

β -D-GLUCAN TEST FRÜHERKENNUNG INVASIVER PILZINFEKTIONEN

**FÜR DIE BESTIMMUNG VON (1 \rightarrow 3)- β -D-GLUCAN DURCH EINEN
KINETISCH-TURBIDIMETRISCHEN ASSAY**

- + Einzeltest-Verfahren
- + Anwenderfreundliches System
- + Gebrauchsfertige Reagenzien



reddot winner 2022

LIMUSAVE MT-7500



EINLEITUNG

Die Häufigkeit invasiver Pilzkrankungen nimmt weltweit zu und stellt ein bedeutendes gesundheitliches Problem dar. Diese opportunistischen Infektionen betreffen immungeschwächte Patienten unter intensivmedizinischer Behandlung und Personen mit chronischen Erkrankungen, insbesondere Lungenerkrankungen. Invasive Pilzkrankungen sind schwer zu diagnostizieren und mit einer hohen Morbidität und Mortalität behaftet. Die Früherkennung und Diagnose dieser Mykosen ist von größter Bedeutung für die Verbesserung der Therapie. Traditionellen diagnostischen Methoden wie pathologisch-histologische Befunden oder Pilzkulturen mangelt es an hinreichender Sensitivität für frühe und sichere Diagnosen.

In den meisten pathogenen Pilzen ist (1→3)-β-D-Glucan ein integraler Bestandteil der Zellwand (Abb. 1). Während der Infektion werden kleine Mengen in die Blutbahn abgegeben. Das aus dem

Extrakt von Blutzellen von Pfeilschwanzkrebsen (*Limulus polyphemus*) gewonnene Limulus-Reagenz (LAL: *Limulus* Amöbozyten Lysat) ist als *in-vitro*-diagnostisches Reagenz für Mykosen geeignet. Es reagiert sowohl mit (1→3)-β-D-Glucan als auch mit Endotoxin. Der FUJIFILM Wako β-D-Glucan-Test misst ausschließlich die (1→3)-β-D-Glucan-Konzentration mittels eines kinetisch-turbidimetrischen Assays. Hierzu wird die Probe mit einer Lösung, welche Endotoxin durch Einwirkung eines nicht-ionischen Detergenz und Polymyxin B inaktiviert, vorbehandelt.

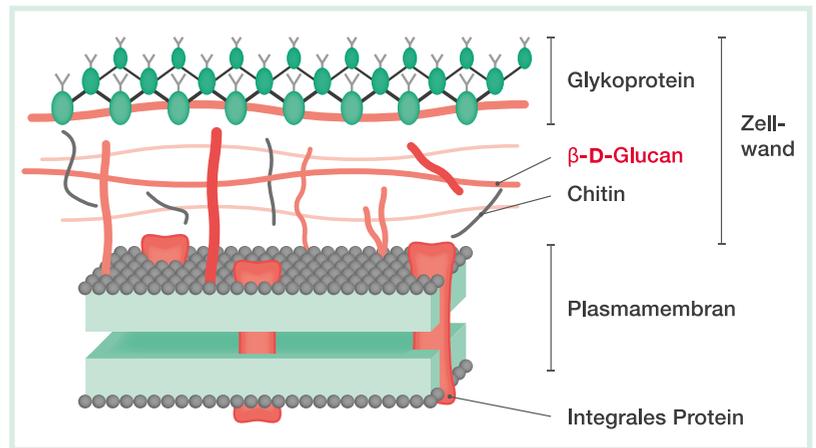


Abb. 1: Schema der Pilzellwand

VERWENDUNGSZWECK

IN VITRO -DIAGNOSTISCHER TEST ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON (1→3)-β-D-GLUCAN IN SERUM ODER PLASMA

KLINISCH-DIAGNOSTISCHE LEISTUNG

Verschiedene Forscher in Europa haben ihre Studienergebnisse zum FUJIFILM Wako β-Glucan Test veröffentlicht. Allein oder in Kombination mit anderen Tests zeigte er eine sehr gute diagnostische Leistung und kann daher in der klinischen Routinepraxis eingesetzt werden.

	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
Invasive Aspergillose	80,0 % (32 / 40)	97,3 % (182 / 187)	86,5 % (32 / 37)	95,8 % (182 / 190)
Candidämie	98,7 % (77 / 78)	97,3 % (182 / 187)	93,9 % (77 / 82)	99,5 % (182 / 183)
<i>Pneumocystis</i> Pneumonie	94,1 % (16 / 17)	97,3 % (182 / 187)	76,2 % (16 / 21)	99,5 % (182 / 183)

Tabelle 1: Diagnostische Leistung des β-Glucan Tests bei den häufigsten invasiven Pilzinfektionen (basierend auf einem Cut-off-Wert von 7 pg / ml)¹

¹ De Carolis et al. Comparative performance evaluation of Wako β-glucan test and Fungitell assay for the diagnosis of invasive fungal diseases. PLoS One 2020 Jul 29;15(7).

TESTPRINZIP

Endotoxin wird in der Probe durch Erhitzen auf 70 °C für 10 Minuten in einer nicht-ionischen Detergenz und Polymyxin B enthaltenden Vorbehandlungslösung inaktiviert. Diese Vorbehandlung inaktiviert ebenfalls den weiteren Reaktionsablauf inhibierende Substanzen. Nach Zugabe der vorbehandelten Probe in das LAL-Reagenz aktiviert (1→3)-β-D-Glucan in der Probe den Faktor G, welcher wiederum die in Abb. 2 dargestellte Reaktionskaskade initiiert. Die durch die Gelierungsreaktion ausgelöste Trübung wird als Transmissionsän-

derung detektiert. Die benötigte Zeit bis zum Erreichen eines gewissen Schwellenwertes der Trübung wird gemessen. Dieses Intervall ist als Zeit bis zur Gelierung („Time to gelation – Tg“; Abb. 3) definiert. Der Logarithmus (log) der [(1→3)-β-D-Glucan-Konzentration] ist invers proportional zum Logarithmus von [log(Tg)]. Durch die Messung der Zeit bis zur Gelierung (Tg) bei einer unbekannt Probe, kann die (1→3)-β-D-Glucan-Konzentration über eine Standardkurve ermittelt werden.

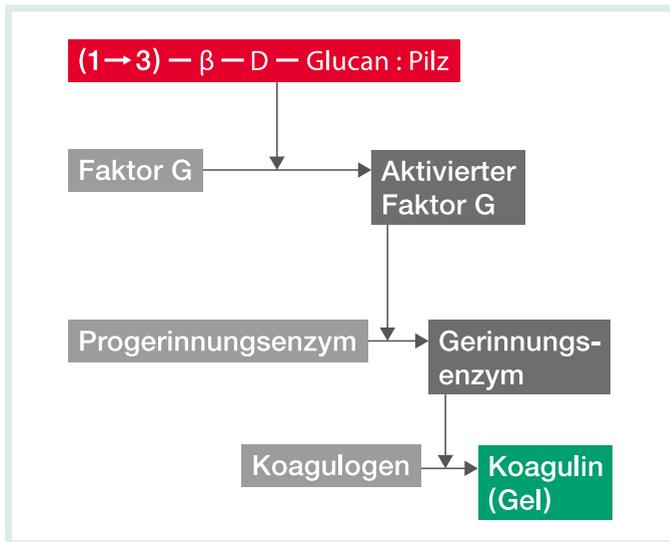


Abb. 2: Kaskadenreaktion des LAL

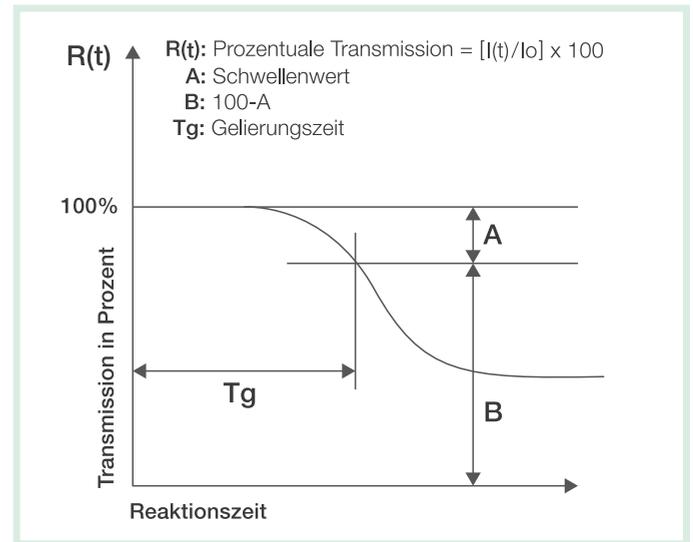


Abb. 3: Prinzip der kinetisch-turbidimetrischen Methode

TESTVERFAHREN

MESSABLAUF

PROBENVORBEHANDLUNG

MESSUNG

Pipettieren der Probe 0,1 ml

Inkubieren bei 70 °C 10 Minuten

Kühlen min. 3 Minuten

Überführen der vorbehandelten Probe 0,2 ml

Einsetzen des Röhrchens



Mischen



Mischen



Vorbehandlungslösung

THERMOSTATION TS-70/20

Cooling Station

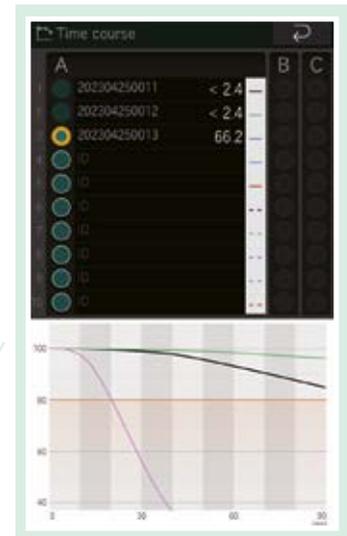
Vorbehandelte Probe

LAL Reagenz

LIMUSAVE MT-7500

GERÄTEMERKMALE

- + 10 Messplätze, bis zu 30 mit Erweiterungsmodulen
- + "Random access" Testmessung
- + Kalibration mittels Barcodescan
- + Einlesen von Patienten IDs mittels Barcodescan
- + Kompakte Größe
- + Einfache Bedienung des Bildschirms
- + Datenausdruck und LIS-Kompatibilität



TESTMERKMALE

- + Einzeltest-Reagenz
- + LAL-basierendes Testprinzip
- + Quantitative (1→3)-β-D-Glucan Messungen mittels kinetisch-turbidimetrischen Verfahrens
- + Qualitätskontrollmaterial verfügbar
- + Messbereich: 6 bis 600 pg / ml
- + Klinischer Cut-off-Wert: 7 pg / ml
- + Messzeit: Max. 90 Minuten
- + Präzision: Max. CV von 6,6 % in Versuchen zur Präzision in der Serie





GERÄTE

Bestellnummer	Produkt
167-47686	LIMUSAVE MT-7500 ¹
167-47727	LIMUSAVE MT-7500 Extension Module ¹
167-47703	LIMUSAVE MT-7500 THERMOSTATION TS-70/20 ¹
998-22211	Cooling Station ²

REAGENZIEN UND VERBRAUCHSMITTEL²

Bestellnummer	Produkt	Packung
993-04201	β -Glucan Test R1: Pretreatment Solution	50 x 0,9 ml
997-04101	β -Glucan Test R2: LAL Reagent	50 x für 0,2 ml
995-04901	Aluminum Cap	10 x 10 Einheiten
995-05001	BC Tip EXT	100 Spitzen
991-05101	BC Tip 1000-R	100 Spitzen
999-04301	β -Glucan Sample Diluent	10 x 0,9 ml
995-04401	LAL Control R1: LAL Control (lyophilized) R2: Control Dissolution Buffer	10 x für 0,5 ml 10 x 2 ml

¹ Hersteller: FUJIFILM Corporation

² Hersteller: FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

SPEZIFIKATIONEN

LIMUSAVE MT-7500

Messmethode	Kinetisch-turbidimetrischer Assay	
Anzahl an Tests, die gleichzeitig abgearbeitet werden können	Maximal 10 Tests (nur für das Hauptmodul) Maximal 30 Tests (wenn 2 Erweiterungsmodule verbunden sind)	
Umgebungsbedingungen (bei Nutzung)	Temperatur: 15 bis 32 °C (Temperaturschwankung: Innerhalb von ± 2 °C/Stunde) Feuchtigkeit: 30 bis 80 % RH (keine Dampfkondensation)	
Lichtquelle	LED, mittlere Wellenlänge: 660 ± 10 nm	
Temperaturkontrolle	37 °C ± 0,5 °C, Aufwärmzeit: 15 Minuten (bei einer Raumtemperatur von 25 °C)	
Anzeige	Farb-LCD (7-Zoll-Touchpanel), Statusanzeige LED	
Alarmfunktion	Benachrichtigung durch Alarm und Anzeige	
Drucker	Thermopapier (Papiergröße: 58 mm x 25 m)	
Externe Anschlüsse	USB	1 Anschluss (für USB-Speicherstick)
	LAN	1 Anschluss (für LIS)
	RS232C	1 Anschluss (für LIS)
Gewichte	Hauptmodul: 8,1 kg, Erweiterungsmodule: 2,2 kg	
Außenmaße	Hauptmodul: (B) 250 × (T) 400 × (H) 180 mm, Erweiterungsmodule: (B) 100 × (T) 270 × (H) 125 mm	
Anzahl anschließbarer Erweiterungsmodule	Maximal 2 Erweiterungsmodule	
Weiteres	2D Barcode-Lesegerät	

LIMUSAVE MT-7500 THERMOSTATION TS-70/20

Temperaturkontrolle	70 °C ± 0,5 °C
Anzahl Positionen Röhrchen	20
Umgebungsbedingungen	Temperatur: 15 bis 32 °C Feuchtigkeit: 30 bis 80 % RH (keine Dampfkondensation)
Gewicht	2,6 kg
Außenmaße	(B) 110 × (T) 320 × (H) 125 mm

COOLING STATION

Name	Kühlstation für Teströhrchen
Gewicht	Etwa 1.600 g
Maße	(B) 200 × (T) 160 × (H) 190 mm, Metallcontainer: (B) 130 × (T) 104 × (H) 88
Anzahl Plätze für Teströhrchen	20
Teströhrchendurchmesser	12 mm
Kühlungstemperatur	0 bis 5 °C
Kälteisolierungszeit	Etwa 12 Stunden (gemessen bei Raumtemperatur von 23 °C)

