



Dynamiker Biotechnology (Tianjin) Co., Ltd.
Test de hongos con glucano (1-3)- β -D de Dynamiker
N.º de catálogo: DNK-1401-1
Manual del usuario / 96 pruebas

CONTENIDO

1. USO PREVISTO.....	1
2. PRINCIPIO	1
3. RESUMEN Y EXPLICACIÓN	1
4. COMPONENTES DEL KIT	1
5. MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS	2
6. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD	2
7. TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO	2
8. PROCEDIMIENTO	2
9. ANÁLISIS DE DATOS	3
10. CONTROL DE CALIDAD.....	4
11. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	4
12. RENDIMIENTO CLÍNICO	4
13. LIMITACIONES	4
14. ADVERTENCIAS.....	5
15. REFERENCIAS.....	5
16. FABRICANTE	5



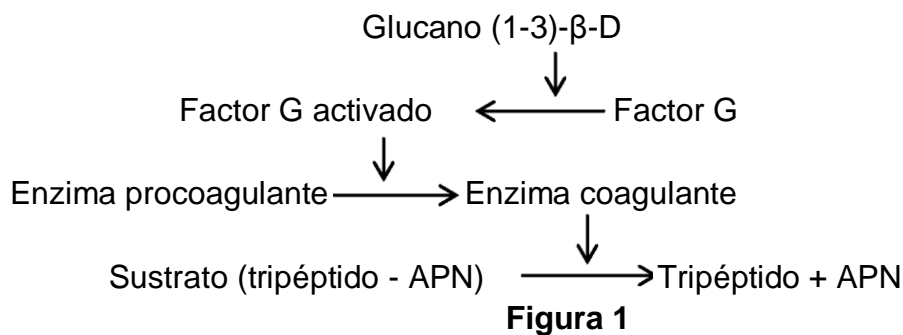
1. USO PREVISTO

El glucano (1-3)- β -D es el componente de la pared celular principal de la mayoría de los hongos, tales como *Candida*, *Aspergillus* y *Fusarium*, etc. y está presente en bacterias, virus o células humanas.

El ensayo de glucano (1-3)- β -D del hongo se basa en la espectrometría para la detección cuantitativa del glucano (1-3)- β -D en el suero humano. Ofrece una referencia de diagnóstico para las enfermedades micóticas invasivas. El kit está pensado para un uso profesional exclusivamente.

2. PRINCIPIO

El ensayo de hongos con (1-3)- β -D-glucano de Dynamiker se basa en decisiones como se muestra a continuación (figura 1). Los sueros pretratados se añaden al reactivo principal que contiene el factor G. El factor G es activado por el (1-3)- β -D-glucano y el factor G activado convierte la enzima procoagulante en una enzima coagulante. La enzima coagulante hidroliza el sustrato (Boc-leu-Gly-Arg-PNA) para liberar PNA. La absorbancia se mide cinéticamente a 405 nm. La concentración de glucano (1-3)- β -D se interpreta conforme a la curva estándar.



3. RESUMEN Y EXPLICACIÓN

En los últimos años, con el creciente número de trasplantes de células madre y destinatarios de trasplante de órganos sólidos; el uso creciente de dosis excesivamente altas de inmunodepresores y quimioterapia agresiva; el uso generalizado de terapias intervencionistas y el catéter permanente, la incidencia de enfermedades fúngicas invasivas (IFI) ha aumentado notablemente. La enfermedad fúngica invasiva (IFI) se ha convertido en una causa principal de complicaciones graves y muerte en pacientes receptores de una médula ósea o trasplante de órganos y aquellos pacientes que recibieron quimioterapia debido a una hematofagia maligna y a un tumor, pacientes con SIDA y aquellos en condiciones críticas. El diagnóstico de micosis invasiva generalmente implica un diagnóstico no específico o técnicas radiológicas.

4. COMPONENTES DEL KIT

N.º	Componente	Contenido	Cantidad
R1	Reactivo principal	Factor G y enzima procoagulante	4x2.6 mL
R2	Solución de tratamiento A	Solución KOH	1x3 mL



A/1

R3	Solución tratamiento B	Solución KCl	1x3 mL
R4	Estándar	(1-3)- β -D-glucano en polvo liofilizado	1x1,5mL
R5	Control	(1-3)- β -D-glucano en suero liofilizado	1x1,5mL
R6	Diluyente	Agua desionizada	3x8 mL
R7	Solución de reconstitución	Tampón Tris-HCl	4x3 mL
R8	Microplaca rompible	-	12 x 8 pocillos

5. MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

Todos los materiales desechables deben ser sin glucano.

5.1 Guantes desechables (libres de polvo)

5.2 Tubos de succión estériles

5.3 Centrifugadora

5.4 Pipeta (ajustable, 5-25 μ L y 200-1 000 μ L)

5.5 Mezclador vórtex

5.6 Temporizador

5.7 Tubos de transferencia (para la dilución de la muestra o estándar)

5.8 Puntas de pipeta (200 μ L y 1000 μ L)

5.9 Fotómetro con lectura cinética y función de incubación a 37°C

6. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit puede almacenarse hasta 12 meses a 2-8°C.

7. TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

7.1 Tome muestras de 4 mL de sangre conforme al estándar de los procedimientos de laboratorio utilizando tubos de vacío estériles sin glucano. Asegúrese de que la muestra no esté contaminada por esporas fúngicas o bacterias.

7.2 Centrifugar la muestra de sangre a temperatura ambiente a 400xg de 10 a 15 minutos.

7.3 Recopile el suero y realice la prueba en menos de 2 horas.

7.4 El suero debería almacenarse a 2-8°C durante menos de 24 horas. Evite la reconstitución repetida de la muestra de suero. Solo es posible congelar la muestra de suero una vez.

7.5 Pueden haber resultados imprecisos en el caso de algunas muestras especiales: Hemólisis, muestra turbia con alta concentración de lípidos, ictericia.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Preparación de la solución estándar





A/1

8.1.1 Disuelva un vial de estándar (R4) con 1,5mL de diluyente (R6) para hacer una solución A (200 pg/mL). Agite durante al menos 1 minuto.

8.1.2 Realice una dilución en serie de la solución A para preparar las soluciones B, C, D y E paso a paso.

Dilución en serie	Solución preparada
Estándar de glucano (1-3)- β -D	Solución A de 200 pg/mL
Solución A 0,5 mL + diluyente de 0,5 mL	Solución B de 100 pg/mL
Solución B de 0,5 mL + diluyente de 0,5 mL	50 pg/mL Solución C
Solución C de 0,5 mL + diluyente de 0,5 mL	25 pg/mL Solución D
Solución D de 0,5 mL + diluyente de 0,5 mL	Solución E de 12,5 pg/mL

Nota:

(1) Todas las soluciones anteriores están preparadas para la curva estándar. La concentración estándar debería multiplicarse por tres, de modo que la concentración estándar para las soluciones A, B, C, D y E debería ajustarse a 600 pg/mL, 300 pg/mL, 150 pg/mL, 75 pg/mL y 37.5 pg/mL.

(2) Si los estándares necesitan utilizarse repetidamente, divida el paquete adecuadamente y almacénelo bajo -20°C durante menos de 30 días. Los estándares solo pueden congelarse y descongelarse una vez. Descongele los estándares antes de usar y agite durante 30 segundos para mezclar bien.

8.2 Reconstitución del control positivo

Añada 1,5 mL de diluyente (R6) a la botella que contenga el control (R5). Agite durante al menos 1 minuto.

Nota:

Si el control necesita utilizarse repetidamente, divida el paquete adecuadamente y almacénelo bajo -20°C durante menos de 30 días. El control puede solo congelarse y descongelarse una vez. Descongele el control antes de usar y agite durante 30 segundos para mezclar bien.

8.3 Adición de control negativo

Añada 60 μL de diluyente (R6) en un pocillo como control negativo.

8.4 Adición de soluciones estándar

Agregar 60 μL de soluciones estándares (A, B, C, D y E) respectivamente en los pocillos de la microplaca.

8.5 Preparación de la solución de tratamiento

Mezclar la solución de tratamiento A (R2) y B (R3) en una proporción de 1:1 para crear una solución de pretratamiento.

8.6 Adición de suero y soluciones de pretratamiento

8.6.1 Agregar 20 μL de suero (o control) en los pocillos de la microplaca.

8.6.2 Transfiera 40 μL de la solución de pretratamiento en los pocillos de la microplaca que contengan 20 μL de muestra de suero (o control) añadida en el paso 8.6.1.

8.6.3 Agite durante 5-10 segundos e incube la microplaca a 37°C durante 10 minutos.

8.7 Adición del reactivo principal

8.7.1 Resuelva un vial del reactivo principal (R1) añadiendo primero 1,3 mL de solución de reconstitución (R7) y luego 1,3 mL de diluyente (R6). Mezclar bien y dejar listo para usar. Se recomienda resolver el reactivo principal durante la incubación de las muestras.

8.7.2 Añadir 100 μL de reactivo principal resuelto en los pocillos de la microplaca.

8.7.3 Agite la placa durante 5-10 segundos.

8.7.4 Leer el valor DO a 37°C cinéticamente a 405 nm y 490 nm durante 40 min.



9. ANÁLISIS DE DATOS

Tome mAbs/min como el eje-Y y la concentración de 1-3 β -D-glucano como eje X, trace la curva estándar por regresión lineal. Determine la concentración de glucano 1-3 β -D de las muestras y el control respecto a esta curva estándar.

10. CONTROL DE CALIDAD

10.1 El tiempo crítico de un control negativo (mAbs/min) debe ser mayor que el de la concentración mínima. Esto indica que la operación de prueba está libre de contaminación.

10.2 Si se produce gran desviación en la curva estándar, se recomienda repetir la prueba.

10.3 La casilla del coeficiente de correlación r^2 deber ser > 0.980 .

10.4 El margen calculado del control de calidad debe estar comprendido dentro del margen mostrado en la etiqueta de la botella del control de calidad.

11. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Se identificaron los siguientes límites de corte en la población estudiada para obtener las características de rendimiento, sin embargo, cada laboratorio puede desear establecer sus propios valores de corte e interpretación de positivo y negativo con su población de pacientes.

Resultado < 70 pg/mL indica un resultado negativo.

Resultado > 95 pg/mL indica un resultado positivo.

70 pg/mL $<$ Resultado < 95 pg/mL indica un resultado no concluyente. Un resultado no concluyente indica una

infección fúngica invasiva sospechosa, se aconseja un muestreo adicional y se sugiere un ensayo.

Nota:

La prueba no detecta Cryptococcus, Zigomicetos (tales como Absidia, Mucor y Rhizopus) y la fase de levadura del hongo Blastomyces dermatitidis.

12. RENDIMIENTO CLÍNICO

En este ensayo se sometieron a prueba 163 muestras de suero de 121 pacientes del Reino Unido. Las muestras de suero de pacientes sin evidencia de enfermedad fúngica sin obtener un diagnóstico EORTC/MSG se incluyeron como controles. [3]

Sensibilidad

La sensibilidad global para las muestras probables y acreditadas para este ensayo es de 81.4% (35/43, 95% CI: 67.4-90.3)

La sensibilidad para la candidiasis invasiva es del 93.3% (14/15, 95% CI: 70.2-98.8).

La sensibilidad para la aspergillosis invasiva es de 81.0% (17/21, 95% CI: 60.0-92.3).

Especificidad

La especificidad global es de 78.1% (50/64, 95% CI: 66.6-86.5)

13. LIMITACIONES

13.1 Los resultados de la prueba de (1-3)- β -D-glucano solo se utilizan como referencia clínica en el diagnóstico de micosis y fungemia profundamente arraigadas, pero no se pueden distinguir las especies de hongos que pueden tener podido provocar la infección.



13.2 La frecuencia de muestreo viene determinada por el grado de infección. Los pacientes con riesgo de IFI deberían someterse a prueba al menos dos veces por semana.

13.3 Los resultados de los falsos positivos son ocasionados por los siguientes factores:

- a. Contaminación durante la prueba;
- b. Sujetos que tengan hemodiálisis con membranas de celulosa;
- c. Sujetos que utilicen gasas que contengan glucano o materiales relacionados;
- d. Preparados intravenosos (albúmina, factor de coagulación sanguínea, inmunoglobulina, etc.);
- e. Sujetos presentes con septicemia bacteriana (estreptosepticemia en concreto);
- f. Sujetos que reciben un tratamiento con alguno fármacos antitumorales (lentinan y schizophyllan);
- g. Sujetos que reciben tratamiento con sulfonamidas;
- h. Sujetos que han ingerido hongos antes de la prueba.

14. ADVERTENCIAS

14.1 Evite la contaminación de muestras y reactivos con hongos y bacterias.

14.2 Utilice una micropipeta separada o puntas desechables individuales para evitar la transferencia y las contaminaciones cruzadas.

14.3 Utilice reactivos con el mismo número de lote.

14.4 Los reactivos químicos (ácidos o alcalinos) o polvos podrían influenciar la actividad de los reactivos.

14.5 No se lleve la pipeta a la boca.

14.6 No fume, coma o beba en aquellas áreas donde se manipulen muestras o reactivos.

14.7 Lleve puestos guantes desechables, bata de laboratorio y gafas de seguridad cuando manipule el kit de reactivos y las muestras de los pacientes. Lavarse las manos minuciosamente después de la prueba.

14.8 Todas las muestras utilizadas o los materiales de prueba deben tratarse como residuos médicos infecciosos.

14.9 Los componentes del kit pueden provocar irritación y dolor en la piel y en los ojos, así como estimular la mucosa y las vías respiratorias superiores. No tocar, ni inhalar o comer.

14.10 Especímenes especiales tales como ictericia, hemodiálisis, quilo afectarán a los resultados del ensayo. Si el grado de decoloración o turbiedad es bajo, el espécimen deberá diluirse antes de la prueba. Si este grado es alto, entonces será necesario volver a resalizar la muestra.

15. REFERENCIAS

[1] Mori, T, Ikemoto, H, et al: Evaluation of Plasma (1-3)- β -D-Glucan Measurement by the kinetic Turbidimetric Limulus Test, for the Clinical Diagnosis of Mycotic Infection. Eur. J. Clin. Chem. and Clin. Biochem. 35, 553-560 (1997).

[2] Kakinuma, A, Asano, T et al: BiochemBiophys. Res. Commun. 101,434-439 (1981).

[3] White PL, Price JS, Posso RB, Barnes RA, et al: An evaluation of the performance of the Dynamiker® Fungus (1-3)- β -D-Glucan Assay to assist in the diagnosis of invasive aspergillosis, invasive candidiasis and Pneumocystis pneumonia. Med Mycol. 2017 Nov 1;55(8):843-850. doi: 10.1093/mmy/myx004.

16. FABRICANTE

Nombre de la compañía: Dynamiker Biotechnology (Tianjin) Co., Ltd.





A/1

Dirección de registro: No. 101-2, 14th Building, Ecological Science Park
No. 2018 Zhongtian Revenue, Eco-City
TEDA, Tianjin 300467, R. P. China

CE	RE
----	----

Nombre de la compañía: Wellkang Ltd.

Dirección: Suite B, 29 Harley Street, LONDRES W1G 9QR, Inglaterra, Reino Unido

[SÍMBOLOS UTILIZADOS]

Símbolo	Descripción
	Utilizado por
	Código de lote
	Fabricante
	No exponga a la luz solar
	Limitación de temperatura
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Marca CE

REVISADO: 10/2017