

**İNSAN SERUMUNDA VEYA PLAZMASINDAKİ ANTİMANNAN CANDİDA
ANTİKORLARININ İMMUNO-ENZİMATİK YÖNTEMLE BELİRLENMESİ**



1- TESTİN AMACI

Platelia™ *Candida* Ab Plus, insan serumu ve plazmasında toplam antimannan Ig antikorlarının belirlenmesi için mikropalakada yapılan indirekt immuno-enzimatik bir tekniktir.

2- KULLANIM ENDİKASYONLARI

İnvaziv kandidoz tanısı yapılırken, hem sirküle eden antijen araştırmasından hem de antikorlarla ilgili araştırmadan çıkan sonuçlar temel alınmalıdır.¹³

Platelia™ *Candida* Ab Plus testi (kod No. 62785), Platelia™ *Candida* Ag Plus (kod No. 62784) ile birlikte kullanıldığında, tüm tanı aşaması çerçevesinde, intrinsik ve iatrojenik risk faktörleri ile klinik ve mikolojik verileri bir araya getirerek, bu tanının erken teşhisini kolaylaştırır ve hassasiyetini artırır.^{10, 13, 14}. Bu test, tedavi kararlarına yardımcı olarak biyoklinik takip sistemi sürecinde de yazılır.⁸

3- KLİNİK ÖNEMİ

Candida enfeksiyonları, nozokomiyal mantar enfeksiyonlarında birinci sıradadır. Kandidemi, nozokomiyal kökeni olan kan zehirlenmelerine dördüncü sırada etken olarak bilinmektedir.^{12, 15, 16}

Klinik planda, invaziv kandidozlar, immunodeprime hastalarda % 30-% 70 arasında değişen ölüm oranlarıyla, en tehlikeli şeklidir. Klinik semptomların spesifitesinin ve kan kültürünün hassasiyetinin zayıf olması nedeniyle bunların teşhisini yapmak zordur.

Çoğu zaman invaziv kandidozun var olup olmadığını ve buna uygun hangi müdahalenin gerekeceğini çözmek için bir dizi verinin ele alınması gerekir. . Bu bağlamda, sistemik kandidozların tanısı yapılırken, serolojik tekniklerin, direkt mikolojik yöntemlere mutlak suretle bağlanması gerekmektedir. Anti-*Candida* antikorunun serolojik takibi sayesinde, mikrokolojik sonuçlara ek bir tanı yönlendirmesi ve tanı pekiştirme sağlanır^{10, 13, 14}. Platelia™ *Candida* Ab Plus, *Candida* türünden olan mayaların zararını temel bileşeni olan *Candida* mannan antijenine karşı kullanılan antikorları saptar. Kandidozların biyolojik endikatörü olan mannan, bağışıklık kazandıran bir polisakarittir.

İnvaziv kandidoz riski taşıyan hastaların düzenli takibi, mannan antijenin ve antimannan antikorunun tespitiyle birlikte yapıldığında, bu enfeksiyonların teşhisinde yardımcı olur.⁹

4- PROSEDÜRÜN PRENSİBİ

Platelia™ *Candida* Ab Plus, insan serumu ve plazmasında antimannan antikorların belirlenmesi için iki aşamada mikropalaka üzerine yapılan indirekt immuno-enzimatik bir tekniktir.

Seyreltilmiş serum veya plazma örnekleri, *Candida albicans*'dan arıtılmış mannan ile hassaslaştırılmış mikropalaka kuyucuklarına dağıtılmıştır.

37 °C'deki inkübasyondan sonra, şeritler, içinde tutunmamış madde kalmasın diye yıkanır.

Konjugat, (peroksidaz ile işaretlenmiş poliklonal keçi anti-IgG/IgA/IgM insan antikorunu) her mikropalaka kuyucuğuna eklendikten sonra, 37°C'de inkübe edilmiştir.

İnsan örneğinde, anti-mannan antikorunun olduğu taktirde, bu bir kompleks oluşumuna neden olur: mannan – Ig insan anti mannan - keçi anti-IgG/IgA/IgM insan antikorunu/peroksidaz.

Şeritler içinde bağlı olmayan madde kalmasın diye yıkanır.

Peroksidaz substratı ihtiva eden ve oda sıcaklığında inkübe edilmiş kromojenin eklenmesi, oluşan komplekslerin görülmesini sağlar.

Enzimatik reaksiyon, 1N sülfürik asidin eklenmesiyle durdurulur.

İnsan numunelerinin ve kalibratörün Optik yoğunluğu, 450/620 nm dalgaboyuna ayarlanmış spektrometre ile okunur.

5- REAKTİFLER

En fazla 9 çalışmada, 96 tane saptama yapılmasına yetecek kadar reaktif içermektedir.

Kit, +2-8°C arasında muhafaza edilir. **Kullanım öncesi, tüm reaktifler oda sıcaklığına (+18-30°C) getirilmelidir.** Kullandıktan sonra tüm reaktifleri bekletmeden 2-8°C'ye yerleştirin. Kullanılmayan şeritleri kendi poşetlerine koyun ve **poşetleri dikkatle kapatın.** Desikatör maddeyi yerinden almayın.

Bileşen		İçerik	Miktar
R1	Microplate	Mikroplaka: - <i>Candida albicans</i> 'dan arındırılmış mannan ile hassaslaştırılmış 96 kuyucuk (12 sıranın her birinde 8 kuyucuk bulunmaktadır).	1
R2	Concentrated Washing Solution (20x)	Konsantre yıkama çözeltisi (20x): - TRIS-NaCl Tamponu (pH 7,4) - % 2 Tween® 20 - Koruyucu madde: < % 1,5 ProClin™300	1 x 70 ml
R3	Calibrator 0	Kalibratör 0 UA/ml (kullanıma hazır): - Tris-NaCl Tamponu - Koruyucu madde: metilizotiazolon (% 0,02), bromonitrodioksan (% 0,02), < % 1,5 ProClin™300	1 x 2,5 ml
R4a	Calibrator 5	Kalibratör 5 UA/ml (kullanıma hazır): - Tris-NaCl Tamponu - Ig antimannan içeren insan serumu - Koruyucu madde: metilizotiazolon (% 0,02), bromonitrodioksan (% 0,02), < % 1,5 ProClin™300	1 x 2,5 ml
R4b	Calibrator 10	Kalibratör 10 UA/ml (kullanıma hazır): - Tris-NaCl Tamponu - Ig antimannan içeren insan serumu - Koruyucu madde: metilizotiazolon (% 0,02), bromonitrodioksan (% 0,02), < % 1,5 ProClin™300	1 x 2,5 ml
R4c	Calibrator 20	Kalibratör 20 UA/ml (kullanıma hazır): - Tris-NaCl Tamponu - Ig antimannan içeren insan serumu - Koruyucu madde: metilizotiazolon (% 0,02), bromonitrodioksan (% 0,02), < % 1,5 ProClin™300	1 x 2,5 ml
R4d	Calibrator 80	Kalibratör 80 UA/ml (kullanıma hazır): - Tris-NaCl Tamponu - Ig antimannan içeren insan serumu - Koruyucu madde: metilizotiazolon (% 0,02), bromonitrodioksan (% 0,02), < % 1,5 ProClin™300	1 x 2,5 ml
R6	Konjugate	Konjugat (kullanıma hazır): - Peroksidaz ile işaretlenmiş poliklonal keçi anti-Ig insan antikorları - Malakit yeşili - Koruyucu madde: < % 1,5 ProClin™300	1 x 26 ml
R7a	Sample Diluent 1	Numune seyreltici 1 (kullanıma hazır): - Tris-NaCl tamponu, - % 0,1 Tween® 20 - Fenol kırmızısı, - Koruyucu madde: < 1,5% ProClin™300	1 x 28 ml
R7b	Sample Diluent 2	Numune seyreltici 2 (kullanıma hazır): - Tris-NaCl tamponu, - % 0,1 Tween® 20, - Bromotimol mavisi, - Koruyucu madde: < % 1,5 ProClin™300	1 x 26 ml
R9	Chromogen TMB	TMB kromojen solüsyonu (kullanıma hazır): 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin çözeltisi (< % 0,1), H ₂ O ₂ (< % 1,0)	1 x 28 ml
R10	Stopping Solution	Durdurma çözeltisi (kullanıma hazır): - 1N'lık sülfürik asit çözeltisi	1 x 28 ml
		Yapışkan filmler	4

6- HİJYEN VE GÜVENLİK TALİMATLARI

1. sadece *in vitro* tanı için.
2. sadece profesyonel kullanım için.
3. u testin insan serumu veya plazması dışındaki numunelerle kullanımı tavsiye edilmemektedir.
4. 4a, R4b, R4c, ve R4d kalibratörleri, antiHIV-1, antiHIV-2, antiHCV antikorları ve HBs antijeni için CE damgalı test sonuçları negatif vermiş insan serumundan hazırlanmaktadır. Bununla birlikte, tüm reaktifler enfekte olmuş farzedilerek muamele edilmelidir. Tüm testler, hematojen yoluyla geçmiş patojen ajanlarla ilgili, biyolojik ve güvenlik seviyesi 2 olan OSHA normuna veya adapte edilen biyogüvenlik uygulamalara uygun olarak yapılmalıdır.

5. aboratuvar önlüğü, koruma gözlüğü ve atılır eldiven gibi kişisel koruyucu ekipman kullanın (eldivenlerin, latekssiz sentetik maddeden olması tavsiye edilmektedir) ve hem kitteki reaktifleri hem de hasta numuneleri ile çalışırken, "İyi Laboratuvar Pratiği (GLP)"nin gereksinimlerine uyun. Testin bitiminden sonra ellerinizi iyice yıkayın.
6. göz ile pipetleme yapmayın
7. umunelerle ya da kitin reaktif maddeleriyle çalışılan bölgelerde sigara içmek, yemek ve içmek yasaktır.
8. umune ve çözeltilerin sıçramasını engelleyin.
9. sit içermeyen bir sıvıyla kirlenen yüzeyler, etkin bir dezenfektanla iyice temizlenmelidir. Kullanılabilir dezenfektanların bazıları, suda % 10'a seyreltilmiş çamaşır suyu (% 0,5 sodyum hipoklorit çözeltisi), % 70 alkol veya % 0,5 Wescodyne Plus™'tur. Temizlemede kullanılan materyallerin tehlikeli atığa atılması gerekir. **DİKKAT:** Çamaşır suyu içeren çözeltileri asla otoklava koymayın.
10. üzeye asit içeren bir sıvı maddesi döküldüğü takdirde, bulaşan yüzeylerin silinmesi veya sodyum bikarbonatla nötralize edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu bölgenin, sudan geçirilip kurulanması gerekir; yüzeye gelen sıvı maddenin biyolojik olarak tehlikeli bir madde içermesi durumunda, bölgenin kimyasal bir dezenfektanla temizlenmesi gerekir.
11. este kullanılan numune ve reaktifleri, enfeksiyöz farz ederek bertaraf edin. Tehlikeli kimyasal ve biyolojik atıkları bertaraf ederken, yürürlükteki kurallara uyulmalıdır.
12. **İKKAT:** Aşağıdaki listede, kitteki bazı bileşenlerde potansiyel olarak var olan kimyasal risklere yer verilmiştir (bkn. Bölüm 5 REAKTİFLER).



Bazı reaktiflerde < % 1,5 ProClin™ 300 bulunmaktadır:

R43: Ciltle temasa girerek hassaslaşmaya neden olabilir

S23-24-37-60: Buhar veya aerosolü teneffüs etmeyin. Ciltle temasından kaçının. Bu iş için uygun eldivenler giyin. Ürünü ve kabını tehlikeli atık maddeleriyle aynı şekilde bertaraf edin.

Xi - Tahriş edici

13. alzeme Güvenlik Bilgi Formu (MSDS) istenildiğinde temin edilebilir.

7- KULLANICILAR İÇİN GÜVENLİK ÖNLEMLERİ

1. İNMEYEN KOŞULLARDA SAKLANAN DONDURULMUŞ SERUM VEYA PLAZMALAR, BAKTERİ VEYA MANTAR BULAŞMASINDAN DOLAYI YANLIŞ POZİTİF SONUÇLARA NEDEN OLABİLİR.
2. iti veya reaktiflerden birini kullanım tarihinden sonra kullanmayın.
3. eri numaraları farklı olan setlerden gelen reaktifleri birbirleriyle karıştırmayın.
OT: aynı setten, aynı seri numarasına sahip reaktifleri kullanan kitten oldukları takdirde, başka serilerden yıkama çözeltisi (R2, yeşil renk 20x olarak tiplenmiş*), kromojen (R9, turkuaz TMB olarak tiplenmiş*) ve durdurma (R10, kırmızı 1N olarak tiplenmiş*) çözeltisi kullanılabilir.
OT: Yıkama çözeltisi (R2, yeşil renk 20x olarak tiplenmiş*), Bio-Rad reaktif kitleriyle birlikte verilen Yıkama çözeltisi (R2, mavi renk 20x olarak tiplenmiş*) ile karıştırılmaz.
şişe üzerindeki etiket
4. ullanmadan önce, en az 30 dakika, reaktiflerin oda sıcaklığına (+18-30 °C) gelmesini bekleyin.
5. ek kullanımlık malzeme kullanmayı tercih edin. Mümkün olmadığında distile su ile yıkanmış ve durulanmış cam malzeme kullanın.
6. ipetlerin ve kullanılan diğer aletlerin doğruluğunu ve hatasız çalıştığını kontrol edin.
7. 2 reaktifinin kirlenmesine fırsat vermeden sulandırın veya dilüe edin
8. nzimatik reaksiyon her tür metale veya metalik iyonlara karşı çok hassastır. Bu nedenle, metalik maddeler asla konjugat veya substrat çözeltisi içeren çözeltilerle temas etmemelidir.
9. alibratör ve numunelerin pipetlenmesinde numune bulaşmasını önlemek için tek kullanımlık pipet ucu kullanın.
10. uyucukların gereğine uygun yıkanması için, tavsiye edilen yıkama çevrimi sayısına uyulmalı, kuyucuklar tamamen doldurulmalı ve boşaltılmalıdır. Yıkama işlemi, mikropilaka yıkayıcı ile yerine getirilmelidir.
11. ikropilakayı, yıkama devrinin sonu ile reaktiflerin eklenmesi arasında kurumaya bırakmayın.
12. onjugat ve substrate solüsyonunu dağıtmak için aynı kabı kullanmayın.
13. aklama veya inkübasyon sırasında, kromojen çözeltisinin kuvvetli bir ışığa maruz kalmasını engelleyin. Kromojen içeren çözeltilerin oksitleyici bir ajanla temas etmesini engelleyin.
14. romojen çözeltisi(R9), renksiz olmalıdır. Reaktifin rengi mavileşince kullanılmamalı ve atılmalıdır.
15. urdurma çözeltisinin herhangi bir oksitleyici ajanla, metal ya da metalik iyonla temas etmesi engellenmelidir.
16. ullanılmamış konjugatın fazlasını, orijinal şişesine boşaltmayın.

8- REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI VE MUHAFAZASI

Mikropilaka (R1)

12 sıralı her tepsi bir poşette paketlenmiştir. Poşeti, tam birleşme yerinin altından makasla kesin. Poşeti açarak, tepsiyi alın. Kullanılmamış şeritleri olan tepsiyi orijinal poşetine koyun. Poşeti dikkatle kapatın ve +2-8°C 'de saklayın. Vakumlu poşet açıldıktan sonra, orijinal ambalajlarına tekrar geri koyulan ve özenle kapatılan şeritler, +2-8°C'de 8 hafta boyunca stabil kalırlar. Poşetin içindedesikatör maddenin olup olmadığını kontrol edin.

Yıkama çözeltisi (R2)

Konsantrite yıkama çözeltisini distile su ile 20 kez seyrelterek çalışma yıkama çözeltisini hazırlayın: 50 ml R2, 950 ml distile su içinde seyreltilecektir.

[Kullanılan kabın (ölü hacmine göre) 12 şeritlik tüm plaka için 650 ml seyreltilmiş yıkama çözeltisi gerekecektir.] Seyreltme işleminden sonra, yıkama çözeltisi +2-8°C'de 14 gün muhafaza edilebilir.

Açıldıktan sonra, +2-30°C sıcaklıkta muhafaza edilen konsantre yıkama çözeltisi, kontaminasyon olmadığı takdirde, etiket üzerinde belirtilen son kullanım tarihine kadar stabil kalır.

Kalibratör 0 (R3), Kalibratör 5 (R4a), Kalibratör 10 (R4b), Kalibratör 20 (R4c), Kalibratör 80 (R4d):

Kalibratörler, kullanıma hazırdır. Açıldıktan sonra, +2-8°C sıcaklıkta muhafaza edilen bu reaktifler, kontaminasyon olmadığı takdirde, 8 hafta boyunca stabil kalır.

Konjugat (R6), Seyreltici numunesi 1 (R7a), Seyreltici numunesi 2 (R7b), TMB kromojen solüsyonu (R9):

Bu reaktifler kullanıma hazırdır. Açıldıktan sonra, +2-8°C sıcaklıkta muhafaza edilen bu reaktifler, kontaminasyon olmadığı takdirde, 8 hafta boyunca kararlılığını korur.

Durdurma çözeltisi (R10):

Bu reaktif kullanıma hazırdır. Açıldıktan sonra, +2-8°C sıcaklıkta muhafaza edilen bu reaktif, kontaminasyon olmadığı takdirde, etiket üzerinde belirtilen son kullanım tarihine kadar stabil kalır.

9- NUMUNELER

1. estler, EDTA, heparin veya sitrat tipinde antikoagülan üzerinde toplanmış plazma veya serum ile çalışılmaktadır.
2. an alma, kan numuneleriyle çalışma ve numunelerin korunması için aşağıdaki talimatlara uymanız gerekmektedir:
 - n numunesini alırken, standard laboratuvar yöntemlerine uyun.
 - rumu elde etmek için, santrifüj etmeden önce pıhtılaşması için bekleyin.
 - pleri ağız kapalı halde muhafaza edin.
 - ntrifüj işleminden sonra, serumu veya plazma'yı kandan ayırın ve ayrı kapaklı tüpte muhafaza edin.
 - st, 4 gün içinde yapılacaksa, numuneler +2-8°C'de muhafaza edilir.
 - st, 4 gün içinde yapılmayacaksa, numunelerin -20°C (veya -80°C) sıcaklıkta dondurulmaya bırakılması gerekir.
 - ten fazla dondurma/çözme çevrimi yapılmaması tavsiye edilir. Numuneler, buzlarının çözülmesini takiben, test öncesinde iyice homojenleştirilmelidir (vorteks).
3. 0 g/l insan albümini veya 120 g/l toplam protein veya 200 mg/l konjüge olmayan bilirübin veya 200 mg/l konjüge bilirübin içeren numuneler; 30 g/l trilooin (trigliserit) veya 5 g/l kolesterol içeren lipemik numuneler veya 2 g/l hemoglobin içeren hemolize olmuş numunelerin varlığı neticeleri etkilemez.
4. umuneleri ısıtmayın.

10-PROSEDÜR

Tedarik edilen malzeme

Bölüm 5 REAKTİFLER'e bakınız

Tedarik edilmemiş gereken malzeme

1. onsantrite yıkama çözeltisinin seyreltilmesi için distile veya deiyonize su.
 2. mici kağıt.
 3. ek kullanımlık eldivenler.
 4. oruyucu gözlükler.
 5. odyum hipoklorit (çamaşır suyu) ve sodyum bikarbonat.
 6. tomatik ya da yarı otomatik, ayarlanabilir ya da sabit değerli, 10 µl'dan 1000 µl'a, 1 ml, 2 ml ve 10 ml'de ölçüm ve dağıtım yapabilen pipet veya multipipetler.
 7. 5 / 50 / 100 ve 1000 ml'lik ölçekli test tüpleri.
 8. ek kullanımlık tüpler.
 9. ontamine atıklar için kap.
 10. "Vorteks" tipi karıştırıcı.
 11. 7°C ± 1°C (*) sıcaklığa ayarlanabilen mikropilaka inkübatörü.
 12. arı otomatik veya otomatik mikropilaka yıkayıcı (*).
 13. 50 ve 620 nm'lik filtreye sahip mikropilaka okuyucu (*).
- (*) Teknik servis birimlerimiz tarafından kaliteleri onaylanmış aletlerimizle ilgili tam bir bilgiye ulaşmak için bizimle irtibata geçin.

EIA Prosedürü

Önerilen protokole harfiyen uyun.

"İyi Laboratuvar Pratiği (GLP)"ne uyun:

- **Reaktifler, kullanılmadan en az 30 dakika önce, oda sıcaklığına (+18-30°C) getirilmelidir.**
- Test kalitesinin onaylanabilmesi için dozaj ayarını yapacağınız her seferde tüm kalibratörleri kullanın.

Aşağıdaki yöntemi uygulayın:

1. alibratör ve numunelerin dağıtım planı ve tanımı gereğine uygun şekilde yapılmalıdır.
2. est edilecek numuneler, kullanılmadan hemen önce 1/20 oranında seyreltilmelidir [10 µl'lık serum veya plazma + 190 µl'lık seyreltici numunesi 1 (R7a)]. Ön dilüsyonu yapılan numuneler kırmızı renk alır.
3. epsiyi ve kayar sıraları (R1), koruyucu ambalajlarından çıkarın. Kullanılmamış şeritleri ambalajlarına geri koyun ve ambalajları tekrar kapayın.

4. **90 µl**'lik seyreltici numunesi 2 (R7b)'yi, test edilecek numunelerin koyulacağı kuyucuklara paylaşırın ve buna önceden 1/20 oranında seyreltilmiş olan **10 µl**'lik numuneleri 2-3 kez alıp-geri verme suretiyle dökülmesine izin vermeden tekrar karıştırarak ilave edin.
ot: Numunelerin paylaşırılması, bu esnada kontrolden geçirilebilir. Normalde, önseyreltilmesi yapılmış 10 µl'lik numunelerin eklenmesinden sonra, numune içeren kuyucukların rengi kayhverengi olur. Numune içermeyen kuyucuk, yeşil renkte kalır.
5. ullanıma hazır kalibratörleri, aşağıdaki plana göre kuyucuk başına 200 µl oranında olacak şekilde paylaşırın:
- A1: Kalibratör 0 UA/ml (R3)
- B1: Kalibratör 5 UA/ml (R4a)
- C1: Kalibratör 10 UA/ml (R4b)
- D1: Kalibratör 20 UA/ml (R4c)
- E1: Kalibratör 80 UA/ml (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										
G	S2	S10										
H	S3	S11										

6. ikroplakayı **yapışkan film** ile kaplayın ve tüm yüzeyi elinizle bastırarak sıkılaştırın.
7. ikroplakayı, **derhal** kuru bir mikroplaka inkübatörüne koyarak, 37°C (± 1°C)'de, 60 ± 5 dakika boyunca inkübe edin.
8. eyreltilmiş yıkama çözeltisini hazırlayın (*bkn. bölüm 8*).
9. apışkan filmi yapıştığı bölgeden ayırın. Kuyucuklardaki biyolojik atığı, (sodyum hipoklorit bulunduran) bir kontamine atık kabına aspire edin.
10. ikroplakayı, **mikroplaka yıkayıcısı kullanarak** 800 µl seyreltilmiş yıkama çözeltisi ile 4 kez yıkayın. Son yıkamadan sonra, mikroplakayı yerine koyun ve içinde kalan suyu uzaklaştırmak için emici kağıt kullanın.
11. Kullanım öncesi ters yüz ederek, R6 şişesinin içeriğini iyice karıştırın.
ok kanallı pipetleri kullanırken, seriye gerekenden fazla hacim almamaya gayret gösterin: 8 kuyucuklu iki şerit için 3,5 ml kullanılır.
12. er kuyucuğa **200 µl**'lik R6 konjugatını paylaşırın.
13. ikroplakayı **yapışkan filmle** kaplayın. Su geçirmemesi için, tüm yüzeye elinizle bastırın.
14. ikroplakayı, kuru bir mikroplaka inkübatörüne koyarak, 37°C (± 1°C)'de, 60 ± 5 dakika boyunca inkübe edin.
15. apışkan filmi yapıştığı bölgeden ayırın. Kuyucuklardaki biyolojik atığı, (sodyum hipoklorit bulunduran) bir kontamine atık kabına aspire edin.
16. ikroplakayı, mikroplaka yıkayıcısı kullanarak 800 µl seyreltilmiş yıkama çözeltisi ile 4 kez yıkayın. Son yıkamadan sonra, mikroplakayı yerine koyun ve içinde kalan sıvıyı uzaklaştırmak için emici kağıt kullanın.
17. 00 µl TMB kromojen çözeltisini, kuvvetli bir ışığa maruz bırakmadan hızlı bir şekilde kuyucuklara ekleyin.
18. ikroplakayı, **karanlıkta** ve oda sıcaklığında (+18-30°C), 30 ± 5 dakika inkübe edin.
nkübasyon aşamasında, yapışkan film kullanmayın.
19. er kuyucuğa, **100 µl**'lik durdurma çözeltisi (R10) ekleyin ((Kromojen çözeltisini ekleme işlemindeki sıraya ve ritme uyun.) İyice karıştırın.
20. er plakanın altını iyice silin.
21. urdurma çözeltisinin eklenmesini izleyen **30 dakika içinde**, her kuyucuğun optik yoğunluğu, 450 nm'de (referans filtresi: 620 nm) okunur (okuma öncesinde, şeritler her zaman ışıktan uzak bir yerde muhafaza edilmelidir).
22. onuçlar çıkmadan önce plakaların dağıtım planı ve okuması arasındaki uygunluğu kontrol edin.

11-KALİTE KONTROL (GEÇERLİLİK KRİTERLERİ)

Her test için, her mikroplaka üzerinde kalibratör kullanın.
Testin geçerli kılınması için, şu kriterlerin yerine getirilmesi şarttır:

Optik yoğunluk değeri:

OY R4a > 0,160

Oranlar:

OY R4a/OY R3 oranı > 6,00
OY R4b/OY R4a oranı > 1,20
OY R4c/OY R4b oranı > 1,20
OY R4d/OY R4c oranı > 1,20

12-SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Kalibrasyon Eğrisinin çizilmesi

Kalibrasyon eğrisi, 5 farklı nokta (kalibratör) ile belirlenir
Bunlar, 0, 5, 10, 20 ve 80 UA/ml'dir.

[OY= fonksiyon (UA/ml)] ayarlama eğrisini, önce dikey çizgi (Y koordinatı) üzerinde R3, R4a, R4b, R4c ve R4d'nin yerini işaretleyerek, sonra da yatay çizgi (X koordinatı) üzerinde bunların UA/ml cinsinden konsantrasyonlarını girerek çizin. Eğriyi çizmek için, tüm bu farklı kesişme noktalarını birbirlerine bağlayın.

Test edilmiş numunelerin antimannanlı (UA/ml) antikor konsantrasyonunun saptanması

Önceden çizilen eğriden yola çıkılarak, her test edilen numunedeki, antimannanlı antikor konsantrasyonunu UA/ml cinsinden saptamak mümkündür.

Sonuçların yorumlanması

- Numunelerin antimannanlı antikor testi konsantrasyon sonuçları 5 UA/mL'den küçük ($C < 5$) çıktığında, numune sonuçları **negatif** kabul edilir.
- Numunelerin antimannanlı antikor testi konsantrasyon sonuçları 5 ile 10 UA/mL ($5 \leq C < 10$) arasında çıktığında, numune sonuçları **"şüpheli"** kabul edilir.
- Numunelerin antimannanlı antikor testi konsantrasyon sonuçları 10 UA/mL'e eşit veya daha büyük değer ($C \geq 10$) gösteriyorsa, bu numune sonuçları **"pozitif"** kabul edilir.
- Kalibrasyon eğrisini çizmek için kullanılan kalibratörler 80 UA/ml'den daha büyük konsantrasyonların titrasyonuna izin vermezler. Serum ve plazmayı seyreltici 1 (R7a)'de ilaveten 1/10 oranında seyrelttikten sonra bunların yeniden test edilmeleri iyi bir yöntemdir.

Bu ilk ön seyreltme işleminden sonra, Bölüm 10'da belirtilen prosedürü izleyin (R7a içinde yapılacak 1/20 oranında ön seyreltmeyi müteakiben R7b içinde yapılacak 1/20 oranında seyreltme).

Şiddetle pozitif veren numunenin konsantrasyonu, bu yöntemle bulunan konsantrasyonu 10 ile çarparak bulunur.

Kan tahlil sonucunda konsantrasyon değeri şüpheli çıkan bir hastadan bunu izleyen haftalarda yeni bir kan numunesi alınarak "şüpheli" neticenin doğruluğu kontrol edilebilir.

13- KULLANIMDA SINIRLAMALAR

1. est sonucunun negatif çıkması, invaziv kandidoz teşhisinin konulamayacağı anlamına gelmez. Bağışıklık sistemi değişmiş olan hastalarda, antikorun bulunmadığını açıklamak zordur. İnvaziv kandidoz tanısının yapılabilmesi ancak klinik, terapötik, radyolojik, sitolojik, direkt mikolojik ve serolojik neticeler tek tek ele alınıp, etraflıca incelenip bunlarla yüzleştikten sonra mümkün olur.
2. Antimannanlı antikor testi negatif çıktıysa, bu netice mannan antijen araştırmasının neticesiyle karşılaştırılmalıdır: İnvaziv kandidoz durumunda da, antimannanlı antikor test sonuçları pozitif çıkan hastalarda antijen bulmak daha zordur (bkn. paragraf 15-Performanslar)
3. Serum ve plazmalardaki antimannanlı antikorunun belirlenmesinde elde edilen sonucun sağlamlığı, hastalara yapılan testlerin sıklığına bağlıdır. Testin pozitif sonuca hassasiyetini ve erken teşhis olasılığını arttırmak için, mannan antijeninin araştırmasının yanı sıra, risk taşıyan hastaların düzenli takibi tavsiye edilmektedir.
4. Numunelerde antimannanlı antikorun olup olmadığı test edileceğinde, Platelia™ *Candida* Ab Plus testi sonuçlarının yazılı prosedür ve açıklamasına uyulmalıdır. Kit kullanıcısının test yapmadan önce kullanım kılavuzunu titizlikle okuması tavsiye edilmektedir. Özellikle numunelerin ve reaktiflerin pipetlenmesi, mikropolanın yıkanması ve inkübasyon aşamalarında protokole harfi harfine uyulmalıdır.
5. Numune ve reaktifler, kullanım kılavuzunda belirtildiği şekilde eklenmedikleri takdirde, sonuç yanlışlıkla negatif çıkabilir. **İnvaziv kandidoz şüphesi duyuluyor, veya prosedürde hata gözlemleniyorsa aynı hastadan yeni bir numune alınmalı ve test edilmelidir.**
6. Mikropolanın dikkatsizce taşınması veya reaktif eklerken hatalı pipetleme yapılarak pozitif hasta numunesi veya pozitif kontrol içeren kuyucuklarda birinden diğerine taşma olursa, negatif hasta numuneleri içeren kuyucuklarında kontamine eder.
7. Platelia™ *Candida* Ab Plus'un, yeni doğanların veya çocuk hastaların serum ve plazma numuneleri üzerinde vereceği yanıt test edilmemiştir.
8. Platelia™ *Candida* Ab Plus'un, manuel bir okuma ve/veya sonuçların görsel belirlenmesi bağlamında ne sonuçlar vereceği test edilmemiştir.
9. Numunelerde insan gamaglobülin konsantrasyonu ≥ 60 g/l olduğunda, ya da pozitif sonuçlar veren romatoid faktör, anti-ds-ADN antikoruna veya IgG anti-*Aspergillus* numunelerde yanlışlıkla pozitif sonuçların alındığı görülmüştür.

14-BEKLENEN DEĞERLER

Platelia™ *Candida* Ab Plus testi ile ölçülen *Candida* özgül mannan antijenine karşı kullanılan antikorun yaygınlığı, kanser teşhisiyle tedavi için hastaneye yatırılan Hollandalı 51 hastadan alınan 613 numune panelinde değerlendirilmiştir (Site 1 – Hollanda). Bu hastalardan 49'u kötü huylu hemopati ve 2'si hematolojik olmayan kanser teşhisiyle yoğun kemoterapi altında tutulmaktadır.

613 numune üzerinden, 114'ünün sonucu pozitif, 136'sının sonucu şüphelidir. Buna göre, şüpheli sonuçları negatif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık $114/613$ 'tür = % 18,6 [GA % 95: % 15,6-21,9]. Şüpheli sonuçları pozitif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık $250/613$ olur = % 40,8 [GA % 95 : % 36,9-44,8] olmaktadır. Hastalar bağlamında, teste tabi tutulan 51 hasta üzerinden, 14'ünün numune sonuçlarından en az biri pozitif ve 20'sinin numune sonuçlarından en az biri şüphelidir (bunların hiçbiri pozitif vermemiştir). Buna göre şüpheli sonuçları negatif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık $14/51$ = % 27,5 [GA % 95: % 15,9-41,7]'tir. Şüpheli sonuçları pozitif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık $34/51$ = % 66,7 [GA % 95: % 52,1-79,2] olur.

Bu 51 hastanın 30'unda (388 numune) kayıtlarda yer alan bir invaziv kandidoz olgusu görülmemiştir. Bunlardan, 20'si mayalar tarafından kolonize edilmiştir (12'si, *Candida albicans*; 7'si, başka bir tip *Candida* ile bağlantılı *Candida albicans* ve 1'i, en az bir tip *albicans* olmayan *Candida* tarafından kolonize edilmiştir).

Bu hastaların dördü klinik semptomlar ve *Candida*'yakaışı yüzeysel olduğu mikrobiyolojik olarak kanıtlanmış bir enfeksiyon göstermektedir. Bu hastaların 24'ünün mukoza bariyerlerinde ciddi hasarlar görülmüştür. Bu 388 numune üzerinden, 53'ünün sonucu pozitif, 95'inin sonucu şüphelidir. Buna göre, şüpheli sonuçları negatif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık 53/388'tür = % 13,7 [GA % 95: % 10,4-17,5]'dir. Şüpheli sonuçları pozitif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık 148/388 = % 38,1 [GA % 95: % 33,3-43,2] olmaktadır. Hastalar bağlamında, teste tabi tutulan 30 hasta üzerinden, 7'sinin numune sonuçlarından en az biri pozitifdir ve 12'sinin numune sonuçlarından pozitif olmaksızın en az biri ortadır. Buna göre şüpheli sonuçları negatif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık 7/30 = % 23,3 [GA % 95: % 9,9-42,3]'tür. Şüpheli sonuçları pozitif olarak değerlendirdiğimizde yaygınlık 19/30 = % 63,3 [GA % 95: % 43,9-80,1]'tür.

15-PERFORMANSLAR

A. Tekrarlanabilirlik çalışmaları

• Çalışma içi Hassasiyet (tekrarlanabilirlik):

Çalışma içi tekrarlanabilirliğinin değerlendirilmesinde, bir negatif numune ile beş pozitif numunenin aynı testte 32 kez test edilmiş olması gerekir. Her numunenin konsantrasyon değeri UA/ml cinsinden verilir. Aşağıdaki tabloda her numune için ortalama konsantrasyon, standart sapma (SD) ve değişim katsayısı (% CV) verilmiştir.

Çalışma içi Hassasiyet (tekrarlanabilirlik):

N=32	Numune Negatif	Zayıf pozitif veren numune No. 1	Zayıf pozitif veren numune No. 2	Zayıf pozitif veren numune No. 3	Şüpheli pozitif veren numune	Kuvvetli pozitif veren numune
Konsantrasyonların ortalaması (UA/ml)	3,14	7,91	10,17	10,06	38,42	67,62
SD	0,123	0,547	0,424	0,464	3,836	4,070
%CV	% 3,9	% 6,9	% 4,2	% 4,6	% 10,0	% 6,0

• Çalışma içi Hassasiyet (tekrarlanabilirlik):

Çalışma içi hassasiyetin tekrarlanabilirliğinin değerlendirilmesinde, (biri negatif, beşi pozitif olan) altı numunenin her biri toplam 20 gün içinde, günde iki seri olmak suretiyle ikişer kez testten geçmiştir. Her numunenin konsantrasyon değeri UA/ml cinsinden verilir. Aşağıdaki tabloda her numune için ortalama konsantrasyon, standart sapma (SD) ve değişim katsayısı (% CV) verilmiştir.

Çalışma arası Hassasiyet (Tekrarlanabilirlik):

N=80	Numune Negatif	Zayıf pozitif veren numune No. 1	Zayıf pozitif veren numune No. 2	Zayıf pozitif veren numune No. 3	Şüpheli pozitif veren numune	Kuvvetli pozitif veren numune
Konsantrasyonların ortalaması (UA/ml)	3,54	8,16	11,51	11,42	31,54	62,58
SD	0,332	0,814	1,481	1,452	6,55	7,162
% CV	% 9,4	% 10,0	% 12,9	% 12,7	% 20,8	% 11,4

B. Çapraz reaksiyonlar

Patoloji	Test edilen numune sayısı	Pozitiflerin sayısı	Şüphelilerin sayısı	Ticari testte doğrulanan pozitiflerin sayısı	Ticari testte doğrulanan şüphelilerin sayısı
Anti- <i>Aspergillus</i> antikor	110	12	30	9/12	12/30
Anti-ds-DNA antikor	10	2	2	0/2	0/2
ANA pozitif	10	0	1	Uyg. yok	0/1
IgG/IgM miyelomu	20	0	0	Uyg. yok	Uyg. yok
Anti-Toksoplazma IgG	10	1	1	0/1	1/1
Anti-fare insan antikor	12	1	1	0/1	0/1
Romatoid faktör	31	5	4	4/5	1/4

Platelia™ *Candida* Ab Plus testi ile pozitif veya şüpheli netice veren numunelere, bu testi takiben rakip firmaya ait bir anti-*Candida* antikor saptama testi yapılmıştır (bu test, IgG anti-*Candida* ve IgM anti-*Candida* saptama testlerinden oluşmaktadır).

C. Linearite

5 pozitif numune üzerinde gerçekleşen seyreltme çalışmalarından, Platelia™ *Candida* Ab Plus testinin linearite alanı, 2 ile 78 UA/ml arasında olarak belirlenmiştir.

D. Klinik çalışmalar

3 yerde 489 hastadan alınan toplam 836 numuneyle, Platelia™ *Candida* Ab Plus kitinin performansları değerlendirilmiştir.

DUYARLILIK

Platelia™ *Candida* Ab Plus kitinin duyarlılığı, Hollanda ve Fransa'da bulunan 2 yerde hastaneye yatırılan 89 hastadan alınan 436 numune panelinde belirlenmiştir. Numunelerin dağılımı şöyle olmuştur:

- 1.Yer (Hollanda): Kötü huylu hemopati (19 hasta) veya hematolojik olmayan kanser (2 hasta) için yoğun kemoterapik bakıma alınan, tedavi sonrasında duruma bağlı olarak, hematopoetik kök hücre nakli yapılmak üzere onko-hematoloji servisine kabul edilmiş Hollandalı 21 hastadan alınan 225 numune. Tüm bu hastalar, en az bir kültür *Candida* 'ya karşı pozitif reaksiyon verdiği mikrobiyolojik olarak kanıtlanmış invaziv kandidoz göstermiştir. (kan kültürü veya normalde steril doku örneğinin kültürü).¹⁷
- 2.Yer (Fransa): Farklı reanimasyon ve onko-hematoloji servislerinde hastanede bulunan, en az bir kan kültürü (hemokültür) *Candida spp.*'ye pozitif reaksiyon verdiği mikrobiyolojik olarak kanıtlanmış bir invaziv kandidozu olan 68 Fransız hastadan alınan 211 numune.

Not: Bu iki çalışmada kullanılan numune panelleri, kan numuneleri 1999 ile 2007 arasında alınmış hastalardan gelmektedir. Hem donma süresi boyunca hem de donma/çözülme çevrimini takiben, bu numunelerdeki mannan antijeni ile antimannan antikorunun göreceli kararlılığı nedeniyle, alınan sonuçlar, test edilen panelin muhafaza durumuna bağlıdır. Bu nedenle, geçmişte yapılan klinik çalışmalardan elde edilen hassaslık değerleri, çok taze numunelerle çalışılan olası klinik çalışmaların değerlerinden daha küçük çıkabilir.

1 Yer'de elde edilen sonuçlar

Bu çalışmaya dahil edilen Hollandalı 21 hasta, kötü huylu kan hastalığı (akut myeloblastik lösemi, akut lenfoblastik lösemi, kronik lenfoid lösemi, miyelom, myelodisplazik sendrom, aplastik anemi, veya Hodgkin dışı lenfoma) veya hematolojik olmayan kanser nedeniyle yoğun kemoterapi için hastanede bulunmaktadır.¹⁷

Bu 21 hasta, en az bir kültür *Candida spp.*'ye karşı pozitif reaksiyon verdiği mikrobiyolojik olarak kanıtlanmış invaziv kandidoz göstermiştir (kan kültürü veya normalde steril doku örneğinin kültürü). Platelia™ *Candida* Ab Plus testi yapıldığında, hastanın en az bir numunesi pozitif bulunduğu taktirde, *Candida* özgül mannan antijenine karşı kullanılan antikorun bu hastalarda olma neticesi pozitif olarak değerlendirilir. Numune, pozitif bulunmadığı taktirde, hastanın en az bir numunesinin neticesi "şüpheli" bulunuyorsa, netice "şüpheli" olarak; hastanın tüm numuneleri negatif verirse, netice "negatif" olarak değerlendirilir.¹⁷

Hasta kategorileri	Platelia™ <i>Candida</i> Ab Plus sonuçları				
	Hasta sayısı (numune sayısı)			Hassasiyet (negatif olarak değerlendirilen orta neticeler)	Hassasiyet (pozitif olarak değerlendirilen orta neticeler)
	Pozitif	Şüpheli	Negatif		
En az bir kültüründe <i>Candida spp.</i> pozitif bulunmuş 21 hasta (225 numune).	7 (61)	8 (41)	6 (123)	% 33,3 % 95 GA [% 14,6-57,0]	% 71,4 % 95 GA [% 47,8-88,7]

Platelia™ *Candida* Ab Plus testine paralel olarak, bu numunelerdeki *Candida* özgül mannan antijenin varlığını saptamak için, numunelere bir de Platelia™ *Candida* Ag Plus⁹ kiti ile test yapılmıştır. Mannan antijeni veya *Candida* özgül antimannan antikorunun varlığı test edilen hasta, bu iki testten en az birine pozitif yanıt verdiği taktirde, durumu, pozitif olarak değerlendirilir. Test neticesi, pozitif değilse, bu iki testten en az biri "orta" bulunuyorsa, durum "orta" olarak; her iki test sonucu da negatif çıkıyorsa, durum "negatif" olarak değerlendirilir.

Hasta kategorileri	Platelia™ <i>Candida</i> Ab Plus ve Platelia™ <i>Candida</i> Ag Plus sonuçlarının birleştirilmesi				
	Hasta sayısı (numune sayısı)			Hassasiyet (negatif olarak değerlendirilen ortalar)	Hassasiyet (pozitif olarak değerlendirilen ortalar)
	Pozitif	Orta	Negatif		
En az bir kültüründe <i>Candida spp.</i> pozitif bulunmuş 21 hasta (225 numune).	15 (98)	4 (34)	2 (93)	% 71,4 % 95 GA [% 47,8-90,5]	% 90,5 % 95 GA [% 69,9-98,8]

2 Yer'de elde edilen sonuçlar

Bu çalışmaya dahil edilen Fransız 68 hasta, çeşitli reanimasyon (cerrahi, nakil, yanıklar, travmatoloji, akciğer hastalıkları, vs.) veya onko-hematoloji (kötü huylu hemopati) servislerine alınmıştır. Üzerinde çalışma yapılan kan örneklerinin alınmasından önceki ya da alınmasını izleyen günlerde, hepsinin, en az bir *Candida*'ya (*albicans*, *parapsilosis*, *norvegensis*, *glabrata*, *krusei* veya *tropicalis*)^{6, 7, 14} pozitif reaksiyon veren bir hemokültürü olduğundan mikrobiyolojik olarak kanıtlanmış invaziv kandidoz göstermişlerdir. *Candida* 'ya pozitif yanıt veren ilk hemokültürden ortalama 6 gün sonra kan örnekleri (minimum 61 gün önce, maksimum 67 gün sonra). Platelia™ *Candida* Ab Plus testi yapıldığında, hastanın en az bir numunesi pozitif olduğu taktirde, hastanın en az bir numunesi pozitif bulunduğu taktirde, *Candida* özgül mannan antijenine karşı kullanılan antikorun bu hastalarda olma neticesi pozitif olarak değerlendirilir. Numune, pozitif bulunmadığı taktirde, hastanın en az bir numunesinin neticesi "şüpheli" bulunuyorsa, netice "şüpheli" olarak; hastanın tüm numuneleri negatif bulunursa, netice "negatif" olarak değerlendirilir.

Hasta kategorileri	Platelia™ <i>Candida</i> Ab Plus sonuçları				
	Hasta sayısı (numune sayısı)			Duyarlılık (negatif olarak değerlendirilen şüpheli neticeler)	Duyarlılık (pozitif olarak değerlendirilen şüpheli neticeler)
	Pozitif	Şüpheli	Negatif		
En az bir hemokültürü <i>Candida spp</i> 'ye pozitif vermiş 68 hasta (211 numune).	30 (71)	13 (51)	25 (89)	% 44,1 % 95 GA [% 32,1-56,7]	% 63,2 % 95 GA [% 50,7-74,6]
- Bunlardan 34'ünün <i>C. Albicans</i> test sonucu (113 numune)	17 (45)	6 (31)	11 (37)	% 50,0 % 95 GA [% 32,4-67,6]	% 67,6 % 95 GA [% 49,5-82,6]
- Bunlardan 15'inin <i>C. parapsilosis</i> test sonucu (37 numune)	4 (5)	6 (15)	5 (17)	% 26,7 % 95 GA [% 7,8-55,1]	% 66,7 % 95 GA [% 38,4-88,2]
- Bunlardan 12'sinin <i>C. glabrata</i> test sonucu (32 örnek)	7 (15)	1 (4)	4 (13)	% 58,3 % 95 GA [% 27,7-84,8]	% 66,7 % 95 GA [% 34,9-90,1]
- Bunlardan 4'ünün <i>C. tropicalis</i> test sonucu (19 numune)	2 (6)	0 (1)	2 (12)	% 50,0 *	% 50,0 *
- Bunlardan 2'sinin <i>C. krusei</i> test sonucu (8 numune)	0 (0)	0 (0)	2 (8)	% 0,0 *	% 0,0 *
- Bunlardan 1'inin <i>C. norvegensis</i> test sonucu (2 numune)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	% 0,0 *	% 0,0 *

*: Yeterli sayıda numune olmadığından güvenilirlik aralığı % 95 değildir.

Platelia™ *Candida* Ab Plus testine paralel olarak, bu numunelerdeki *Candida* özgül mannan antijeninin varlığını saptamak için, numunelere bir de Platelia™ *Candida* Ag Plus kiti ile test yapılmıştır. Mannan antijeni veya *Candida* özgül antimannan antikorunun varlığı test edilen hasta, bu iki testten en az birine pozitif yanıt verdiği takdirde, durumu, pozitif olarak değerlendirilir. Test neticesi, pozitif değilse, bu iki testten en az biri "şüpheli" bulunuyorsa, durum "şüpheli" olarak; her iki test sonucu da negatif çıkıyorsa, durum "negatif" olarak değerlendirilir.¹⁷

Hasta kategorileri	Platelia™ <i>Candida</i> Ab Plus ve Platelia™ <i>Candida</i> Ag Plus sonuçlarının birleştirilmesi				
	Hasta sayısı (numune sayısı)			Hassasiyet (negatif olarak değerlendirilen orta neticeler)	Hassasiyet (pozitif olarak değerlendirilen orta neticeler)
	pozitif	Orta	negatif		
En az bir hemokültürü <i>Candida spp</i> 'ye pozitif vermiş 68 hasta (211 numune).	48 (122)	8 (40)	12 (49)	% 70,6 % 95 GA [% 58,3-81,0]	% 82,4 % 95 GA [% 71,2-90,5]
- Bunlardan 34'ünün <i>C. albicans</i> test sonucu (113 numune)	28 (74)	2 (22)	4 (17)	% 82,4 % 95 GA [% 65,5-93,2]	% 88,2 % 95 GA [% 72,6-96,7]
- Bunlardan 15'inin <i>C. parapsilosis</i> test sonucu (37 numune)	5 (7)	6 (15)	4 (15)	% 33,3 % 95 GA [% 11,8-61,6]	% 73,3 % 95 GA [% 44,9-92,2]
- Bunlardan 12'sinin <i>C. glabrata</i> test sonucu (32 örnek)	11 (24)	0 (3)	1 (5)	% 91,7 % 95 GA [% 61,5-99,8]	% 91,7 % 95 GA [% 61,5-99,8]
- Bunlardan 4'ünün <i>C. tropicalis</i> test sonucu (19 numune)	4 (17)	0 (0)	0 (2)	% 100,0 *	% 100,0 *
- Bunlardan 2'sinin <i>C. krusei</i> test sonucu (8 numune)	0 (0)	0 (0)	2 (8)	% 0,0 *	% 0,0 *
- Bunlardan 1'inin <i>C. norvegensis</i> test sonucu (2 numune)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	% 0,0 *	% 0,0 *

*: Yeterli sayıda numune olmadığından güvenilirlik aralığı % 95 değildir.

SPESİFİTE

Fransa'daki 2 farklı yerden gelen 400 numune panelinin spesifitesi saptanmıştır. Dağılım şöyledir:

- Yer 1: Gebelikleri sırasında toksoplazmozis serolojisi takip edilen, bununla birlikte *Candida* enfeksiyonuna benzer hiçbir klinik semptom göstermeyen Fransız 200 bayan hastadan alınan 200 örnek.
- Yer 2: Kan veren Fransız 200 hastadan alınan 200 numune.

Hasta kategorileri	Platelia™ <i>Candida</i> Ab Plus sonuçları				
	Hasta sayısı (numune sayısı)			Spesifite (pozitif olarak değerlendirilmeye alınan ortalar)	Spesifite (negatif olarak değerlendirilmeye alınan ortalar)
	Pozitif	Orta	Negatif		
Toksoplazmozis serolojisi takip edilen 200 hamile bayan (200 numune)	9	35	156	% 78,0 % 95 GA [% 71,6-83,5]	% 95,5 % 95 GA [% 91,6-97,9]
200 kan veren (200 numune)	8	28	164	% 82,0 % 95 GA [% 76,0-87,1]	% 96,0 % 95 GA [% 92,3-98,3]

16-ÜRETİCİ FİRMANIN KALİTE KONTROLÜ

Bio-Rad firması tarafından imal edilen ve satışa sunulan tüm ürünler, ilk malzemenin içeri girmesinden ticarileşmesine kadar tüm evreyi kalite güvenlik sistemine tabi tutar. Yapımı biten her ürün serisi, kalite kontrolüne tabi tutulur ve bu seriler ancak kabul edirlilik kriterlerine uydukları taktirde satışa çıkarılır. Her serinin üretimi ve kontrolü ile ilgili tüm belgeler üretici tarafından muhafaza edilir.

17-BİBLİYOGRAFİK KAYNAKLAR

- 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- **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- **Ellepola, A.N.B., Morrison, C.J.** 2005. Laboratory Diagnosis of Invasive Candidiasis. *Journal of Microbiology* 43(No. S): p. 65-84.
- 4- **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.
- 5- **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.
- 6- **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.
- 7- **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.
- 8- **Pappas, P.G., Kauffman, C.A., Andes, D., Benjamin D.K.Jr., Calandra, T.F., Edwards, J.E.Jr, Filler, S.G., Fisher, J.F., Kullberg, B.J., Ostrosky-Zeichner, L., Reboli, A.C., Rex, J.H., Walsh, T.J., Sobel, J.D.** 2009. Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 48: p. 503–535.
- 9- **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.
- 10- **Prella, M., Bille, J., Pugnale, M., Duvoisin, B., Cavassini, M., Calandra, T., Marchetti, O.** 2005. Early diagnosis of invasive candidiosis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 51: p. 95–101.
- 11- **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.
- 12- **Ruan, S.-Y., Hsueh, P.-R.** 2009. Invasive Candidiasis: An Overview from Taiwan. *J. Formos. Med. Assoc.* 108(6): p. 443–451.
- 13- **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.
- 14- **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.

- 15- **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.
- 16- **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.
- 17- **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.



Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33



881050
08/2009

