

# MycXtra®

## Κιτ εκχύλισης μυκητιακού DNA

REF 080-005

### Προβλεπόμενη χρήση

Το κιτ εκχύλισης μυκητιακού DNA MycXtra® έχει σχεδιαστεί για την απομόνωση και τον καθαρισμό μυκητιακού DNA από δείγματα βρογχοπνευμονικής έκπλυσης (BAL), πτύελα και άλλα δείγματα των κατώτερων αναπνευστικών οδών σε ανθρώπους.

### Περίληψη και εξήγηση

Το κιτ έχει σχεδιαστεί για την απομόνωση DNA μυκητιακής προέλευσης από ανθρώπινα δείγματα των κατώτερων αναπνευστικών οδών σε ασθενείς με υποψία μυκητιακής λοίμωξης. Η εκχύλιση μυκητιακού DNA είναι ένα κρίσιμο πρώτο βήμα για την ανάλυση ενός δείγματος ως προς ειδικό μυκητιακό DNA. Για τη βελτιστοποίηση της απόδοσης απαιτείται ένας συνδυασμός διαδικασιών και αυτό διότι η καταστροφή των τοιχωμάτων των μυκητιακών κυττάρων είναι δύσκολη: απευθείας άσκηση μηχανικών δυνάμεων στο ρυθμιστικό διάλυμα, κατόπιν αρκετά βήματα καθαρισμού για την απομάκρυνση ανασταλτικών ουσιών της PCR, συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος και ανθρώπινης θεμέλιας ουσίας, και τέλος έκλυση σε ρυθμιστικό διάλυμα. Η ποιότητα του καθαρισμένου DNA ενδείκνυται για ανάλυση PCR πραγματικού χρόνου.

### Αρχές της διαδικασίας

Οι μυκητιακοί σπόροι και οι υφές στα δείγματα συμπυκνώνονται με φυγοκέντριση και ανακατανέμονται σε μικρό όγκο. Το δείγμα προστίθεται κατόπιν σε σωληνάριο-σφαιρόμυλο το οποίο περιέχει σφαιρίδια, διάλυμα λύσης, διάλυμα σφαιριδίων και Διάλυμα αφαίρεσης αναστολέων. Αρχή της διαδικασίας είναι η λύση των μικροοργανισμών στο δείγμα με χρήση ενός συνδυασμού καθαριστικής και μηχανικής ισχύος ασκούμενης από ειδικά σφαιρίδια. Τα κυτταρικά συστατικά λύνονται με μηχανική ενέργεια σε συσκευή ανάδευσης τύπου vortex. Το DNA που απελευθερώνεται από τα λυμένα κύτταρα προσδένεται σε φίλτρο πυριτίου περιδίνησης. Το φίλτρο υποβάλλεται σε πλύση και το DNA ανακτάται σε ρυθμισμένο διάλυμα. Είναι κατόπιν έτοιμο για την ανάλυση PCR.

### Περιεχόμενα του κιτ

- Αρκεί για 10 δείγματα ασθενών

Περιγραφή	Όγκος (mL)
10 Σωληνάκια διαλύματος σφαιριδίων των 2 mL	0,55
Διάλυμα S1	0,65
Διάλυμα IRS	2,2
Διάλυμα S2	2,75
Διάλυμα S3	14,5
Διάλυμα S4	3,3
Διάλυμα S5	1.1

- 10 μονάδες φίλτρων περιδίνησης σε σωληνάκια των 2 mL
- 40 σωληνάκια μικροφυγόκεντρου (2 mL)
- Οδηγίες Χρήσης

### Φύλαξη

Το κιτ θα πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου (15 έως 30 °C) έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του κουτιού του κιτ. Μετά το πέρας αυτής της ημερομηνίας θα πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.

### Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Το κιτ προορίζεται μόνο για χρήση από επαγγελματίες εργαστηρίων. Για χειρισμούς κλινικών δειγμάτων χωρίς παραγωγή αερολύματος απαιτούνται πρακτικές και διαδικασίες, εξοπλισμός θωράκισης και εγκαταστάσεις Επιπέδου Βιοασφάλειας (Biosafety Level) 2. Όλες οι δραστηριότητες με παραγωγή αερολύματος πρέπει να εκτελούνται σε ερμάριο βιολογικής ασφάλειας Κατηγορίας II ή III. Τα κλινικά δείγματα ενδέχεται να περιέχουν παθογόνους μικροοργανισμούς,

συμπεριλαμβανομένων μεταξύ άλλων, ιούς ηπατίτιδας και τον ιό της Επικήτητης ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου. Κατά το χειρισμό όλων των αντικειμένων που έχουν επιμολυνθεί με αίμα ή άλλα σωματικά υγρά πρέπει να τηρούνται οι τυπικές προφυλάξεις και οι κατευθυντήριες γραμμές του εκάστοτε υγειονομικής μονάδας. Το κιτ περιέχει μικρές ποσότητες: αιθανόλης, θειικού δωδεκυλικού νατρίου, υδροχλωρικής γουανιδίνης και ισοθειοκυανικής γουανιδίνης. Ένα Φύλλο Πληροφοριών Ασφάλειας Υλικού (MSDS) είναι διαθέσιμο από τη Myconostica Ltd.

## Απαιτούμενος εξοπλισμός

- Μικροφυγόκεντρος (10.000 x g)
- Φυγόκεντρος γενικής χρήσης
- Μικροπιπέτες με στείρα ρύγχη φίλτρου (απαιτούμενοι όγκοι 40 µL–1000 µL).
- Αναδευτήρας Vortex Genie 2 (της εταιρείας Scientific Industries - διαθέσιμος σε τοπικούς προμηθευτές)
- Πλάκα προσαρμογής αναδευτήρα Vortex (διαθέσιμη από τη Myconostica ΚΩΔ. 080-015) για την προσάρτηση σωληναρίων για ανάδευση.

## Σημειώσεις για τη διαδικασία

Η διαδικασία διαρκεί περίπου 1,5 ώρα. Εάν πρόκειται για πτύελα ή το δείγμα της βρογχοπνευμονικής έκπλυσης εμφανίζεται παχύρρευστο, θα χρειαστεί πρόσθετη προκαταρκτική προετοιμασία, όπως αυτή περιγράφεται παρακάτω, στην ενότητα «Διαδικασία για πτύελα ή άλλα παχύρρευστα δείγματα των αναπνευστικών οδών».

**Παρακαλείστε να διαβάσετε το πρωτόκολλο μέχρι τέλους προτού ξεκινήσετε. Φοράτε συνεχώς γάντια. Κλείνετε όλα τα σωληνάρια με καπάκι κατά την εκτέλεση των βημάτων ανάμειξης σε αναδευτήρα vortex. Χρησιμοποιήστε μικροπιπέτες για τη μεταφορά υγρών. Προσέξτε να επιστημάνετε σωστά τα σωληνάρια όταν υποβάλλονται σε επεξεργασία περισσότερα δείγματα ασθενών.**

## Διαδικασία για διαυγή, λεπτόρρευστα δείγματα βρογχοπνευμονικής έκπλυσης:

**Σημείωση:** Εάν το εκχυλισμένο DNA πρόκειται ακολούθως να χρησιμοποιηθεί μαζί με προϊόν MycAssay™ της Myconostica, συνιστούμε να ξεκινήσετε με όγκο δείγματος βρογχοπνευμονικής έκπλυσης  $\geq 2$  mL.

1. Φυγοκεντρίστε το δείγμα της βρογχοπνευμονικής έκπλυσης για 20 λεπτά στις 3000 x g. Μεταγγίστε το υπερκείμενο και μην το απορρίψετε.
2. Επιστρέψτε 800 µL του διατηρημένου υπερκείμενου στο υπόλειμμα, ανακαταναίμετε και μεταφέρετε σε σωληνάριο μικροφυγόκεντρο (παρέχεται).
3. Φυγοκεντρίστε για 2 λεπτά στις 10.000 x g και κατόπιν απομακρύνετε όλο το υπερκείμενο. Ανακαταναίμετε ξανά το υπόλειμμα στο διάλυμα που παραμένει στο σωληνάριο και μεταφέρετε ολόκληρη την ποσότητα σε σωληνάριο Διαλύματος σφαιριδίων των 2 mL.
4. Αναμίξτε αναποδογυρίζοντας ελαφρά.
5. **Ελέγξτε το Διάλυμα S1.** Εάν έχει σχηματιστεί ίζημα στο διάλυμα S1, θερμάνετε το σωληνάριο στο χέρι σας και αναδεύστε στον αναδευτήρα vortex για να διαλυθεί το ίζημα.
6. Προσθέστε 60 µL του Διαλύματος S1 στο σωληνάριο Διαλύματος σφαιριδίων και αναποδογυρίστε αρκετές φορές ή αναδεύστε σύντομα σε αναδευτήρα vortex.
7. Προσθέστε 200 µL του Διαλύματος IRS (Διάλυμα αφαίρεσης αναστολέων) στο σωληνάριο Διαλύματος σφαιριδίων.
8. Ασφαλίστε το/τα σωληνάρια/-α Διαλύματος σφαιριδίων οριζόντια σε πλάκα προσαρμογής αναδευτήρα vortex (διαθέσιμη από τη Myconostica ΚΩΔ. 080-015). Αναδεύστε στον αναδευτήρα vortex για 10 min. στη μέγιστη ταχύτητα.
9. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο/-α Διαλύματος σφαιριδίων στις 10.000 x g για 30 sec. **ΠΡΟΣΟΧΗ:** Βεβαιωθείτε πως δεν υπερβαίνετε τις 10.000 x g ειδήλως ενδέχεται να σπάσουν τα σωληνάρια. Βεβαιωθείτε πως τα σωληνάρια των 2 mL περιστρέφονται ελεύθερα στη φυγόκεντρο χωρίς τριβές.
10. Μεταφέρετε 450 µL του υπερκείμενου σε καθαρό σωληνάριο μικροφυγόκεντρο (παρέχεται), προσέχοντας ώστε να μην ανακινήσετε τα σφαιρίδια Απορρίψτε το σωληνάριο Διαλύματος σφαιριδίων.
11. Προσθέστε 250 µL του διαλύματος S2 στο υπερκείμενο και αναδεύστε σε αναδευτήρα vortex για 5 sec. Επώαστε για 5 min. στους 4–8 °C.
12. Φυγοκεντρίστε τα σωληνάρια για 1 min στις 10.000 x g.
13. Αποφεύγοντας το υπόλειμμα, μεταφέρετε ολόκληρο τον όγκο του υπερκείμενου σε καθαρό σωληνάριο μικροφυγόκεντρο (παρέχεται).
14. Προσθέστε 1,1 mL (2 x 550 µL) του Διαλύματος S3 στο υπερκείμενο (απαιτείται προσοχή καθώς το σωληνάριο είναι σχεδόν γεμάτο). Αναμίξτε αναποδογυρίζοντας.
15. Φορτώστε περίπου 650 µL επάνω σε φίλτρο περιδίνησης και φυγοκεντρίστε στις 10.000 x g για 30 sec. Απορρίψτε το υγρό που έρευσε διαμέσου του φίλτρου, προσθέστε ακόμη 650 µL υπερκείμενου στο φίλτρο περιδίνησης και φυγοκεντρίστε στις 10.000 x g για 30 sec. Επαναλάβετε έως ότου ολόκληρη η ποσότητα του υπερκείμενου περάσει μέσα από το φίλτρο περιδίνησης. **Σημείωση:** Για κάθε δείγμα απαιτούνται συνολικά τρεις φορτώσεις. Κατά την τελική περιδίνηση, φυγοκεντρίστε στις 10.000 x g για 1 min. Απορρίψτε το υγρό που έρευσε διαμέσου του φίλτρου.
16. Προσθέστε 300 µL του Διαλύματος S4 στο φίλτρο περιδίνησης και φυγοκεντρίστε για 30 sec στις 10.000 x g.

17. Απορρίψτε το υγρό που έρευσε διαμέσου του φίλτρου.
18. Φυγοκεντρίστε ξανά για 1 min. για να αφαιρέσετε και τα τελευταία ίχνη του διαλύματος S4 τα οποία θα μπορούσαν αναστείλουν την αντίδραση PCR.
19. Τοποθετήστε προσεκτικά το φίλτρο περιδίνησης νέο, καθαρό σωληνάριο μικροφυγόκεντρου (παρέχεται). Αποφύγετε κάθε ακούσια μεταφορά του Διαλύματος S4 στο φίλτρο περιδίνησης.
20. Προσθέστε προσεκτικά 40 µL του Διαλύματος S5 στο κέντρο της λευκής μεμβράνης του φίλτρου περιδίνησης. Αφήστε σε θερμοκρασία δωματίου για 2 min.
21. Φυγοκεντρίστε στις 10.000 x g για 30 sec.
22. Απορρίψτε το φίλτρο περιδίνησης. Το DNA στο σωληνάριο είναι τώρα έτοιμο για χρήση σε εφαρμογή PCR. Φυλάξτε στους 2–8 °C για έως και 5 ημέρες, ειδάλως φυλάξτε το DNA κατεψυγμένο στους -20 °C.
23. Έως και 10 δείγματα βρογχοπνευμονικής έκπλυσης μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία. Εάν δεν χρησιμοποιηθούν όλα τα συστατικά σε μία συνεδρία, επιστρέψτε τα συστατικά του kit στο αρχικό κουτί. Μην αναμιγνύετε διαφορετικές παρτίδες.
24. Όταν ολοκληρωθεί η επεξεργασία, τα χρησιμοποιημένα συστατικά του kit θα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τοπικούς κανονισμούς υγείας, ασφάλειας και περιβαλλοντικής προστασίας.

## Διαδικασία για πτύελα ή άλλα παχύρρευστα δείγματα των αναπνευστικών οδών

Συνιστάται η χρήση του kit πέψης/απορρύπανσης δειγμάτων BD BBL™ MycoPrep™ για την Επεξεργασία Μυκοβακτηριδιακών Δειγμάτων (κωδ. προϊόντος 240862) μαζί με το πρωτόκολλο MycXtra® για την προετοιμασία των δειγμάτων πτυέλων. Η ακόλουθη διαδικασία έχει τροποποιηθεί για τη συμμόρφωση με τις απαιτήσεις εισόδου δειγμάτων για το kit MycXtra®.

### Προφυλάξεις

Το αντιδραστήριο NALC-NaOH στο kit πέψης/απορρύπανσης δειγμάτων BD BBL™ MycoPrep™ για την Επεξεργασία Μυκοβακτηριδιακών Δειγμάτων περιέχει ισχυρές βάσεις και μπορεί να προκαλέσει σοβαρά εγκαύματα. Βγάλτε αμέσως κάθε μολυσμένο τεμάχιο ρουχισμού. Πρέπει να φοράτε γάντια και μάσκα προστασίας ματιών/προσώπου. Το NaOH είναι ερεθιστικό για τα μάτια και το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με σύστημα πλύσης ματιών ή νερό βρύσης για τουλάχιστον 15 λεπτά και αναζητήστε ιατρική βοήθεια. Σε περίπτωση κατάποσης χορηγήστε γάλα, ασπράδι αυγού ή μεγάλες ποσότητες νερού και αναζητήστε ιατρική βοήθεια.

**Προσοχή:** Σπάστε την αμπούλα μόνο μία φορά, κοντά στο κέντρο της. Μην προβείτε σε περαιτέρω χειρισμούς της αμπούλας διότι η πλαστική φιάλη ενδέχεται να τρυπήσει και να οδηγήσει σε τραυματισμό.

**Οδηγίες φύλαξης:** Αμέσως μετά την παραλαβή φυλάξτε στους 15–30 °C. Μην καταψύχετε. Μην ανοίξετε έως ότου είναι έτοιμο για χρήση.

**Αλλοίωση προϊόντος:** Μη χρησιμοποιήσετε τα αντιδραστήρια εάν οι αμπούλες έχουν σπάσει ή υπάρχουν εμφανή σημάδια αλλοίωσης. Μη χρησιμοποιείτε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών εάν οι συσκευασίες έχουν σχιστεί ή έχει παραβιαστεί η σφράγιση τους.

### Διαδικασία

1. Προετοιμάστε το Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών BBL™ MycoPrep™. Προσθέστε το περιεχόμενο ενός φακελλίσκου Ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών σε ένα γυάλινο φιαλίδιο με βιδωτό καπάκι και συμπληρώστε έως τη γραμμή των 500 mL με νερό βαθμού μοριακής βιολογίας. Αποστειρώστε με χαλαρωμένο το καπάκι σε αυτόκαυστο, στους 121°C για 15 min. Μετά την επιστροφή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σφίξτε το καπάκι.
2. Λύστε προσεκτικά το βιδωτό καπάκι της φιάλης Αντιδραστήριου BBL™ MycoPrep™. Εντοπίστε την αμπούλα στη φιάλη, πιέστε για να απομακρυνθεί η περίσσεια αέρα από τη φιάλη και σφίξτε το καπάκι. Με τη φιάλη σε όρθια θέση, πιέστε τη φιάλη έως ότου σπάσει η αμπούλα. Ανακινήστε ελαφρά για να διαλυθεί το NALC. Αποφύγετε την υπερβολική ανακίνηση. ΑΦΟΥ ΣΠΑΣΕΤΕ ΤΗΝ ΑΜΠΟΥΛΑ, ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΤΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΣ 24 ωρών.
3. Σε ερμάριο βιοασφάλειας (τουλάχιστον κατηγορίας 2), με χρήση διαβαθισμένου σωληναρίου φυγόκεντρου με βιδωτό καπάκι, προσθέστε το δείγμα και τη διπλάσια ποσότητα ενεργοποιημένου διαλύματος NALC-NaOH, υπολογίζοντας χονδρικά τον όγκο των πτυέλων. Για παράδειγμα: προσθέστε 4 mL ενεργοποιημένου διαλύματος NALC-NaOH σε περίπου 2 mL δείγματος.
4. Κλείστε το σωληνάριο φυγόκεντρου με το καπάκι σε αναδεύστε σε αναδευτήρα τύπου Vortex έως ότου διαλυτοποιηθεί το δείγμα. Εάν το δείγμα είναι ιδιαίτερα παχύρρευστο, προσθέστε περισσότερο διάλυμα NALC-NaOH και επαναλάβετε την ανάμειξη.
5. Αφήστε το μείγμα να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min με περιστασιακή ήπια ανακίνηση.
6. Προσθέστε το προετοιμασμένο Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών έως τη γραμμή των 35 mL στο σωληνάριο φυγόκεντρου και αναμίξτε. Φυγοκεντρίστε στις 3000 x g για 20 min.
7. Μεταγγίστε προσεκτικά όλο το υπερκείμενο υγρό. Με χρήση μικροπιπέτας απομακρύνετε ήπια τυχόν υπόλοιπο υπερκείμενο που δεν μεταγγίστηκε.
8. Προσθέστε 800 µL προετοιμασμένου ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών και ανακαταναείμτε το ίζημα. Μεταφέρετε ολόκληρη την ποσότητα σε σωληνάριο μικροφυγόκεντρου.
9. Ακολουθήστε τη διαδικασία για δείγματα βρογχοπνευμονικής έκπλυσης από το βήμα 3.

## Χαρακτηριστικά απόδοσης και περιορισμοί

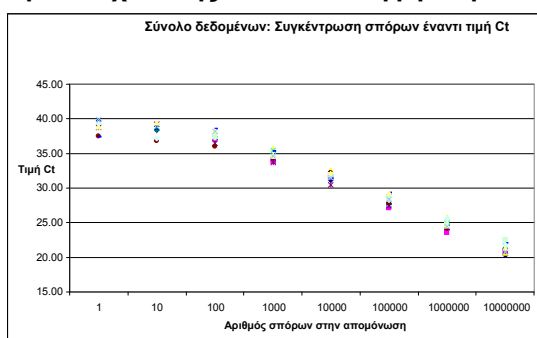
### Αναλυτική επιλεκτικότητα

Με χρήση του kit MycXtra®, DNA απομονώθηκε από κλινικά δείγματα βρογχοπνευμονικής έκπλυσης, πτυέλων και άλλα δείγματα των αναπνευστικών οδών, από τα οποία ταυτοποιήθηκαν με καλλιέργεια ή μικροσκοπία οι ακόλουθοι οργανισμοί: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium spp.* και *Pneumocystis jirovecii*. Το DNA ανιχνεύτηκε με χρήση του kit Myconostica FXG™ : RESP (Asp +) για ανίχνευση DNA από *Aspergillus* και *Pneumocystis* σε κλινικά δείγματα των αναπνευστικών οδών με Ταχεία PCR Πραγματικού χρόνου.

### Απομάκρυνση ουσιών παρεμβολής

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται συνήθως στη θεραπεία νοσημάτων των αναπνευστικών οδών π.χ. τοβραμυκίνη, θειική κολιστίνη, δορνάση (DNAση), σαλμετερόλη και άλλα υλικά π.χ. φυσιολογικός ορός (0,9%), ηπαρίνη και ταννικά οξέα μπορούν να αναστείλουν προσδιορισμούς PCR πραγματικού χρόνου. Αφαιρούνται ολοκληρωτικά κατά τη διαδικασία εκχύλισης MycXtra®. Σε μελέτες αξιολόγησης της απόδοσης με χρήση κλινικών δειγμάτων φάνηκε πως ορισμένοι, άγνωστοι, αναστολείς της PCR ανευρίσκονται σε δείγματα των αναπνευστικών οδών, και οι οποίοι δεν αφαιρούνται κατά τη διαδικασία εκχύλισης.

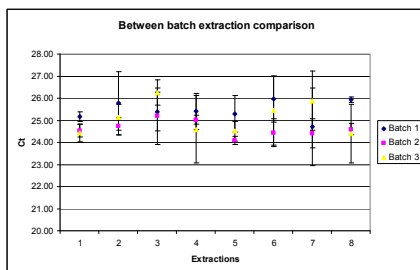
### Όρια ανίχνευσης και Επαναληψιμότητα



Το kit MycXtra® εκχύλισε DNA από δείγματα που περιείχαν έως και 10 μόλις σπόρους. Οι εκχυλίσεις από σπόρους του *Aspergillus fumigatus* σε αλατούχο διάλυμα εκτελέστηκαν από 2 χειριστές σε διάρκεια 5 ημερών. Το DNA ανιχνεύτηκε με χρήση του kit Myconostica FXG™ : RESP (Asp +), το όριο ανίχνευσης του οποίου είναι 1 περίπου γονιδίωμα του *A. fumigatus*. Τα αποτελέσματα φαίνονται στο Σχήμα 1. Ο συνολικός συντελεστής διακύμανσης υπολογίστηκε στα 2,4%. Η μέση αποτελεσματικότητα εκχύλισης καθορίστηκε στο 8%.

Σχήμα 1. Συγκέντρωση σπόρων *Aspergillus fumigatus* έναντι τιμής Ct της PCR Πραγματικού χρόνου

### Αναπαραγωγιμότητα



Εικοσιπένσσερις ξεχωριστές εκχυλίσεις εκτελέστηκαν με χρήση κάθε μίας από τρεις παρτίδες kit MycXtra® με χρήση τυπικού εναιωρήματος σπόρων *Aspergillus fumigatus*. Πραγματοποιήθηκε κατόπιν PCR πραγματικού χρόνου με χρήση του kit Myconostica FXG™ : RESP (Asp +), για τον καθορισμό μεταξύ των παρτίδων και εντός των παρτίδων για την εκχύλιση DNA του *Aspergillus fumigatus*. Τα αποτελέσματα φαίνονται στο Σχήμα 2.

Σχήμα 2. Διακύμανση μεταξύ παρτίδων και εντός παρτίδων

### Αξιολόγηση απόδοσης

#### Ανίχνευση ειδών *Aspergillus*

Δείγματα της αναπνευστικής οδού (BAL) που είχαν συλλεγεί από 2 νοσοκομεία, εκχυλίστηκαν με το kit MycXtra®, και αποθηκεύτηκαν, χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της απόδοσης του MycAssay™ *Aspergillus* με κλινικά δείγματα. Έγιναν συγκρίσεις ως προς την κλινική διάγνωση.

Η τιμή αποκοπής Ct 36,0 καθορίστηκε μετά από ανασκόπηση ομάδας δεδομένων δειγμάτων, προερχόμενων από διαφορετικές τοποθεσίες και διαφορετικούς πληθυσμούς ασθενών. Διαφορετικές αποκοπές αξιολογήθηκαν ως προς το ενδεχόμενο διαφοροποίησης μεταξύ νόσησης και μη-νόσησης.

#### PCR έναντι Κλινικής διάγνωσης

	Θετική κλ. διάγνωση	Αρνητική κλ. διάγνωση		
Θετική PCR	31	1	0.97	PPV
Αρνητική PCR	2	10	0.83	NPV
	0,94	0,91		
	Ευαισθησία	Ειδικότητα		

Από τα δείγματα που ελέγχθηκαν, το 0.8% περιείχε αναστολείς της PCR όπως αναφέρθηκε από το IAC, μετά από εκχύλιση με χρήση του kit MycXtra.

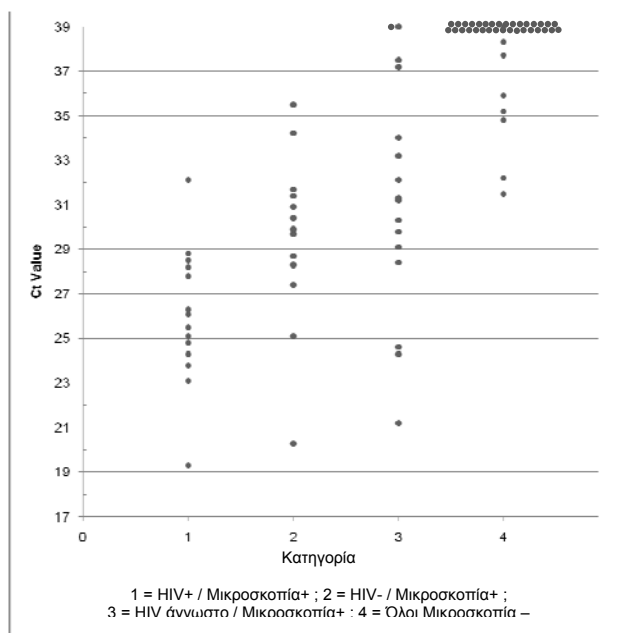
**Ανίχνευση *Pneumocystis jirovecii***

Κλινικά δείγματα βρογχοπνευμονικής έκπλυσης (BAL) που είχαν συλλεγεί από 2 νοσοκομεία, εκχυλίστηκαν με το kit MycXtra, και αποθηκεύτηκαν, χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της απόδοσης του MycAssay™ *Pneumocystis*. Έγιναν συγκρίσεις των αποτελεσμάτων της PCR με τη μικροσκοπική μέθοδο ανοσοφθορισμού.

**PCR έναντι Μικροσκοπικής διάγνωσης**

	Θετική μικροσκοπία	Αρνητική μικροσκοπία		
Θετική PCR	45	8	0.85	PPV
Αρνητική PCR	2	33	0.94	NPV
	0.96	0.80		
	Ευαισθησία	Ειδικότητα		

Στον πίνακα αναπαριστώνται δεδομένα προερχόμενα από ασθενείς με διαγνωσμένη προσβολή από HIV, ασθενείς που δεν έχουν προσβληθεί από HIV και ασθενείς για τους οποίους δεν είναι γνωστό εάν έχουν προσβληθεί από HIV. Οι ασθενείς με πνευμονία από *Pneumocystis* διαφέρουν σημαντικά ως προς τις ανιχνεύσιμες ποσότητες του οργανισμού. Όσο χαμηλότερη η τιμή Ct, τόσο υψηλότερη η πιθανότητα νόσου. Ασθενείς με HIV και πνευμονία από *Pneumocystis* τείνουν να έχουν υψηλότερους αριθμούς ανιχνεύσιμων οργανισμών από ασθενείς που δεν έχουν προσβληθεί από τον ιό, υπάρχει ωστόσο σημαντική αλληλοεπικάλυψη. Το διάγραμμα διασποράς στο Σχήμα 3 παρουσιάζει αυτήν την αλληλοεπικάλυψη. Για λόγους πληρότητας, λόγω του ότι η ομάδα δεδομένων του Πίνακα περιελάμβανε ασθενείς για τους οποίους δεν είναι γνωστό εάν έχουν προσβληθεί από HIV, το διάγραμμα διασποράς για αυτήν την ομάδα περιλαμβάνεται στο Σχήμα 3 (στήλη 3):



**Σχήμα 3:** Διάγραμμα διασποράς τιμών Ct ληφθέντων από DNA απομονωμένο από δείγματα της αναπνευστικής οδού ασθενών. Περιγράφονται τέσσερις ομάδες.



Myconostica Limited, South Court, Sharston Road, Sharston, Manchester,  
M22 4SN, Ηνωμένο Βασίλειο.  
Τηλέφωνο: +44 (0) 161 998 7239 Φαξ: +44 (0) 161 902 2496  
Email: mycotech@myconostica.co.uk

