). В случае менее масштабных циклов в отдельных пробирках приготавливают пробы объемом 20 мкл и хранят при -20°C.

2) ИСПЫТУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

• ХРАНЕНИЕ

Обработку образцов следует выполнять сразу после сбора. Если это невозможно, образцы можно хранить в течение нескольких часов при температуре от +2–8°C.

ВНИМАНИЕ: для образцов сыворотки крови следует использовать только сухие пробирки. Не проводились тесты на возникновение интерференций, обусловленных перегрузкой альбумином, липидами, гемоглобином и билирубином.

• Обработка

а) Сыворотка крови, БАЛ

- Помещают 120 мкл анализируемого образца в пробирку с плотной пробкой, добавляют 20 мкл проназы.
- Интенсивно перемешивают и нагревают до 56°C в течение 30 минут.
- Снимают пробирку с водяной бани и добавляют 1 каплю останавливающего раствора (ферментативный ингибитор).
- Тщательно перемешивают.

ВНИМАНИЕ: при использовании водяной бани следует избегать попадания воды в пробирки, так как это может привести к получению ложного результата.

б) СМЖ

- В случае, если СМЖ очень мутная или содержит эритроциты, ее центрифугируют в течение 5 минут в количестве 350 г (2 000 об/мин), после чего собирают надосадочную жидкость.

- Помещают 120 мкл анализируемого образца в пробирку с плотной пробкой, добавляют 20 мкл проназы.
- Интенсивно перемешивают и нагревают до 56°C в течение 30 минут.
- Снимают пробирку с водяной бани при 56°C.
- Останавливают ферментативную активность проназы путем нагревания на водяной бане при 100°C в течение 5 минут.
- Тщательно перемешивают.
- Охлаждают в течение 3–4 минут перед проведением реакции агглютинации

ВНИМАНИЕ: при использовании водяной бани следует избегать попадания воды в пробирки, так как это может привести к получению ложного результата.

с) Моча

- Разводят в соотношении 1:2 в глициновом буфере.

3) РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ

- Наносят 40 мкл обработанного образца на кружок на карточке для реакции агглютинации.
- Одновременно добавляют одну каплю латексного криптококкового реагента.
- Тщательно перемешивают с помощью палочки.
- Приготавливают образец для отрицательного контроля, для чего смешивают 40 мкл буфера для разведения с каплей латексного реагента.
- Помещают карточку для реакции агглютинации в шейкер на 5 минут (160 об/мин) при комнатной температуре (+18-30°C).

8 ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

• Считывание результатов

На положительную реакцию указывает агглютинация частиц латекса с испытуемым образцом, но не с образцом отрицательного контроля (латекс + буфер для разведения).

• Титрование

Разведения с помощью глицинового буфера могут быть выполнены следующим образом:

Разведение	1:10	1:100	1:1 000	1:10 000
Обработанный испытуемый образец	50 мкл	50 мкл	50 мкл	50 мкл
Буферный раствор	450 мкл	450 мкл	450 мкл	450 мкл

Затем выполняют точное титрование путем 2-кратных серийных разведений, начиная с последней пробирки с положительным результатом: 50 мкл + 50 мкл буфера.

ПРИМЕЧАНИЕ: Интерпретация результатов агглютинации при высоких разведениях может варьироваться у разных лаборантов; при титровании нового образца, взятого у того же пациента, рекомендуется проверить титр предыдущего образца.

9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕСТА

Чувствительность латексного реагента можно периодически проверять с помощью образца положительного контроля, входящего в комплект. Уровень ГKM в образце положительного контроля составляет 200 нг/мл.

10 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СО СТОРОНЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Приготовление всех производимых реактивов осуществляется в рамках нашей системы качества, начиная с приемки сырья и заканчивая коммерческой реализацией продукта.

Каждая партия подвергается процедуре контроля качества и выпускается на рынок только после соответствия установленным критериям приемлемости.

Документы, касающиеся процесса производства и контроля каждой отдельной партии, хранятся в компании Bio-Rad.

11 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Моноклональное антитело E1, используемое при проведении данной реакции агглютинации, описано Дромером и соавт. (Dromer et al. (4)). Результаты предыдущих исследований реакции агглютинации на основе белых частиц подтвердили высокую эффективность данного антитела. Одно из таких исследований (8) проводилось при использовании 84 образцов сыворотки крови, полученных от пациентов с криптококкозом, и 47 контрольных образцов сыворотки крови. Оказалось, что обработка проназой повышает чувствительность и специфичность детектирования ГKM.

В рамках еще одного анализа (9) было показано, что титры антигена неидентичны для разных реагентов, а возврат к отрицательному результату детектирования растворимых антигенов при использовании системы Пасторекс Крипто Плюс (PastorexTM Crypto Plus) может указывать на эффективность лечения.

За счет использования красных частиц латекса вместо белых скопления частиц становятся лучше видны.

При проведении клинической оценки в лаборатории на базе больницы были получены следующие результаты:

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Образцы, полученные от 38 пациентов с криптококкозом.

Образец		Количество пациентов	Пасторекс Крипто Плюс (Pastorex™ Crypto Plus)	
Тип	Общее количество		+	-
СЫВОРОТКА КРОВИ	28	21	26	2
СМЖ	13	11	11	2
БАЛ	1	1	1	0
МОЧА	9	5	9	0
ВСЕГО	51	38	47	4*

Согласно результатам оценки этих 51 образца, общая чувствительность системы Пасторекс Крипто Плюс (Pastorex™ Crypto Plus) составила 92%.

* Четыре образца, для которых был получен отрицательный результат детектирования при помощи системы Пасторекс Крипто Плюс (Pastorex™ Crypto Plus), дали отрицательный результат и при проведении другой пробы на агглютинацию, основанной на антигене поликлональных антител.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Образцы, полученные от 92 пациентов без криптококкоза.

Образец		Количество пациентов	Пасторекс Крипто Плюс (Pastorex™ Crypto Plus)	
Тип	Общее количество		+	-
СЫВОРОТКА КРОВИ	62	62	2	60
СМЖ	7	7	0	7
БАЛ	21	19	0	21
МОЧА	6	4	0	6
ВСЕГО	96	92	2	94

Согласно результатам оценки этих 96 образцов, специфичность системы Пасторекс Крипто Плюс (Pastorex™ Crypto Plus) составила 98%.

По результатам дополнительных внутренних оценок на основе 59 образцов сыворотки крови от 18 пациентов с документально подтвержденным или подозреваемым аспергиллезом или кандидозом, специфичность достигала 100%.

По оценкам, предел обнаружения ГКМ в сыворотке крови составил 50 нг/мл.

12 ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

При очень высоких уровнях ГKM реакция агглютинации может быть подавлена (эффект сползания). В случае возникновения сомнений касательно интерпретации результатов реакции тест следует повторить при использовании 1/100 разведения образца. Таким образом, результаты следует интерпретировать с учетом истории болезни пациента.

При концентрации антигена в образце на уровне ниже нижнего предела обнаружения системы Пасторекс Крипто Плюс (PastorexTM Crypto Plus) может быть получен ложный результат: в данном случае рекомендуется повторить анализ образца позже.

Методика детектирования растворимых антигенов в ходе реакции агглютинации частиц латекса представляет собой более быстрое средство диагностики, чем стандартные методы культивирования. На сегодняшний день клинические и библиографические данные по детектированию антигена ГKM в БАЛ и моче с помощью латексных реагентов ограничены. Антигенное сходство капсулы *Cryptococcus* и клеточной стенки *Trichosporon beigeli* может привести к ложноположительным реакциям у пациентов с трихоспориозом (4). Как и в случае любых иммунологических методов исследования, необходимо учитывать вероятность перекрестных реакций.

Диагностика криптококкоза основывается на детектировании капсулированных дрожжей под микроскопом (контрастирование тушью), росте *Cryptococcus neoformans* в культуральной среде, а также на детектировании капсульных антигенов в биологических жидкостях организма (2).

Методика детектирования растворимых антигенов посредством реакции агглютинации латексных частиц упрощает процесс диагностики.

Диагноз криптококкоза можно поставить только после изучения клинических, рентгенологических и биологических (микробиологических, гистологических, серологических) аспектов, при этом каждый элемент по отдельности следует интерпретировать с осторожностью.

13 ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ

1. CAMERON M.L., BARTLETT J.A., GALLIS H.A., WASKIN H.A, Manifestations of Pulmonary Cryptococcosis in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome, R.I.D., 1991, 13, p. 64-67
2. STAIB F., *Cryptococcosis* in Aids - Mycological-diagnostic and epidemiological observations, Aids-Forshung (AIFO), 1987, p. 363-382
3. DROMER F., MATHOULIN S., DUPONT B, LAPORTE A., and the French Cryptococcosis Study Group. Epidemiology of Cryptococcosis in France: A 9-Year Survey (1985-1993). Clin. Inf. Dis.1996, 23, p. 82-90
4. DROMER F., SALAMERO J., CONTREPOIS A., CARBON C., YENI P. Production, Characterization and Antibody Specificity of a Mouse Monoclonal Antibody Reactive with *Cryptococcus neoformans* Capsular Polysaccharide. Infect. and Immun., 1987, 55, p. 742-748

5. GRAY L.D., ROBERTS G.D. Experience with the Use of Pronase to eliminate Interference Factors in the Latex Agglutination Test for Cryptococcal Antigen. J. Clin. Microbiol., 1988, 26, p. 2450-2451
6. HEELAN J.S., CORPUS L., KESSIMIAN N. False-positive reaction in the Latex Agglutination Test for *Cryptococcus neoformans* Antigen. J.Clin. Microbiol. 1991, 29, p. 1260-1261
7. HAMILTON J.R., NOBLE A., DENNING D.W., STEVENS D.A. Performance of *Cryptococcus* Antigen Latex Agglutination Kits on Serum and Cerebrospinal Fluid Specimens of Aids patients before and after Pronase treatment. J. Clin. Microbiol. 1991, 29, p. 333-339
8. TEMSTET A., ROUX P., POIROT J.L., RONIN O., DROMER F. Evaluation of monoclonal antibody based latex test for the diagnosis of *Cryptococcosis*: Comparison with two tests Using Polyclonal Antibodies J. Clin. Microbiol. 1992, 30, p. 2544-2550.
9. SWINNE D., MEULEMANS L., DE VROEY Ch. Detection of *Cryptococcus* antigen with a mononuclear antibody based latex test (abstract) Trends in the management of systemic fungal infections, Nijmegen, The Netherlands, 5-7 Sept. 1991

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

(RU)

Внимание!

Может вызывать аллергию или симптомы астмы, или затруднение дыхания при вдыхании. Представляет опасность в случае проглатывания. Вызывает раздражение кожи. Вызывает серьезное раздражение глаз. Может вызвать раздражение дыхательных путей. Токсично для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями.

Надевать защитные перчатки/защитную одежду/средства защиты для глаз/средства защиты для лица. Избегайте вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/испарений/аэрозолей. Избегать попадания в окружающую среду. ПОСЛЕ КОНТАКТА С КОЖЕЙ: необходимо обильно промыть водой с мылом. 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: Обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу, если почувствуете себя плохо. При появлении симптомов со стороны органов дыхания: обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу.

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/

2014/07
881131

Platelia Aspergillus IgG

1 планшет – ∇ 96

№ 62783

МЕТОДИКА НЕПРЯМОГО ДВУХФАЗНОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОПЛАНШЕТА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИТЕЛ К *ASPERGILLUS* IgG В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.

/Логотип: /Логотип: CE 0459/

IVD/



0001310 - 2020/09

Инструкция по применению полностью пересмотрена в соответствии с новым Европейским Регламентом (EU) 2017/746 (IVDR).

Основные отличия от предыдущей версии выделены серым цветом. Заголовок, выделенный серым цветом, указывает на существенные изменения в содержании главы. Пожалуйста, прочтите внимательно.

Для Европейского Союза (Регламент 2017/746/EU) краткий обзор безопасности и эффективности данного медицинского изделия доступен в EUDAMED по ссылке <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.

/Логотип: BIO RAD/

1/23 (EN)

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	7
8	ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ.....	10
9	ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ.....	11
10	ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	11
11	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	17

1 ПРИМЕНЕНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

Тест Platelia *Aspergillus* IgG представляет методику непрямого двухфазного иммуноферментного анализа с использованием микропланшета, которая применяется для обнаружения антител IgG к *Aspergillus* в сыворотке или плазме крови человека.

Этот тест используется при постановке диагноза пациентам с риском развития аллергического бронхолегочного аспергиллеза и хронического легочного аспергиллеза.

Тест Platelia *Aspergillus* IgG также можно использовать для мониторинга концентрации антител IgG у пациентов из группы риска АВРА и CPA.

Тест Platelia *Aspergillus* Ag можно использовать в ручном режиме и на автоматизированных системах.

2 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ИСПЫТАНИЮ

Тест Platelia *Aspergillus* IgG при интерпретации на основе клинической картины пациента и терапии, а также при использовании вместе с другими методиками диагностики, такими как радиологические, цитологические, иммунологические и микологические исследования, может использоваться в качестве вспомогательного средства в диагностике патологий, вызванных *Aspergillus*.

У иммунокомпетентных субъектов могут быть обнаружены различные хронические патологии, вызванные *Aspergillus*. При их диагностике зачастую возникают большие трудности.

Процесс сенсибилизации к плесневым грибам лежит в основе таких аллергических проявлений, как бронхиальная астма, аллергический бронхолегочный аспергиллез (АВРА), который представляет собой наиболее тяжелую клиническую форму^{4, 5, 9}. Пациенты, у которых обнаружен муковисцидоз (кистозный фиброз), составляют популяцию, подверженную риску АВРА. Их регулярно обследуют, чтобы как можно раньше обнаружить АВРА^{1, 2}.

У субъектов, вдохнувших очень много спор, может возникнуть экзогенный альвеолит. Наиболее известными формами являются болезнь птицеводов и болезнь «легкие фермера».

Аспергиллома является наиболее типичной неаллергической хронической патологией, которая возникает в результате колонизации уже существовавшей легочной полости (туберкулез, эмфизема, саркоидоз, рак легкого) грибковым мицелием, образующим «аспергиллезный шар»^{4, 5, 7, 11}. Хронический некротизирующий аспергиллез представляет собой особо тяжелую прогрессирующую форму среди других неаллергических патологий, приводящую к летальному исходу.

При этих различных клинических проявлениях, аллергических или неаллергических, диагностика аспергиллеза часто затруднена. Затруднения часто связаны с тем, что клинические признаки могут свидетельствовать о других грибковых, бактериальных, вирусных или даже раковых заболеваниях. Аспергиллома имеет очень характерное рентгенологическое изображение. Однако такое изображение менее характерно для других форм аспергиллеза, при которых клиническое обследование и рентгенологическое исследование являются лишь некоторыми средствами, которые помогают поставить диагноз. Для подтверждения этого диагноза необходимо контролировать биологические параметры и, в частности, провести серологические тесты. Следовательно, проведение серологического мониторинга имеет важное значение для пациентов с риском аспергилломы, серьезной инфекции, которая часто протекает без клинических симптомов. Достоверный диагноз АВРА основывается на пяти критериях, в том числе на обнаружении антител к *Aspergillus* в сыворотке крови¹⁵.

Тест Platelia *Aspergillus* IgG, который используется для обнаружения иммуноглобулинов класса G, направленных против рекомбинантного очищенного антигена *Aspergillus*, помогает в диагностике этих хронических форм аспергиллеза, наблюдаемых у иммунокомпетентных субъектов³. Кроме того, недавно было описано наличие антител к *Aspergillus* у пациентов с онкогематологическими заболеваниями перед назначением иммуносупрессивной терапии при трансплантации костного мозга. Эти исследования указывают на обнаружение колонизации *Aspergillus* при поступлении пациента в больницу или во время обследования перед трансплантацией. Эти пациенты будут составлять группу риска инвазивного аспергиллеза после начала лечения иммунодепрессантами.

3 ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Тест Platelia *Aspergillus* IgG представляет методику непрямого двухфазного иммуноферментного анализа с использованием микропланшета, которая применяется для обнаружения антител IgG к *Aspergillus* в сыворотке или плазме крови человека. Образцы разведенной сыворотки или плазмы крови распределяют по лункам микропланшета, сенсибилизированного очищенным рекомбинантным антигеном *Aspergillus*⁷. После инкубации при температуре 37° C полоски промывают для удаления несвязанного материала. Конъюгат (мышинное моноклональное антитело к IgG человека, меченное пероксидазой) добавляют в каждую лунку микропланшета и инкубируют при температуре 37° C. Комплекс образуется, если в образце человека присутствуют антитела IgG к *Aspergillus*: *Aspergillus* Ag, антитела IgG к *Aspergillus*, мышинное моноклональное антитело к IgG человека, меченное пероксидазой. Полосы промывают для удаления любого несвязанного материала. Добавление хромогена, содержащего субстрат пероксидазы, и инкубация при комнатной температуре используются для обнаружения любых образующихся комплексов. Ферментативную реакцию останавливают путем добавления 1 н. раствора серной кислоты. Для определения оптической плотности используется спектрофотометр с длиной 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, сенсibiliзирoванных очищенным рекомбинантным антигеном <i>Aspergillus</i> <i>Собственный ид. номер</i> = 80	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 Буфер трис-NaCl, не содержащий антитела IgG к <i>Aspergillus</i> Консервант: ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4a	Калибратор 10	Калибратор 10 УЕ/мл Сыворотка крови человека, содержащая антитела к <i>Aspergillus</i> Консервант: ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4b	Калибратор 20	Калибратор 20 УЕ/мл Сыворотка крови человека, содержащая антитела к <i>Aspergillus</i> Консервант: ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4c	Калибратор 40	Калибратор 40 УЕ/мл Сыворотка крови человека, содержащая антитела к <i>Aspergillus</i> Консервант: ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R4d	Калибратор 80	Калибратор 80 УЕ/мл Сыворотка крови человека, содержащая антитела к <i>Aspergillus</i> Консервант: ProClin 300 - 0,15%	1 флакон 2,5 мл Готов к использованию
R6	Конъюгат	Конъюгат Мышиное моноклональное антитело к IgG человека, меченное пероксидазой Феноловый красный Консервант: ProClin 300 (0,30%)	1 флакон 26 мл Готов к использованию
R7a	Разбавитель для образца 1	Раствор разбавителя 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	Раствор разбавителя для образца 2 Трис-NaCl буфер 0,1% Твин 20 Бромкрезоловый пурпурный Консервант: ProClin 300 - 0,151%	1 флакон 26 мл Готов к использованию
R9	Хромоген: раствор ТМБ	Хромоген: раствор ТМБ Раствор, содержащий <0,1 % 3,3', 5,5' тетраметилбензидина (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	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. 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 кислоту, 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 °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 Aspergillus IgG: собственный идентификационный номер = 80

- 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 реагентов 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.
- Оптимальным является оборудование, не содержащее пирогенов, но можно использовать стандартное оборудование, применяя соответствующие меры предосторожности. Используйте чистое, непыльное оборудование (пробирки, наконечники, контейнеры и т.д.), чтобы свести к минимуму возможность заражения спорами *Aspergillus* из окружающей среды. Поскольку галактоманнан термостабилен, стерилизация используемого оборудования не гарантирует отсутствие загрязняющего антигена.
- 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.
- 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.
- Не нагревайте образцы.
- Для получения сыворотки ступку 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 4 дней.
- Если анализ не выполнен в течение 4 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.

Образцы, содержащие 90 г/л альбумина или 100 мг/л неконъюгированного билирубина, липемические образцы, содержащие эквивалент 36 г/л триолеина (триглицерида), или гемолизированные образцы, содержащие 10 г/л гемоглобина, не оказывают влияние на результаты.

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 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ *
 - Считыватель микропланшетов с фильтрами 450 нм и 620/630 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 10, Реактив 4b (R4b): Калибратор 20, Реактив 4c (R4c): Калибратор 40, 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. Приготавливают таблицу для идентификации калибраторов и образцов, отобранных у пациентов, в соответствии со следующим планом:
 - A1: Калибратор 0 (R3)
 - B1: Калибратор 10 УЕ/мл (R4a)
 - C1: Калибратор 20 УЕ/мл (R4b)
 - D1: Калибратор 40 УЕ/мл (R4c)
 - E1: Калибратор 80 УЕ/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										
РЕЗУЛЬТАТ	R4d	S8										
F	S1	S9										
G	S2	S10										
H	S3	S11										

4. 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 красную окраску.
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. 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 серый цвет. Лунка без образца по цвету сине-фиолетовая.

7. Затем распределяют **200 мкл** R4d, R4c, R4b, R4a и R3 в соответствии с последовательностью планшета.
8. При возможности (например, при ручной обработке) микропланшет закрывают при помощи **приспособления для заклеивания планшетов**, чтобы вся поверхность была закрыта и защищена от воды.
9. Непосредственно после этого микропланшет инкубируют в сухом термостате для микропланшетов в течение 60 ± 5 минут при 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).
10. Готовят рабочий раствор для промывки R2 (см. раздел 7.2).
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** (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.**
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°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).
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** (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.**
17. Быстро добавляют 200 мкл раствора хромогена (R9) в каждую лунку, **не допуская воздействия яркого света.**
18. Микропланшет инкубируют в темноте при температуре $18-30^\circ\text{C}$ в течение 30 ± 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 $> 0,200$
R4a / R3	Соотношение (R4a OD / R3 OD) должно быть $> 3,00$
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 (R4d OD / R4c OD) должно быть $> 1,00$

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 [$OD = \text{функция (УЕ/мл)}$] 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 антител IgG к *Aspergillus* (УЕ/мл) в исследуемых образцах

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

Интерпретация результатов

- Образцы с концентрацией 5 УЕ/мл ($C < 5$) расценивают как «отрицательные» в отношении наличия антител IgG к *Aspergillus*.
- Образцы с концентрацией в пределах от 5 до 10 УЕ/мл ($5 \leq C < 10$) расценивают как «промежуточные» в отношении наличия антител IgG к *Aspergillus*.
- Образцы с концентрацией равной или превышающей 10 УЕ/мл ($C \geq 10$) расценивают как «положительные» в отношении наличия антител IgG к *Aspergillus*.

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 путем разбавления R7a:

- Для образцов с титром > 80 УЕ/мл и $OD < 3000$: предварительное разбавление образца в соотношении 1:5 с использованием R7a.
- Для образцов с титром > 80 УЕ/мл и $OD \geq 3000$: предварительное разбавление образца в соотношении 1:60 с использованием R7a.

После начального предварительного разведения образца следует придерживаться процедуры, описанной в разделе 7.3 (предварительное разведение в соотношении 1:20 разбавителем R7a, затем разведение в соотношении 1:20 разбавителем R7b).

Концентрация высоко положительных образцов будет рассчитываться путем умножения полученного таким образом титра на коэффициент первого предварительного разведения (т. е. 5 или 60 в зависимости от проведенного предварительного разведения).

«Промежуточный» результат можно подтвердить, отобрав новый образец у пациента в течение 2–3 недель после даты отбора образца с промежуточным результатом.

При серологическом мониторинге пациентов мы рекомендуем тестировать все образцы пациента в рамках одной серии для определения значительных различий в титрах антител IgG к *Aspergillus*.

8 ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

1. Отрицательный тест не может исключить диагноз аспергиллез. Диагноз аспергиллеза 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. У иммунокомпетентного пациента с подозрением на аспергиллез образец, взятый на ранней стадии развития аспергиллезной инфекции, может показать отрицательный результат при обнаружении антител IgG к *Aspergillus*. В связи с этим рекомендуется провести новое испытание на образце, взятом через две или три недели.
3. Необходимо придерживаться инструкций для проведения процедуры теста Platelia *Aspergillus* IgG и интерпретации результатов при тестировании образцов на наличие антител к IgG *Aspergillus*. 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.
4. Добавление образцов или реагентов с отклонением от инструкций процедуры может привести к получению ложноотрицательного результата. В случае процедурной ошибки следует рассмотреть возможность повторного испытания дополнительных образцов.
5. Загрязнение лунок с отрицательными образцами пациентов калибратором 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.
6. Функциональные характеристики тест-системы Platelia *Aspergillus* IgG с образцами неонатальной или педиатрической сыворотки или плазмы не оценивали.
7. Функциональные характеристики тест-системы Platelia *Aspergillus* IgG для ручного считывания и/или визуального определения результатов установлены не были.

9 ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Распространенность антител IgG к Aspergillus, измеренная с помощью теста Platelia Aspergillus IgG, оценивалась с использованием панели из 129 образцов, взятых у 64 пациентов из Франции с муковисцидозом и с риском наличия аспергиллезной инфекции. Из 129 образцов 53 оказались положительными, а 12 — промежуточными, при распространенности $53/129 = 41,1\%$ [95% ДИ: 32,5–50,1%], если промежуточные результаты считались отрицательными, и $65/129 = 50,4\%$ [95% ДИ: 41,4]. -59,3%], если промежуточные результаты считались положительными. Из 64 пациентов у 29 пациентов как минимум один образец оказался положительным и у 5 пациентов как минимум один образец оказался промежуточным, при этом положительных результатов не было получено при распространенности $29/64 = 45,3\%$ [95% ДИ: 32,8–58,3%], если промежуточные результаты считались отрицательными, и $34/64 = 53,1\%$ [95% ДИ: 40,2–65,7%], если промежуточные результаты считались положительными.

10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

10.1 Аналитические функциональные характеристики

10.1.1 Исследование прецизионности

Для определения прецизионности в пределах и между анализами с использованием теста Platelia Aspergillus IgG использовали панель из 6 образцов. Панель для определения воспроизводимости из 6 образцов включала 1 образец, дающий отрицательный результат, 3 образца, дающих слабо положительный результат, 1 образец, дающий среднее положительный результат, и 1 образец, дающий высокоположительный результат на антитела IgG к Aspergillus. Данные были проанализированы в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI; ранее Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам). Для каждого образца панели рассчитывали среднюю оптическую плотность (OD) и среднее значение титра, стандартное отклонение (SD) и процент коэффициента вариации (%CV), чтобы определить внутрисерийную прецизионность (в пределах одного анализа), внутрилабораторную промежуточную прецизионность (между анализами) и показатели прецизионности при использовании разных серий.

10.1.1.1 Повторяемость

Панель воспроизводимости (N = 6) испытывали в 32 повторностях в один день с использованием одной партии тестов Platelia Aspergillus IgG на одной площадке. Внутрисерийная прецизионность (в пределах одного анализа) каждого образца панели с OD и титром (УЕ/мл) составляет менее 5% и показана в таблице ниже.

Таблица I: Результаты исследования сходимости

Сходимость при использовании теста Platelia Aspergillus IgG	Отрицательный результат		1-Низко положительный		2-Низко положительный		3-Низко положительный		Средне положительный		Высокоположительный	
	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр
Среднее значение	0,080	2,44	0,308	9,31	0,281	10,31	0,397	13,64	0,777	31,69	1,007	43,10
SD	0,002	0,067	0,010	0,320	0,005	0,218	0,011	0,387	0,017	0,939	0,022	1,546
CV (%)	2,1%	2,7%	3,3%	3,4%	1,9%	2,1%	2,7%	2,8%	2,1%	3,0%	2,2%	3,6%

10.1.1.2 Внутрилабораторная прецизионность

Панель воспроизводимости (N = 6) испытывали в двух повторностях в течение 20 дней с 2 сериями испытаний в день (всего 80 повторов) с использованием одной испытуемой партии Platelia Aspergillus IgG. Показатели прецизионности между сериями испытаний, между днями и общая внутрилабораторная прецизионность (между анализами) по OD и титру (УЕ/мл) каждого образца панели показаны в таблице ниже.

Таблица II: Результаты определения прецизионности между анализами и в разные дни

Сходимость при использовании теста Platelia Aspergillus IgG	Отрицательный результат		1-Низко положительный		2-Низко положительный		3-Низко положительный		Средне положительный		Высокоположительный	
	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр	OD	Титр
Среднее значение	0,073	1,89	0,126	3,60	0,230	6,99	0,382	12,33	0,809	32,49	1,131	51,65
Внутрисерийная	OD	0,005	0,162	0,008	0,286	0,010	0,322	0,012	0,491	0,034	2,127	0,029
	Титр	6,3%	8,6%	6,3%	7,9%	4,2%	4,6%	3,1%	4,0%	4,2%	6,5%	2,6%
Между испытаниями	OD	0,002	0,186	0,005	0,388	0,012	0,892	0,024	1,438	0,034	5,053	0,048
	Титр	3,3%	9,9%	4,0%	10,8%	5,3%	12,7%	6,2%	11,7%	4,1%	15,6%	4,3%
Между лабораториями	OD	0,007	0,087	0,010	0,000	0,016	0,000	0,031	0,000	0,079	0,000	0,101
	Титр	9,2%	4,6%	7,7%	0,0% (**)	6,9%	0,0% (**)	8,0%	0,0% (**)	9,7%	0,0% (**)	8,9%

Внутри лаборатории	OD	0,009	0,261	0,014	0,482	0,022	0,948	0,041	1,520	0,092	5,482	0,116	7,715
	Титр	11,6%	13,9%	10,8%	13,4%	9,6%	13,6%	10,6%	12,3%	11,4%	16,9%	10,2%	14,0%

10.1.1.3 Прецизионность между партиями

Вариабельность в пределах партии (или прецизионность в пределах партии) при использовании теста Platelia *Aspergillus* IgG в исследовании определяли на панели из 9 образцов (один слабо положительный, один средне положительный, один высоко положительный, один внутренний положительный контроль (≈ 20 УЕ/мл) и пять калибраторов [от 0 до 80 УЕ/мл]. Каждый из 9 образцов группы был испытан в трех повторях (x3) в течение 3 дней с одним анализом в день с использованием трех разных партий на одной внутренней площадке, чтобы получить коэффициент вариации ниже или равный 20%, как показано в таблице ниже.

Таблицы III: Результаты исследования прецизионности в пределах партии

Прецизионность между партиями	Калибратор 0 УЕ/мл (R3)	Калибратор 5 УЕ/мл (R4a)	Калибратор 10 УЕ/мл (R4b)	Калибратор 20 УЕ/мл (R4c)	Калибратор 80 УЕ/мл (R4d)	Низко положительный	Средне положительный	Высокоположительный	Положительный КК
	OD	OD	OD	OD	OD	Титр	Титр	Титр	Титр
Кол-во повторов	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Среднее значение	0,023	0,383	0,699	1,185	1,991	8,04	16,80	50,43	19,05
SD	0,003	0,063	0,136	0,242	0,405	1,256	1,529	8,295	1,5
CV (%)	12,8%	16,3%	19,5%	20,4%	20,4%	15,6%	9,1%	16,4%	7,9%

10.1.2 Предел обнаружения

Предел обнаружения (LOD) теста Platelia *Aspergillus* IgG был определен в соответствии с CLSI EP17-A («Оценка способности обнаружения для клинических лабораторных процедур измерения», июнь 2012 г.) путем тестирования панели из пяти низко отрицательных и пяти высоко отрицательных образцов в 24 повторностях.

LOD теста Platelia *Aspergillus* IgG составляет 1,38 УЕ/мл.

LOD определяли как $LOB + CV \times \text{объединенное SD}$ с:

LOB (предел холостой пробы), который составил 0,68 УЕ/мл при тестировании пяти низко отрицательных образцов в 24 повторностях.

$CV = 1,645 / (1 - (1/4.f))$, где f = степени свободы = 115 объединенных SD, полученных путем тестирования пяти высокоотрицательных образцов в 24 повторностях.

10.1.3 Диапазон измерений

Для калибровочной кривой использовали 5 калибраторов от 0 до 80 мМЕ/мл, что охватывает диапазон измерения от 0 до 80 мМЕ/мл.

10.1.4 Диапазон линейности

Линейность теста была подтверждена в диапазоне титров от 0 до 80 УЕ/мл с помощью панели из пяти высоко положительных образцов, протестированных в неразбавленном виде и разведенных в соотношении 1:1,5; 1:2; 1:4; 1:8; 1:10; 1:15 и 1:20.

Экспериментальный и теоретический титры сравнивали с помощью линейной регрессии, после чего получили значительно идентичные результаты (наклон 1; точка пересечения 0) между 0 и 80 УЕ/мл.

10.1.5 Аналитическая специфичность

Провели испытания на перекрестную реактивность 126 образцов, представляющих восемь потенциально интерферирующих заболеваний (от 10 до 54 различных образцов на одно заболевание), с помощью теста Platelia *Aspergillus* IgG.

Два образца с положительным результатом на антитела к *Candida* продемонстрировали реактивность при использовании теста Platelia *Aspergillus* IgG. Однако эти два образца также дали положительные результаты (титр > 400) при использовании теста *Aspergillus fumigatus* с маркировкой CE в качестве стандарта. Таким образом, эти два положительных на *Candida* образца считались истинно положительными при использовании теста Platelia *Aspergillus* IgG и исключались из расчета.

Специфичность теста составила 100,0% (124/124) с 95% ДИ [97,1–100%], перекрестная реактивность отсутствовала, как показано в таблице ниже.

Таблица IV: Перекрестные реакции с тестом Platelia *Aspergillus*

Панель	Nbr	Отрицательный результат	Ложно положительный результат
Антитела к <i>Candida</i>	54	52	2
Антинуклеарные антитела ANA	10	10	0
Антитела к двухцепочечной ДНК	10	10	0
Антитела человека к иммуноглобулину мыши (HAMA)	12	12	0

Ревматоидный фактор	10	10	0
Антитела IgG к миеломе	10	10	0
Антитела IgG к токсоплазме	10	10	0
ВИЧ	10	10	0

10.1.6 Эффект высокой дозы

Восемь образцов с высоким титром испытывали в четырех повторностях с помощью теста Platelia *Aspergillus* IgG в чистом виде и после разведения в соотношении 1:20, 1:40 и 1:60 в разбавителе R7a.

Средние результаты определения OD или титра демонстрируют отсутствие эффекта высокой дозы при использовании теста Platelia *Aspergillus* IgG для анализа образцов антител к *Aspergillus* с высоким титром.

10.2 Характеристики клинической эффективности

Проводились ретроспективные клинические исследования эффективности на двух площадках с использованием 499 образцов от 328 пациентов. Клинический статус пациентов с аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБРА) определяли в соответствии с международными правилами диагностики АБРА (правила Rosenberg и Patterson) по результатам определения общего уровня антител IgE, серологического анализа аспергиллеза, электросинереза и по клиническим данным. Для определения диагностической чувствительности теста Platelia использовалась популяция с ранее перенесенным, подозреваемым или подтвержденным АБРА. Для определения диагностической специфичности результаты, которые были получены при анализе образцов беременных женщин, прошедших скрининг на токсоплазмоз и не имеющих симптомов аспергиллеза, считали отрицательными на аспергиллез. При использовании теста Platelia для мониторинга состояния пациента, у которого проводился последовательный отбор проб, пациент считался положительным, если хотя бы один результат анализа образца из серии был положительным. Пациент считался промежуточным, если результат анализа хотя бы одного образца из серии оказывался промежуточным и не положительным. Пациент считался отрицательным, если результаты анализа всех образцов из серии были признаны отрицательными. Результаты определения распространенности в образцах или пациентах, выбранных для анализа, были получены в виде процента положительных результатов от общего числа образцов или пациентов с подозрением на заболевание.

10.2.1 Специфичность диагностики

Диагностическая специфичность теста Platelia *Aspergillus* определялась с помощью панели из 222 образцов сыворотки крови, собранных на двух площадках у 222 беременных женщин, у которых не было симптомов аспергиллезной инфекции. Диагностическая специфичность составила 99,6% (221/222) с 95 ДИ [97,5–100], если промежуточные результаты считались положительными, и 100% (222/222) с 95 ДИ [98,4–100], если промежуточные результаты считались отрицательными.

Таблица V: Диагностическая специфичность теста Platelia *Aspergillus* IgG

Исследовательский центр	Количество образцов	Результаты Platelia <i>Aspergillus</i> IgG			Специфичность	
		Отрицательный результат	Промежуточный результат	Положительный результат	Промежуточные пациенты считаются положительными	Промежуточные пациенты считаются отрицательными
1	200	199	1	0	99,5% 95% ДИ [97,2–100%]	100% 95% ДИ [98,2–100%]
2	22	22	0	0	100% 95% ДИ [84,6–100%]	100% 95% ДИ [84,6–100%]
Всего	222	221	1	0	99,6% 95% ДИ [97,5–100%]	100% 95% ДИ [98,4–100%]

10.2.2 Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность теста Platelia *Aspergillus* определялась с помощью панели из 277 образцов сыворотки крови, собранных на двух площадках у 106 пациентов, которые были разделены следующим образом:

- На площадке 1 исследовали 129 образцов сыворотки крови, собранных у 64 больных муковисцидозом с высоким риском развития аллергического бронхолегочного аспергиллеза (АБРА).
- На площадке 2 исследовали 148 образцов сыворотки крови, собранных у 42 пациентов с подтвержденным тяжелым хроническим аспергиллезом.

Результаты, полученные на площадке 1

В приведенных ниже таблицах (на образец или пациента) суммированы результаты, полученные на площадке 1 у популяции пациентов с муковисцидозом, у которых диагноз АБРА был поставлен на основании клинических данных, вместе с полученными результатами определения общего уровня антител IgE, электросинереза *Aspergillus*, обнаружения антигенов *Aspergillus* и обнаружения антител IgG к *Aspergillus* с помощью представленного в продаже ИФА-теста, отличного от Platelia *Aspergillus* IgG, используемого в качестве теста сравнения. Пациенты были разделены на четыре категории: отсутствие АБРА, ранее перенесенный АБРА, подозрение на АБРА и подтвержденный АБРА 10, 13. При этом отсутствие АБРА не исключало наличие другой аспергиллезной патологии 15. Статус пациента, которые прошли анализ на *Aspergillus* методом электросинереза или с помощью теста Platelia *Aspergillus* IgG, считался положительным, если хотя бы один из образцов пациента дал положительный результат при использовании соответствующего метода.

В противном случае статус считался промежуточным, если хотя бы один из образцов пациентов давал промежуточный результат, и отрицательным, если все образцы пациентов давали отрицательный результат.

На основании количества результатов на образец общая степень сходимости теста Platelia с тестом сравнения по всем классам АВРА была оценена следующим образом:

- 82,2% (52+44+1+4+5/129) с 95% ДИ [74,5–88,4], если промежуточные результаты считались положительными
- 83,7% (52+5+6+1+44/129) с 95% ДИ [76,2–89,6], если промежуточные результаты считались отрицательными
- 88,9% (52+44/129-10-12+1) с 95% ДИ [81,4–94,1], если промежуточные результаты были исключены

На основании анализа образцов с использованием теста Platelia и теста сравнения отрицательная, положительная и общая степень сходимости находится в пределах 80–90%.

Распространенность результатов, полученных при использовании теста Platelia, на основе образцов из предполагаемой популяции больных муковисцидозом с риском инфицирования аспергиллезом, составляет 50,4% (65/129), если промежуточные результаты считались положительными, и 41,1% (53/129), если промежуточные результаты считались отрицательными.

Таблица VI: Результаты использования теста Platelia Aspergillus IgG и теста сравнения по отдельным образцам

Популяция	Статус ИЕР	Всего	Platelia Aspergillus IgG			Другой коммерческий тест, используемый в качестве теста сравнения		
			Отриц.	Промеж.	Положит.	Отриц.	Промеж.	Положит.
Без АВРА	Отриц.	65	50	5	10	55	4	6
	Положит.	23	3	2	18	2	3	18
Ранее перенесенный АВРА	Отриц.	14	5	3	6	1	2	11
	Положит.	0	0	0	0	0	0	0
Подозрение на АВРА	Отриц.	4	0	1	3	0	0	4
	Положит.	2	0	0	2	0	0	2
Подтвержденный АВРА	Отриц.	12	5	0	7	4	1	7
	Положит.	9	1	1	7	1	0	8
Всего	Все	129	64	12	53	63	10	56

Таблица VII: Таблица сходимости между тестом Platelia и ИФА-тестом на антитела IgG к Aspergillus, используемым для сравнения (все классы АВРА, на основе образцов)

Аспергиллез у больных муковисцидозом (N = 129, все классы АВРА)		Platelia Aspergillus IgG			
		Отрицательный результат	Промежуточный результат	Положительный результат	Всего
Aspergillus IgG для сравнения	Отрицательный результат	52	6	5	63
	Промежуточный результат	5	1	4	10
	Положительный результат	7	5	44	56
	Всего	64	12	53	129

На основании количества результатов на одного пациента, которое представлено в таблице ниже, общая степень сходимости теста Platelia с тестом сравнения по всем классам АВРА была оценена следующим образом:

- 84,4% (27+26+1/64) с 95% ДИ [73,1–92,2], если промежуточные результаты считались положительными
- 92,2% (27+2+4+26/64) с 95% ДИ [82,7–97,4], если промежуточные результаты считались отрицательными
- 93,0% (27+26/57) с 95% ДИ [83,0–98,1], если промежуточные результаты были исключены

На основании совпадения положительных результатов при использовании теста сравнения диагностическая чувствительность теста Platelia Aspergillus IgG составляет 90,0% (26+1/28+2) с 95% ДИ [73,5–97,9], если промежуточные результаты считались положительными, 92,9% (26/28) с 95% ДИ [76,5–99,1], если промежуточные результаты считались отрицательными, и 92,9% (26/28) с 95% ДИ [76,5–99,1], если все промежуточные результаты были исключены.

На основании анализа пациентов при использовании теста Platelia и теста сравнения отрицательная, положительная и общая степень сходимости находится в пределах 85–95%. На основании клинических данных и после исключения данных «без АВРА» диагностическая чувствительность теста Platelia Aspergillus IgG, рассчитанная у одного пациента, оценивается в 93,3% (14/15).

Распространенность результатов, полученных при использовании теста Platelia, на основе пациентов из предполагаемой популяции больных муковисцидозом с риском инфицирования аспергиллезом, составляет 53,1% (34/64), если промежуточные результаты считались положительными, и 45,3% (29/64), если промежуточные результаты считались отрицательными.

Таблица VIII: Частота положительных результатов при использовании теста Platelia Aspergillus IgG и теста сравнения в зависимости от пациентов с АРВА и результатов ИЕР

Популяция	Статус ИЕР	Nb r	Platelia Aspergillus IgG						Aspergillus IgG для сравнения				
			Результаты			Положительный показатель			Результаты			Положительный показатель	
			Отриц.	Промеж.	Положит.	Промеж. = Отриц.	Промеж. = Полож.		Отриц.	Промеж.	Положит.	Промеж. = Отриц.	Промеж. = Полож.
Без АВРА	Отриц.	40	29	4 ⁽¹⁾	7 ⁽²⁾	7/40 17,5%	11/40 27,5%		34	2	4	4/40 10,0%	6/40 15,0%
	Положит.	9	0	1	8	8/9 88,9%	9/9 100%		0	0	9	9/9 100%	9/9 100%
Ранее перенесенный АВРА	Отриц.	5	0	0	5 ⁽³⁾	5/5 100%	5/5 100%		0	0	5	5/5 100%	5/5 100%
	Положит.	0	0	0	0	-	-		0	0	0	-	-
Подозрение на АВРА	Отриц.	2	0	0	2 ⁽⁴⁾	2/2 100%	2/2 100%		0	0	2	2/2 100%	2/2 100%
	Положит.	2	0	0	2	2/2 100%	2/2 100%		0	0	2	2/2 100%	2/2 100%
Подтвержденный АВРА	Отриц.	3	1	0	2 ⁽⁵⁾	2/3 66,7%	2/3 66,7%		0	0	3	3/3 100%	3/3 100%
	Положит.	3	0	0	3	3/3 100%	3/3 100%		0	0	3	3/3 100%	3/3 100%
Всего	Все	64	30	5	29	29/64 45,3%	34/64 53,1%		34	2	28	28/64 43,8%	30/64 46,9%

Примечания: (1): 100% (4/4) промежуточных результатов с использованием набора Platelia Aspergillus IgG дали отрицательный результат при использовании набора для ИФА сравнения, предназначенного для обнаружения антител к IgG Aspergillus; (2): 57% (4/7) положительных результатов с использованием набора Platelia Aspergillus IgG дали положительный результат при использовании набора для ИФА сравнения; (3): 100% (5/5) положительных результатов с использованием набора Platelia Aspergillus IgG дали положительный результат при использовании набора для ИФА сравнения; (4): 100% (2/2) положительных результатов с использованием набора Platelia Aspergillus IgG дали положительный результат при использовании набора для ИФА сравнения; (5): 100% (2/2) положительных результатов с использованием набора Platelia Aspergillus IgG дали положительный результат при использовании набора для ИФА сравнения.

Таблица IX: Таблица сходимости между тестом Platelia и ИФА-тестом на антитела IgG к Aspergillus, используемым для сравнения (все классы АВРА, на основе пациентов)

Аспергиллез у больных муковисцидозом (N = 64, все классы АВРА)		Platelia Aspergillus IgG			
		Отрицательный результат	Промежуточный результат	Положительный результат	Всего
Aspergillus IgG для сравнения	Отрицательный результат	27	4	3	34
	Промежуточный результат	2	0	0	2
	Положительный результат	1	1	26	28
	Всего	30	5	29	64

Результаты, полученные на площадке 2

В таблице ниже (на образец или пациента) представлены результаты, полученные на площадке 2 у популяции пациентов с тяжелым хроническим аспергиллезом, набранных на основе совместимой визуализации легких, культур мокроты, положительных на Aspergillus, и аспергиллез-положительных серологических тестов с использованием метода иммуноэлектрофореза (ИЭП).

На основании количества результатов на образец общая степень сходимости теста Platelia с тестом сравнения была оценена следующим образом:

- 88,5% (5+2+115+4+5/148) с 95 ДИ [82,2–93,2], если промежуточные результаты считались положительными
- 86,5% (5+2+115+5+1/148) с 95 ДИ [79,9–91,6], если промежуточные результаты считались отрицательными
- 91,6% (5+115/148-7-12+2) с 95 ДИ [85,5–95,7], если промежуточные результаты были исключены

На основании анализа образцов с использованием теста Platelia и теста сравнения отрицательная, положительная и общая степень сходимости находится в пределах 85–92%.

Распространенность результатов, полученных при использовании теста Platelia, на основе образцов пациентов с подтвержденным тяжелым хроническим аспергиллезом составляет 93,2% (138/148), если промежуточные результаты считаются положительными, и 85,1% (126/148), если промежуточные результаты считаются отрицательными.

Таблица X: Частота положительных результатов при использовании теста Platelia Aspergillus IgG и теста сравнения (образцы) согласно результатам ИЕР

Популяция	Статус ИЕР	Nbr	Platelia Aspergillus IgG					Aspergillus IgG для сравнения				
			Результаты			Положительный показатель		Результаты			Положительный показатель	
			Отриц.	Промеж.	Положит.	Промеж. = Отриц.	Промеж. = Полож.	Отриц.	Промеж.	Положит.	Промеж. = Отриц.	Промеж. = Полож.
Подтвержденный тяжелый хронический аспергиллез	Отриц.	17	6	5	6	6/17 35,3%	11/17 64,7%	9	1	7	7/17 41,2%	8/17 47,1%
	Промеж.	22	3	4	15	15/22 68,2%	19/22 86,4%	3	3	16	16/22 72,7%	19/22 86,4%
	Положит.	109	1	3	105	105/109 96,3%	108/109 99,1%	5	3	101	101/109 92,7%	104/109 95,4%
Всего	Все	148	10	12	126	126/148 85,1%	138/148 93,2%	17	7	124	124/148 83,8%	131/148 88,5%

Таблица XI: Таблица сходимости между тестом Platelia и ИФА-тестом на антитела IgG к Aspergillus, используемым для сравнения (образцы) с подтвержденным тяжелым хроническим аспергиллезом

Пациенты с аспергиллезом и муковисцидозом (N = 148)		Platelia Aspergillus IgG			
		Отрицательный результат	Промежуточный результат	Положительный результат	Всего
Aspergillus IgG для сравнения	Отрицательный результат	5	5	7	17
	Промежуточный результат	1	2	4	7
	Положительный результат	4	5	115	124
	Всего	10	12	126	148

На основании количества результатов на одного пациента, которое представлено в таблице ниже, общая степень сходимости теста Platelia с тестом сравнения по всем классам АВРА была оценена следующим образом:

- 92,9% (36+1+1+1/42) с 95 CI [80,5–98,5], если промежуточные результаты считались положительными
- 92,9% (36+1+1+1/42) с 95 CI [80,5–98,5], если промежуточные результаты считались отрицательными
- 94,9% (36+1/42-2-2+1) с 95 CI [82,7–99,4], если промежуточные результаты были исключены.

На основании совпадения положительных результатов при использовании теста сравнения диагностическая чувствительность теста Platelia Aspergillus IgG составляет 97,4% (36+1+1/37+2) с 95 CI [86,5–99,9], если промежуточные результаты считались положительными, 97,3% (36/37) с 95 CI [85,8–99,9], если промежуточные результаты считались отрицательными, и 100,0% (36/37-1) с 95 CI [90,3–100], если все промежуточные результаты были исключены.

На основании клинических данных (все пациенты, положительные на аспергиллез) диагностическая чувствительность Platelia Aspergillus IgG в расчете на одного пациента оценивается в 95,2% (40/42) с 95 CI [83,8–99,4], если промежуточные результаты считались положительными, 90,5% (38/42) с 95 CI [77,4–97,3], если промежуточные результаты считались отрицательными, и 95,0% (38/40) с 95 CI [83,1–99,4], если все промежуточные результаты были исключены из расчета. Распространенность результатов, полученных при использовании теста Platelia, на основе пациентов с подтвержденным тяжелым хроническим аспергиллезом составляет 95,2% (40/42), если промежуточные результаты считаются положительными, и 90,5% (38/42), если промежуточные результаты считаются отрицательными.

Таблица XII: Частота положительных результатов при использовании теста Platelia Aspergillus IgG и теста сравнения (пациенты) согласно результатам ИЕР

Популяция	Статус ИЕР	N	Platelia Aspergillus IgG						Aspergillus IgG для сравнения					
			Результаты			Положительный показатель			Результаты			Положительный показатель		
			Отриц.	Промеж.	Положит.	Промеж. = Отриц.	Промеж. = Полож.		Отриц.	Промеж.	Положит.	Промеж. = Отриц.	Промеж. = Полож.	
Подтвержденный тяжелый хронический аспергиллез	Отриц.	3	1	1	1	1/3 33,3%	2/8 66,7%		1	1	1	1/3 33,3%	2/3 66,7%	
	Промеж.	3	1	0	2	2/3 66,7%	2/3 66,7%		1	1	1	1/3 33,3%	2/3 66,7%	
	Положит.	36	0	1	35	35/3 97,2%	36/36 100%		1	0	35	35/36 97,2%	35/36 97,2%	
Всего	Все	42	2	2	38	38/42 90,5%	40/42 95,2%		3	2	37	37/42 88,1%	39/42 92,9%	

Таблица XIII: Таблица сходимости между тестом Platelia и ИФА-тестом на антитела IgG к Aspergillus, используемым для сравнения (пациенты с подтвержденным тяжелым хроническим аспергиллезом)

Пациенты с подтвержденным тяжелым хроническим аспергиллезом (N = 42)		Platelia Aspergillus IgG			
		Отрицательный результат	Промежуточный результат	Положительный результат	Всего
Aspergillus IgG для сравнения	Отрицательный результат	1	0	2	3
	Промежуточный результат	1	1	0	2
	Положительный результат	0	1	36	37
	Всего	2	2	38	42

11 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Agarwal, R. 2009. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Chest 135 (3): p 805-826.
2. Agarwal, R., Nath, A., Aggarwal, A. N., Gupta, D., Chakrabarti, A. 2009. Aspergillus hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with acute severe asthma in a respiratory intensive care unit in North India. Mycoses 24.
3. Centeno-Lima, S., de Lacerda, J. M., do Carmo, J. A., Abecasis, M., Casimiro, C., Exposto, F. 2002. Follow-up of anti-Aspergillus IgG and IgA antibodies in bone marrow transplanted patients with invasive aspergillosis. Journal of clinical laboratory analysis 16: p156-162.
4. Denning, D. W. 2001. Chronic forms of pulmonary aspergillosis. Clinical microbiology and infection 7 (Suppl 2): p25-31.
5. Denning, D. W. 2013. Global burden of allergic bronchopulmonary aspergillosis with asthma and its complication chronic pulmonary aspergillosis in adults. Med Mycol.
6. Latzin, P., Hartl, D., Regamey, N., Frey, U., Schoeni, M. H., Casaulta C. 2008. Comparison of serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. Eur. Respiratory Journal 31: p36-42.
7. Pagella, F., Matti, E., De Bernardi, F., Semino, L., Cavanna, C., Marone, P., Farina, C., Castelnovo, P. 2007. Paranasal sinus fungus ball: diagnosis and management. Mycoses 50: p451-456.
8. Sarfati, J., Monod, M., Recco, P., Sulahian, A., Pinel, C., Candolfi, E., Fontaine, T., Debeaupuis, J.P., Tabouret, M., Latgé, J.P. 2006. Recombinant antigens as diagnostic markers for aspergillosis. Diagnostic microbiology and infectious disease 55: p. 279-291.
9. Schubert, M. S. 2009. Allergic fungal sinusitis: pathophysiology, diagnosis and management. Medical Mycology p1-7.
10. Shah, A. 2008. Aspergillus-associated hypersensitivity respiratory disorders. Indian journal of Chest disease and allied sciences 50: p117-128
11. Shah, R., Vaideeswar, P., Pandit, S. P. 2008. Pathology of pulmonary aspergillomas. Indian journal of pathology and microbiology 51 (3): p342- 345.
12. Tazakono, 2018. Recent advances in diagnosing chronic pulmonary aspergillosis. Front. Microbiol.
13. Thia, L. P., Balfour Lynn, I. M. 2009. Diagnosing allergic bronchopulmonary aspergillosis in children with cystic fibrosis, Paediatric Respiratory Reviews 10: p37-42
14. Tillie-Leblond, I., Tonnel, A. B. 2005. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Allergy 60: p1004-1013.
15. Virnig, C., Bush, R. K. 2007. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: a US perspective. Current opinion in Pulmonary Medicine 13: p67-71.

(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

(EN)

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/

09.2020
0001310

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

Инструкция по применению полностью пересмотрена в соответствии с новым Европейским Регламентом (EU) 2017/746 (IVDR).

Основные отличия от предыдущей версии выделены серым цветом. Заголовок, выделенный серым цветом, указывает на существенные изменения в содержании главы. Пожалуйста, прочтите внимательно.

Для Европейского Союза (Регламент 2017/746/EU) краткий обзор безопасности и эффективности данного медицинского изделия доступен в EUDAMED по ссылке <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.

/Логотип: BIO RAD/

1/24 (EN)

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 *C. 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 маннани, 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 маннани.

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 маннани — маннановый антиген — моноклональное антитело к маннани/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 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 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 °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 стустку 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)

- B1: калибратор 500 пг/мл (R4d)
- C1: калибратор 250 пг/мл (R4c)
- D1: калибратор 125 пг/мл (R4b)
- E1: калибратор 62,5 пг/мл (R4a)
- 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	R4a	S6										
F	R3	S7										
Г	R0	S8										
Н	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, R4a 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 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.
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 $+19-25^\circ\text{C}$ в течение 30 ± 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 маннану: даже в случае инвазивного кандидоза маннановый антиген сложнее обнаружить у пациентов с положительным результатом на антитела к маннану (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 маннану 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 планшето 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 гидроксипропильного крахмала (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 гидроксипропильного крахмала.
10. Наблюдались ложноположительные результаты для образцов, которые при проверке являлись реактивными в отношении антител к токсоплазме.

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 низкوپоложительный 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 маннаны с помощью набора Platelia Candida Ab Plus. Статус пациента в отношении присутствия маннанового антигена *Candida* или антител к маннаны *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 Candida 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), демонстрирующих 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 Platelia Candida 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 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 Platelia Candida Ag Plus		
	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 spp.</i>	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. Ascioglu, 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-TecCandida 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

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

Инструкция по применению полностью пересмотрена в соответствии с новым Европейским Регламентом (EU) 2017/746 (IVDR).

Основные отличия от предыдущей версии выделены серым цветом. Заголовок, выделенный серым цветом, указывает на существенные изменения в содержании главы. Пожалуйста, прочтите внимательно.

Для Европейского Союза (Регламент 2017/746/EU) краткий обзор безопасности и эффективности данного медицинского изделия доступен в EUDAMED по ссылке <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.

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 *анти-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%, бромонитродιοоксан 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%, бромонитродιοоксан 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%, бромонитродιοоксан 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%, бромонитродιοоксан 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%, бромонитродιοоксан 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 °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 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 фоновых 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 °C, если анализ выполняют в течение 4 дней.
- Если анализ не выполнен в течение 4 дней, образцы замораживают при -20 °C (или -80 °C).
- 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 гемолизированные 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										
H	S3	S11										

- 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.
- 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.
- 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.

- Затем распределяют 200 мкл R4d, R4c, R4b, R4a и R3 в соответствии с последовательностью планшета.
- При возможности (например, при ручной обработке) микропланшет закрывают при помощи приспособления для заклеивания планшетов, чтобы вся поверхность была закрыта и защищена от воды.
- Непосредственно после этого микропланшет инкубируют в сухом термостате для микропланшетов в течение 60 ± 5 минут при 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).
- 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.
- 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.
- Добавляют 200 мкл раствора конъюгата (R6) в каждую лунку.
- При возможности (например, при ручной обработке) микропланшет закрывают при помощи приспособления для заклеивания планшетов, чтобы вся поверхность была закрыта и защищена от воды.
- Непосредственно после этого микропланшет инкубируют в сухом термостате для микропланшетов в течение 60 ± 5 минут при 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).
- 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.
- Быстро добавляют 200 мкл раствора хромогена (R9) в каждую лунку, не допуская воздействия яркого света.
- Микропланшет инкубируют в темноте при температуре $18-30^\circ\text{C}$ в течение 30 ± 5 минут. На этапе инкубирования не используют клейкую пленку.
- Добавляют 100 мкл останавливающего раствора (R10) в каждую лунку, придерживаясь того же порядка и темпа, как при добавлении раствора хромогена. Тщательно перемешивают.
- Тщательно вытирают дно каждого планшета.
- 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.
- 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 антиманнанных антител (ЕОП/мл) в исследуемых образцах

Концентрацию антиманнанных 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 антиманнанных антител.
- Образцы с концентрацией в пределах от 5 до 10 ЕОП/мл ($5 \leq C < 10$) расценивают как «промежуточные» в отношении наличия антиманнанных антител.
- Образцы с концентрацией ≥ 10 ЕОП/мл ($C \geq 10$) расценивают как «положительные» в отношении наличия антиманнанных 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 антиманнанных антител также следует сравнить с результатами теста на маннанный антиген: даже в случае инвазивного кандидоза антиген сложнее обнаружить у пациентов с положительным результатом на антиманнанные антитела (смотрите 10 - Эффективность).
3. Определение антиманнанных антител в сыворотке или плазме связано с частотой проведения тестов у пациента. Регулярный мониторинг пациентов из группы риска и тестирование на маннанный 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 антиманнанных 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 низкوپоложительный результат (№ 1)	10,2	0,424	4,2%	30
Образец, демонстрирующий низкوپоложительный результат (№ 2)	10,1	0,464	4,6%	30
Образец, демонстрирующий среднеположительный результат	38,4	3,836	10,0%	30
Образец, демонстрирующий высокوپоложительный 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 Внутривлабораторная 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 внутривлабораторной 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 низкوپоложительный 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 низкوپоложительный 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 высокوپоложительный 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 внутривлабораторной 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 низкوپоложительный результат (№ 1)	6	10,2	0,64	6,3%	1,35	13,3%	1,49	14,7%
Образец, демонстрирующий низкوپоложительный 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 (nbg = 203) включала образцы, демонстрирующие положительный результат в отношении антител к токсоплазме (10), миселоме (IgG и IgM) (20), ревматоидному фактору (31), аутоантителам (ANA) (10), антителам человека к Ig мыши (HAMA) (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 токсоплазмоза	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 Platelia <i>Candida</i> Ab 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.	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</i> spp.	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 Platelia <i>Candida</i> Ab Plus и 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.	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</i> spp.	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/промеж точный 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/промеж точный 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. Ascoglu, 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., Siampili, 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 precaution.
(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 atermék 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 žmogiškos arba gyvulinės kilmės medžiagg. Elgtis atsargiai.
(LV) • Šis produkts satur cilvēku val 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 contine materiale de origine umană sau animală. Manipulati cu atentie.
(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

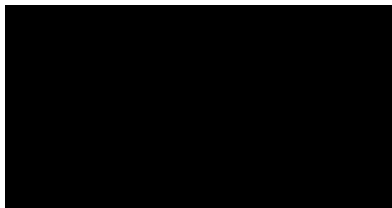
11.2020
0001313

Инструкция по применению тест-системы для определения антител к *Platelia Aspergillus* IgG

48

62786

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С PLATELIA ASPERGILLUS IgG (кат. № 62783)



Инструкция по применению полностью пересмотрена в соответствии с новым Европейским Регламентом (EU) 2017/746 (IVDR).

Основные отличия от предыдущей версии выделены серым цветом. Заголовок, выделенный серым цветом, указывает на существенные изменения в содержании главы. Пожалуйста, прочтите внимательно.

Для Европейского Союза (Регламент 2017/746/ЕС) краткий обзор безопасности и эффективности данного медицинского изделия доступна в открытом доступе EUDAMED <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.

