

<b>Analyse af (1→3)-β-D-glucan i serum</b>	
<b>FUNGITELL® STAT</b>	
<b>Brugsanvisninger</b>	
 <b>ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED</b> 124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA	Telefon: (508) 540-3444 Gratis nummer: (888) 395-2221 Fax: (508) 540-8680 Teknisk support: (800) 848-3248 Kundeservice: (800) 525-8378
PN002603-da Rev002	  2020-03-11

 Gå til **www.accuia.com** for brugsanvisninger på dit sprog.

**TILSIGTET ANVENDELSE**

Fungitell® STAT analysen er en protease-zymogen-baseret kolorimetrisk analyse for en kvalitativ detektering af (1 → 3) -p-D-glucan i serum hos patienter med symptomer på, eller som har medicinske tilstande, der prædisponerer patienten for en invasiv svampeinfektion. Serumkoncentrationen af (1→3)-β-D-glucan, en vigtig cellevægkomponent i forskellige vigtige, medicinske svamp\*, kan anvendes som hjælp i forbindelse med diagnose af dybtliggende mycoser og svamp\*. Et positivt resultat indikerer ikke hvilken svampeart, der forårsager infektionen.

(1→3)-β-D-glucan indekxsværdierne bør anvendes i samarbejde med andre diagnosteceringsprocedurer, såsom mikrobiologisk kultur, historisk undersøgelse af biopsiprøver og radiologiske undersøgelser.

**OVERSIGT OG FORKLARING**

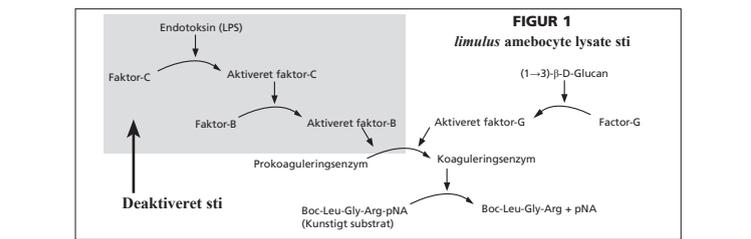
Der er en stigende forekomst af svampeinfektioner fra opportunistiske patogener, isæt hos patienter med nedsat immunforsvar<sup>4,5</sup>. Invasive svampesygdomme, såsom opportunistiske infektioner, er almindelige blandt hæmatologisk malignitet og AIDS-patienter, og tegner sig for et voksende antal nosokomiale infektioner, især blandt organtransplantatmodtagere, og andre patienter der modtager immunsuppressive behandlinger<sup>7</sup>. Mange svampesygdomme opstår ved at indånde svampesporer fra jorden, plante detritus, luftventilationssystemer og/eller udsatte overflader. Visse opportunistiske svampe kan findes i/på den menneskelige hud, tarmkanalen, og slimhinderne<sup>8</sup>. Diagnostisering af invasive mycoser og svampe er normalt baseret på ikke-specifikke diagnoser eller radiologiske teknikker. For nyligt er biologiske markører for svampeinfektioner blevet tilføjet til de tilgængelige diagnosticeringsmetoder<sup>9</sup>.

Opportunistiske patogener inkluderer *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum*, og *Pneumocystis jirovecii*. (1→3)-β-D-glucan som produceres af disse organismer, og andre, kan detekteres med Fungitell® STAT analysen<sup>9,10,11</sup>.

**PRINCIPPET BAG PROCEDUREN**

Fungitell® STAT analysen er en designændring til Fungitell® analyseformatet. Fungitell® STAT analysen blev udviklet for at imødese behovet for et engangstestformat, og mindre sætstørrelser, i forhold til 96-pladeformatet for Fungitell® analysen.

Fungitell® STAT analysen giver en kvalitativ måling af (1→3)-β-D-glucan. Analysen er baseret på en ændring af Limulus ameobocytlysat (LAL) stien<sup>12,13,14,5</sup>. **Figur 1**. Fungitell® STAT reagens er modificeret til at eliminere bakteriel endotoksinreaktivitet, og dermed kun reagere på (1→3)-β-D-glucan, gennem faktor G siden af stien. (1→3)-β-D-glucan aktiverer faktor G, som er et serinprotease zymogen. Den aktive faktor G omdanner det inaktive pro-koagulationsenzym, til det aktive koagulationsenzym, som derefter spalter para-nitroanilid Boc-Leu-Gly-Arg-pNA og skaber en kromofor, para-nitroanilin (pNA), der absorberes ved 405 nm. Fungitell® STAT kinetiske analyse, som beskrevet nedenfor, er baseret på bestemmelsen af hastigheden, hvorved den optiske densitet øges fra en prøve. Denne hastighed sammenlignes med hastigheden af en stigning af den optiske densitet i Fungitell® STAT standard, for at levere et indeks. Denne indekxsværdi fra patientprøver bliver kvalitativt vurderet som et negativt, ubestemt eller positivt resultat, i henhold til indekxsværdiintervalerne, som er angivet i **tabel 1** nedenfor.



Resultat	Indekxsværdi
Negativ	≤ 0,74
Ubestemt	0,75 - 1,1
Positiv	≥ 1,2

**MATERIALER DER LEVERES MED FUNGITELL® STAT PRODUKTET**

Fungitell® STAT produktet er til *in vitro* diagnosticeringsbrug. De følgende materialer som leveres med hvert produkt, er tilstrækkelig til i alt 10 reaktioner (baseret på 10 hætteglas med Fungitell® STAT reagens). Hvert produkt indeholder også 5 Fungitell® STAT standard hætteglas, og kan dermed understøtte op til 5 korsler, når 1 Fungitell® STAT standard hætteglas, og 1 patientprøve testes pr. korsel. Som et alternativ, kan et enkelt Fungitell® STAT standard hætteglas køres med op til 9 patientprøver.

- Fungitell® STAT reagens, en lyofiliseret (1→3)-β-D-glucan specifik LAL (10 hætteglas)
*Fungitell® STAT reagens er uden forstyrrende niveauer af (1→3)-β-D-glucan.*
- Fungitell® STAT standard (5 hætteglas), med batch nr. specifik genfortyndingsvolumen på emballagen
- Brugsanvisninger
- Hurtig visuel vejledning

**PÅKRÆVEDE MATERIALER SOM IKKE MEDFØLGER**

Alle materialer skal være fri for forstyrrende glucan. Alle glasartikler skal være tørvarmet depyrogeneret i mindst 7 timer, ved minimum 235°C (eller godkendt tilsvarende), for at være velegnet til brug.

- LAL reagensvand\* (5,5 mL hætteglas, katalog nr. W0051-10)
- Alkaline forbehandlingsløsning 0,125 M KOH og 0,6 M KCl \* (2,5 mL hætteglas, katalog nr. APS51- 5)
- Pipetter som kan levere 20-200 µL og 100-1000 µL volumen
- Pipettespidser\* (250 µL katalog nr. PPT25 og 1000 µL katalog nr. PPT10)
- Lange pipettespidser\* (20-200 µL, katalog nr. TPT50)
- Testror\* til forberedelse af patientprøver, og blanding af serumets forbehandlingsløsning. (12 x 75 mm, katalog nr. TB240-5)
- Ror aflæser og kinetisk analysesoftware

- Et automatiseret kinetisk laboratorie inkuberingsror aflæser med 8 rum (PKF08 instrument) og Beta Glucan analyse(BG Analytics™) software leveret af partnere hos Cape Cod, Inc. (ACC) katalog nr. PKF08-PKG\*\* **eller**
  - Inkuberingsror aflæser (37°C) der kan læse ved 405 nm og 495 nm, med et interval på mindst 0 - 1,0 absorptionsenheder, og som kan anvendes med hætteglas med en diameter på 12 mm. Endvidere skal det være forbundet med relevant computerbaseret kinetisk analysesoftware, der kan observere og analysere de kinetiske reaktioner, samt understøtte gennemsyn af de kriterier der er angivet i IFU kvalitetskontrolsektionen.

- Sterile, glucan-fri opbevaringsrør med skruehætter til indsamling af prøver (de fleste rør der er certificeret til at være RNase, DNase, og pyrogenfri, er uden forstyrrende niveauer af (1→3)-β-D-glucan).

- Parafilm®

*\*Disse produkter, som leveres af partnere til Cape Cod, Inc. (ACC), er certificeret til at være fri for forstyrrende glucan.*

*\*\*Papirkopier af både BG Analytics™ softwaren og PKF08 instrument brugervejledningerne kan downloades fra ACC hjemmesiden: www.accuia.com.*

**Bemærk** - glaspipetter med bomuldspropper og mikropipettespidser med cellulose filtre, er mulige kilder til glucan kontaminering.

**ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER**

*Dette produkt er til IN VITRO DIAGNOSTICERINGSBRUG.*

*Fungitell® STAT analysen kræver en omhyggelig opmærksomhed mht. teknik og testmiljø. En omhyggelig træning af teknikerne i analysemetoden, og undgåelse af kontaminering, er kritisk for analysens effektivitet.*

- Visse svampearter producerer meget lave niveauer af (1→3)-β-D-glucan, og vil normalt ikke kunne detekteres med Fungitell® STAT analysen. Disse inkluderer arten Cryptococcus<sup>16,17</sup> samt Mucorales, såsom absidia, slim og rhizopus<sup>17</sup>, derudover kan blastomyces dermatidis, i dens gerform, producere lave niveauer af (1→3)-β-D-glucan, og vil derfor normalt ikke blive detekteret med Fungitell® STAT reagens<sup>9</sup>.
- Udtag ikke materiale fra munden med en pipette. Du må ikke ryge, spise eller drikke i områder hvor prøver eller reagenssæt håndteres. Følg alle virksomhedens, samt lokale, sikkerhedsreguleringer.

- Øpret et rent miljø, hvor analysen kan udføres. Anvend materialer og reagens der er certificeret til at være fri for detekterbare baggrunds niveauer af (1→3)-β-D-glucan. Bemærk, at glucan, samt svampekontaminering fra menneskekroppen, beklædning, beholdere, vand og luftbåren støv kan skabe forstyrrelser i Fungitell® STAT analysen. Cellulose materialer, såsom gazebind, papirservietter, og pap kan bidrage med (1→3)-β-D-glucan i miljøet, hvor analysen udføres.
- Anvend ikke materialer der har overskredet deres udløbsdato.

- Prøver med forkert farve, eller uklare prøver såsom dem der er groft hæmolyseret, lipemiske eller indeholder overdreven bilirubin, kan forårsage optisk interferens med analysen. Hvis sådanne prøver testes, bør testresultaterne undersøges for bevis på optisk interferens, og/eller usædvanlige kinetiske mønstre.
- Anvend passende beskyttelsesbeklædning og pulverfrie handsker, når du håndterer patientprøver.

- Serum fra hæmodialysepatienter kan indeholde høje niveauer af (1→3)-β-D-glucan, når visse cellulosedialysemembraner anvendes<sup>19,20,38</sup>. Hæmodialyse med cellulosetriacetat, polysulfonmembran eller polymethylmethacrylatmembraner vil ikke skabe interferens med analysen.
- Kirurgiske gazebind og svampe kan nå høje niveauer af (1→3)-β-D-glucan, som kan bidrage til et etableringskontoernes, overført positivt resultat for Fungitell® analysen, hvilket er blevet set i patienter efter deres operation<sup>21,22</sup>.

- Blodfraktioneringsprodukter såsom intravenos immunoglobulin og albumin, kan også indeholder mængder af (1→3)-β-D-glucan, som hvis de injekteres eller tilføres, vil øge serum (1→3)-β-D-glucan koncentrationen for et vist antal dage<sup>21</sup>.

- Produkter med beskadiget indhold bør ikke anvendes.

- Materialer der er udsat for mulige kontaminerede (der indeholder patogener) væsker, skal bortskaffes i overensstemmelse med lokale reguleringer.

**REAGENS OPBEVARING**

Opbevar al reagens der leveres, ved 2-8°C og i mørke. Fungitell® STAT reagens, og Fungitell® STAT standard, bør anvendes inden for 1 time efter genfortynding.

**PRØVEHÅNTERING**

- Indsamling af prøve: Blodprøver kan indsamles i sterile serumforberedelsesor, eller serumadskillelsesor (SST), til forberedelse af serum.

- Opbevaring af prøver: Serumprøver kan opbevares midlertidigt ved 2-8°C for analysen, eller frosset ved -20°C eller koldere for længere opbevaringstid.

- Prøvemærkning: Prøver skal tydeligt mærkes i henhold til institutionens godkendte praksisser.

**PROCEDURE**

En hurtig visuel vejledning med en oversigt over det automatiserede PKF08 instrument og BG Analytics™ softwareprocedure, er også inkluderet i Fungitell® STAT produktpakken.

Et antal af de trin der er beskrevet i nedenstående procedure, er automatiseret når man anvender PKF08 instrumentet og BG Analytics™ softwaren, og inkluderer: Opsætning af instrument, kvalitetskontrol og tydning af resultater. Se venligst BG Analytics™ softwarens brugervejledning, eller kontakt producenten for yderligere oplysninger.

***Bemærk:***

- Anvend gode laboratoriepraksisser i henhold til dine lokale reguleringer. Denne analyse er følsom overfor kontaminering og pipette unøjagtighed.*

- Det anbefales, at udføre trin 3-5 og 7 i et biologisk sikkerhedskabinet, for at øge teknikerens sikkerhed mens der arbejdes med patientprøver, og for at reducere muligheden for kontaminering af miljømæssig (1→3)-β-D-glucan under proceduren.*

- For at reducere unødvendige bevægelser af glassætterne ind og ud af det biologiske sikkerhedskabinet, anbefales det, at bringe vortex-enheden ind i det biologiske sikkerhedskabinet (så længe den kritiske luftgennemstrømning bevares).*

- Det anbefales, at anvende lange pipettespidser for at hjælpe med at forhindre krydskontaminering mellem hætteglassene.*

- En Fungitell® STAT standard (rød hætte og rød linjemærkat) bør altid behandles under de samme betingelser, og på det samme tidspunkt som patientprøve(r)ne, i en kørsel. Dette er kritisk, eftersom resultatet af analysen er et indeks (prøve/standard) af de kinetiske reaktionshastigheder (eller hældninger, OD/sek.) fra patientprøven, og Fungitell® STAT standard.*

- Det anbefales, at anvende 2 rørstativer under proceduren, en til hætteglas til prøveforberedelse (trin 4-6), og en til reagenshætteglassene (trin 7-8). Dette vil hjælpe med at forhindre muligheden for en blanding af hætteglassene, og dermed krydskontaminering under proceduren.*

- Det anbefales, at placere Fungitell® STAT standard ved en defineret og konstant placering i rørstativ, inkubator og aflæser. Når du anvender PKF08 instrumentet og BG Analytics™ softwaren, skal du bruge første rum på venstre side, som er mærket “Standard”.*

- Ved slutningen af hver blandetrin, skal du visuelt bekræfte, at løsningen er blandet homogen.*

- Du må ikke overløbe Fungitell® STAT reagens. En maksimal indstilling på 2.000 o/min anbefales for enhver vortex-enhed. Du må ikke spinde i mere end 5 sekunder.*

- Indstilling af instrument**

Indstillingerne kan variere ved forskellige instrumenter og software. Generelt bør de følgende betingelser overholdes: instrumentet bør kunne opnå og holde en temperatur på 37°C±1°C. Instrumentet og softwaren skal være i stand til at læse optisk densitet (kinetisk) ved to bølgelængder. Specifikt bør disse bølgelængder være indstillet til 405 nm og 495 nm. Indstil kinetisk tilstand til en læsningsperiode på 40 minutter (2400 sekunder). Indstil den kinetiske læseinterval til minimalt tilladt af software/instrument i en 40 minutters periode af testen, og for at initialisere aflæsning ved indsættelse af prøven. Kontroller softwarevejledningen for at bestemme hvordan du beregner en hastighedsmåling (hældning) fra datasættet. I forbindelse med denne test, opnås dette generelt ved at udføre en lineær regression på de kinetiske data, i den anbefalede tidsperiode. Indstil lineær regressionsberegning til udførelse i intervallet mellem 1900 og 2400 sekunder, med "snitte" funktionen i softwaren. Aflæsning bør starte uden forsinkelse.

- Bekræft Fungitell® STAT standard batch nr. specifikke oplysninger**

- Batch nr. med specifik genfortyndings- og forbehandlingsløsningsvolumen kan findes på Fungitell® STAT standard emballagemærketat, på Fungitell® STAT produktets Analysecertifikat, og er også tilgængelig på ACC hjemmesiden. Disse oplysninger er påkrævede for at gennemføre trin 5 nedenfor.
- Det anbefales at være opmærksom på de specifikke batch nr. oplysninger i den hurtige visuelle vejledning, som medfølger med Fungitell® STAT produktet, før man starter proceduren.

***Bemærk:** Hvert produkt (Fungitell® STAT standard og Fungitell® STAT reagenspar) er testet og frigivet uafhængigt. Derfor er det vigtigt at man er opmærksom på, og anvender de batch nr. specifikke oplysninger for hvert par.*

- Mærkatrør**

- Marker et tomt rør for hver patientprøve der skal testes.
- Marker et Fungitell® STAT reagensrør for hver patientprøve der skal testes.
- Marker et Fungitell® STAT reagensrør for Fungitell® STAT standard.

**4. Forbered patientprøverene**

- Spin patientprøverne i mindst 20 sekunder, for at sikre homogenitet.
***Bemærk:** Fryseprocessen kan producere prøveheterogenitet pga. vandabstraktion til de voksende iskrystaller, hvormed opløsninger udledes.*
- Patientprøven og alkaline forbehandlingsløsningen tilføjes til det relevante mærkede rør, i et forhold på 1:4. De anbefalede volumen er 50 µl patientprøve og 200 µl alkaline forbehandlingsløsning.
***Bemærk:** Alkaline forbehandlingsløsningen omdanner tredobelt helix-glucan til enkeltstrengt glucan<sup>14,15</sup> som reagerer bedre i analysen. Derudover bruges alkaline pH til at deaktivere serum proteaser og hæmmere, der kan påvirke analysen<sup>14</sup>.*
- Spind i 15 sekunder og dæk til.

**5. Forbered Fungitell® STAT standard røret**

- Genfortynd et hætteglas af Fungitell® STAT standard med batch nr. specifikke volumen af LAL reagensvand og spind i 15 sekunder.
- Tilføj batch nr. specifik volumen af alkaline forbehandlingsløsning.
***Bemærk:** Batch nr. med specifik genfortyndings- og forbehandlingsløsningsvolumen er angivet på Fungitell® STAT standard emballagemærketat, på Fungitell® STAT produktets Analysecertifikat, og er også tilgængelig på ACC hjemmesiden.*
- Spind i 15 sekunder og dæk til.

**6. Forbehandlinginkubering i røraflæser**

Inkuber patientprøverene (fra trin 4) og Fungitell® STAT standard hætteglasset (fra trin 5) i 10 minutter ved 37°C.

**7. Forbered Fungitell® STAT reagensrørene**

- Genfortynd hver af Fungitell® STAT reagens hætteglassene (mærket i trin 3 ovenfor) med 300 µl LAL reagensvand.
- Spind forsigtigt i **maksimalt** 5 sekunder.
***Bemærk:** Fungitell® STAT reagens indeholder et antal aktive proteiner som er påkrævet for analysen, og det anbefales, at opløsningen håndteres forsigtigt. En maksimal indstilling på 2.000 o/min anbefales for enhver vortex-enhed. Du må ikke overløbe.*
- Ved slutningen af forinkuberingsbehandlingen:
  - Overfør 75 µl af hver patientprøveløsning til dets relaterede Fungitell® STAT reagensrør.
  - Overfør 75 µl af Fungitell® STAT standard til dets relaterede Fungitell® STAT reagensrør.
  - Spind alle rør i **maksimalt** 5 sekunder, og dæk til.

**8. Start kørslen**

- Indsæt rørene i røraflæseren samtidig med det bekræftes, at hver enkelt er i det tilsigtede rum.
- Start den kinetiske aflæsning i en periode på 40 minutter, ved 37°C.

**9. Gennemse kvalitetskontrolkriterierne**

*Se kvalitetskontrolsektionen nedenfor og figur 2.*

**10. Fortolkning af resultaterne**

*Se sektionen Fortolkning af resultaterne nedenfor og figur 3.*

**PROCEDUREAFSLUTNING OG BORTSKAFFELSE AF HÆTTEGLAS**

- Det anbefales, at bortskaffe den åbne alkaline forbehandlingsløsning og hætteglassene med LAL reagensvand, i overensstemmelse med procedurerne i dit laboratorium. Anvend ikke disse materialer i mere end en kørsel, for at undgå en mulig kontaminering.

- Som en del af produktfremstillingen, er Fungitell® STAT reagens og Fungitell® STAT standard frigivet som et parret batch nr. og pga. dette, bør Fungitell® STAT reagens og Fungitell® STAT standard komponenter fra forskellige produktbatch ikke anvendes. Derfor, når alle Fungitell® STAT reagens hætteglas er blevet brugt i en pakke, anbefales det, at kassere de resterende hætteglas, hvis der er nogen, af Fungitell® STAT standard.

**KVALITETSKONTROL**

- For alle kildenumre**, skal Fungitell® STAT standard eller provenummer tildeling bekræftes

- For Fungitell® STAT standard resultat**,
  - skal korrelationskoefficient (r) være ≥ 0,980 og
  - hældningen skal være inden for den forventede hældningsinterval på 0,00010 - 0,00024 OD/sekund. *Hvis Fungitell® STAT standard resultatet ikke overholder kriterie nr. 1 og nr. 2, er kørslen ugyldig, og alle prøver skal køres igen.*

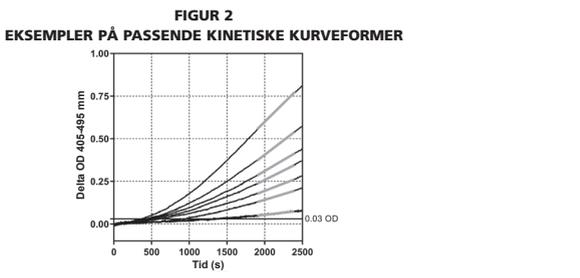
- For alle patientprøvesultater:**
  - A. Bestem om resultatet er uden for analysens indekxinterval**
    - Resultatet er sandsynligvis uden for intervallet på den positive side, hvis:
      - Y intercept er positiv og
      - Den kinetiske kurve overstiger 0,4 OD inden 1000 sekunder.
    - Resultatet er sandsynligvis uden for intervallet på den negative side, hvis:
      - Den kinetiske kurve er positiv efter 500 sekunder og
      - Har en OD >0,03 og <0,07 ved slutningen af testen.

*Hvis prøvesultatet overholde begge kriterier for enten det positive eller negative uden for interval, skal det generelle kvalitetskontrolkriterie nedenfor ikke gennemføres, og indekxsværdien bør **ikke** beregnes. Alle uden for interval resultater på den positive side, bør rapporteres som "Positive", og alle uden for interval resultater på den negative side, bør rapporteres som "Negative".*

**B. Hvis resultatet ikke overholder uden for interval kriteriet, skal du bekræfte den generelle kvalitetskontrol:**

- Den kinetiske kurve skal være positiv efter 500 sekunder,
- den kinetiske kurve skal have en OD ≥ 0,03 ved slutningen af testen,
- hældningen skal være numerisk positiv,
- korrelationskoefficienten (r) skal være ≥ 0,980 og
- den kinetiske kurve skal have en opadgående, stigende kurve, der er konsistent med eksemplerne vist i **figur 2**.

*Hvis prøveresultatet ikke overholder alle de generelle kvalitetskontrolkriterier fra 1-5, er prøveresultatet ugyldigt, og prøven skal testes igen. Som et alternativ, bør der anvendes en anden metode.*



Kontrolprøver (negative, nær analysens grænser, eller ved meget positive niveauer) kan køres for at bekræfte, at reagens og analyseme udføres korrekt. Hver bruger af testen bør oprette et kvalitetskontrolprogram for at sikre pålidelighed i udførelsen af testen, i overensstemmelse med de reguleringer der er gældende for deres location.

**FORTOLKNING AF RESULTATERNE**

Fungitell® STAT testresultaterne bør anvendes som hjælp i forbindelse med diagnosticering af invasive svampeinfektioner. Patientprøven og Fungitell® STAT standard hastighederne er afledt ved at beregne hældningen (hastigheden) mellem 1900 og 2400 fra delta OD 405 - 495 nm resultaterne. Fungitell® STAT indeksresultaterne er afledt ved at dividere hastigheden (hældningen) af patientprøven med hastigheden (hældningen) af Fungitell® STAT standard (*se figur 3*). Indeksresultaterne varierer fra omkring 0,4 til 3,5, hvilket dækker den fulde standardkurve (31 - 500 pg/mL) af Fungitell® forudsigelsen.

Fungitell® STAT indeksværdierne bør fortolkes som angivet nedenfor:

**NEGATIV RESULTAT**

Indeksværdier ≤ 0,74 fortolkes som negative resultater.

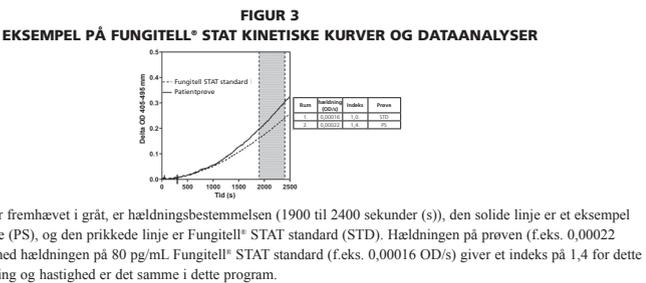
**UBESTEMT RESULTAT**

Indeksværdier fra 0,75 til 1,1 foreslår en mulig svampeinfektion. Yderligere prøvetagning og testning af serum anbefales. Jævnlig prøvetagning og testning forbedrer nytteværdien til diagnosticering.

**POSITIVT RESULTAT**

Indeksværdier ≥ 1,2 fortolkes som et positivt resultat. Et positivt resultat betyder, at der blev registreret (1→3)-β-D-glucan. Et positivt resultat fastlægger ikke tilstedeværelsen af sygdom, og bør anvendes i forbindelse med andre kliniske resultater, for at etablere en diagnose.

Det laboratorie der udfører testen bør informere den læge der bestilte testen om, at ikke alle svampeinfektioner resulterer i stigende niveauer af serum (1→3)-β-D-glucan. Visse svampe, såsom arten *Cryptococcus*<sup>16,17</sup> producerer meget lave niveauer af (1→3)-β-D-glucan. *Mucorales*, såsom *absidia*, *slim* og *rhizopus*<sup>17</sup> er ikke kendt for at producere (1→3)-β-D-glucan. Det samme er gældende for *blastomyces dermatitidis*, i dets gærfase, hvor det producerer meget lidt (1→3)-β-D-glucan, og blastomycosis patienter har normalt udetekterbare niveauer af (1→3)-β-D-glucan i Fungitell® STAT analysen<sup>18</sup>.



Det område der er fremhævet i gråt, er hældningsbestemmelsen (1900 til 2400 sekunder (s)), den solide linje er et eksempel

en patientprøve (PS), og den prikkede linje er Fungitell® STAT standard (STD). Hældningen på prøven (f.eks. 0,00022 OD/s) divideret med hældningen på 80 pg/mL Fungitell® STAT standard (f.eks. 0,00016 OD/s) giver et indeks på 1,4 for dette eksempel. Hældning og hastighed er det samme i dette program.

**BEGRÆNSNINGER I TESTEN**

1.Vævsplaceringen af svampeinfektionen<sup>9</sup>, indkapsling, og mængden af (1→3)-β-D-glucan som produceres af visse svampe, kan påvirke serumkoncentrationen af denne analyse. En reduceret mulighed for at bidrage med (1→3)-β-D-glucan til blodstrømmen, kan reducere muligheden for at detektere visse svampeinfektioner. *Cryptococcus spp.* producerer lave niveauer af (1→3)-β-D-glucan<sup>16,17</sup>. *Mucorales*, inklusive *absidia spp.*, *slim spp.* og *rhizopus spp.* er ikke kendt for at producere (1→3)-β-D-glucan<sup>17</sup>*Blastomyces dermatitidis* producerer meget lidt (1→3)-β-D-glucan i dets gærfase, og testresultaterne er normalt negative<sup>18</sup>. Disse oplysninger bør videresendes til den læge der anmoder om testen.

2.Visse individer har (1→3)-β-D-glucan indeksværdier der ligger i det ubestemte område. I sådanne tilfælde anbefales det, at yderligere testning udføres.

3.Frekvensen af patienttestning vil afhænge af den relative risiko for en svampeinfektion. Prøver mindst to til tre gange om ugen, anbefales for patienter med høje risici.

4.Positve resultater er fundet i hæmodialysepatienter<sup>19,20</sup>, personer behandlet med visse fraktionerede blodprodukter såsom serumalbumin og immunoglobuliner og i prøver, eller personer, som har været udsat for gazebind og kirurgiske svampe der indeholder glucan. Patienterne skal bruge 3-4 dage for at gendanne basisniveauerne af serum (1→3)-β-D-glucan, efter kirurgisk udsættelse af (1→3)-β-D-glucan fra svampe og gazebind<sup>21,22</sup>. Dermed skal dette tages i betragtning, når testning udføres på kirurgiske patienter.

5.Prøver der indsamles ved at stikke i hælen eller fingeren kan ikke accepteres, eftersom gazebindet der er gennemvædet med alkohol, og som bruges til at forberede teststedet (og muligvis hudoverfladens samling af blod), har vist sig at kontaminere prøverne. Studier til dato har ikke fremvist forskelle mellem prøver der er indsamlet ved linjetegning eller venipunktur<sup>23,26</sup>.

6.Testniveauerne er etableret via voksne forsøgspersoner. Normale og grænse niveauer for baby og pædiatrisk er ved at blive undersøgt<sup>27,28</sup>.

**FORSTYRENDE MIDLER**

De følgende prøvebetingelser kan forhindre et nøjagtigt Fungitell® STAT analyseresultat:

- Hæmolyse
- Uklar prøve forårsaget af lipæmi
- Tilstedeværelsen af visuelt synligt bilirubin
- Uklar serum
- Forhøjede niveauer af immunoglobulin G, hvilket kan findes i serum pga. for mange melanomer, kan resultere i bundfald i reaktionsblandingen ved tilføjelse af Fungitell® STAT til det forbehandlede serum<sup>29</sup>.

**FORVENTEDE VÆRDIER**

Et prospektivt studie udført på flere centre, blev udført for at bestemme præstationsegenskaberne af Fungitell (forudsigende) analyse, og studiet viste, at β-glucan værdierne øges i forskellige svampeinfektioner. Når tegn og symptomer er til stede ved et niveau på 80 pg/mL eller mere, ligger den forudbestemte værdi for at personen er positiv, og dermed har en svampeinfektion, fra 74,4 til 91,7%. I mangel af tegn og symptomer ved et niveau mindre end 60 pg/mL, ligger den forudbestemte værdi for at personen er negativ, fra 65,1 % til 85,1 %.

Fungitell® STAT β-glucan indeksværdier ≥ 1,2 fortolkes som et positivt resultat, i overensstemmelse med Fungitell® angivende produkt 80 pg/mL grænse, mens indeksværdier ≤ 0, 74 fortolkes som et negativt resultat, i overensstemmelse med Fungitell® angivende produkt 60 pg/mL grænse.

**PRÆSTATION KENDETEGN**

**METODE FOR SAMMENLIGNINGSTESTNING**

Uidentificerbar frossen patientserumprøver, som blev indsamlet ved et rutinemæssigt studie af den forventede befolkning, og modtaget af Beacon Diagnostics® Laboratory, Inc for Fungitell® angivende testning, blev brugt i forbindelse med studiet for metodesammenligning. Beacon Diagnostics® Laboratory, Inc er et licenseret Klinisk laboratorie for forbedringstilrettelser (CLIA) og er som laboratorie en del af ACC. En gruppe af 488 anonyme patientserumprøver blev inkluderet i studiet med (1→3)-β-D-glucan koncentrationer, som blev fordelt over det fulde interval af Fungitell® angivende standardkurve. Disse inkluderede 309 prøver der endte i det negative område af Fungitell® angivende testresultater, 143 prøver endte i det positive område af Fungitell® angivende, og 36 prøver endte i det ubestemte område af Fungitell® angivende ( **Tabel 2** ). Alle prøver blev testet med både Fungitell® STAT og Fungitell® analyser i dette studie. Når prøver der endte i det ubestemte område af Fungitell® STAT blev ekskluderet fra analysen, var der 290 resterende prøver i den negative procentdel analyse, og 119 resterende prøver i den positive procentdel analyse

		<b>TABEL 2</b>			
		<b>FUNGITELL® STAT PRÆSTATION SAMMENLIGNET MED FUNGITELL®</b>			
		<b>Fungitell® angivende</b>			
		Negativ	Ubestemt	Positiv	Samlet
<b>Fungitell® STAT</b>	Negativ	283	17	1.	301 (61,7 <span> </span> %)
	Ubestemt	19	17	24	60 (12,3 <span> </span> %)
	Positiv	7.	2.	118	127 (26,0 <span> </span> %)
	Samlet	309 (63,3 <span> </span> %)	36 (7,4 <span> </span> %)	143 (29,3 <span> </span> %)	488 (100 <span> </span> %)
		<b>NPA:</b> 97,6 <span> </span> %* (283/290) 95 <span> </span> % CI: (95,4, 99,9)		<b>PPA:</b> 99,2 <span> </span> %* (118/119) 95 <span> </span> % CI: (95,4, 99,9)	

*\*Ubestemte (dvs. tvetydige) resultater er ikke inkluderet i analysen. Hvis alle ubestemte resultater ses som værende uharmoniske resultater (f.eks. falske positive eller falske negative), er præstationen følgende: PPA - 73,8 % (118/160), 95 % CI: (66,4 %, 80,0 %); NPA - 91,0 % (283/311), 95 % CI: (87,3 %, 93,7 %)*

**NEGATIV PROCENTENIGHED**

Tohundredeotroffgrs (283) af de 290 prøver der var negative, da de blev testet med Fungitell® angivende enhed, var også negative med Fungitell® STAT analysen. Den beregnede negative procentenighed (NPA) med den angivende metode var 97,6 % (95 % tillidsinterval: 95,4 %, 99,9 %) ( **Tabel 2** )

**POSITIV PROCENTENIGHED**

Ethundredeogatten (118) af de 119 prøver der var positive, da de blev testet med Fungitell® angivende enhed, var også positive med Fungitell® STAT analysen. Den beregnede positive procentenighed (PPA) med Fungitell® angivende metode var 99,2 % (95 % tillidsinterval: 95,4 %, 99,9 %) ( **Tabel 2** ).

**REPRODUCERBARHED STUDIE**

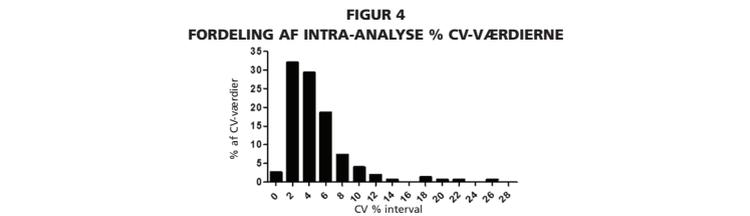
Fungitell® STAT blev evalueret for reproducerbarhed ved at tilsette menneskeserum med saccharomyces cerevisiae (1→3)-β-D-glucan for et producere et panel af fem elementer, bestående af en lav negativ prøve, en høj negativ prøve (lige under den nederste grænse på 0,74), ubestemt (vetydigt) prøve, lav positiv prøve (lige over den øverste grænse på 1,2), og en høj positiv prøve (~2x over den øverste grænse på 1,2). Panelet blev sendt til tre CLIA laboratorier for testning med Fungitell® STAT analyse. Hvert laboratorie leverede 150 datapunkter (f.eks. 5 prøver x triplikat pr. kørsel x to teknikere der udførte en kørsel pr. dag x 5 dage), for samlet 450 datapunkter. Studiets indeksværdier præsenteret i  **Tabel 3** forneden, er afledt af data fra disse tre laboratorier. Den positive procentkolonne repræsenterer procentdelen af prøver for et bestemt panelmedlem der ligger i det positiie område. Blandt alle tre laboratorier, var de procentvise positive resultater 1,1 % for den

lave negative prøve, 0 % for den høje negative prøve, 3,3 % for den ubestemte prøve, 96,7 % for den lave positive prøve, og 100 % for den høje positive prøve.

		<b>TABEL 3</b>		
		<b>REPRODUCERBARHED STUDIERESULTATER</b>		
<b>Panelmedlem</b>	<b>Resultatindeks</b>	<b>Standard afvigelse</b>	<b>% CV</b>	<b>Positiv procentdel (Nummer pos./Nummer testet)</b>
Lav negativ	0,55	0,10	20,4 <span> </span> %	1,1 <span> </span> % (1/90)
Høj negativ	0,75	0,08	11,1 <span> </span> %	0 <span> </span> % (0/90)
Ubestemt	0,94	0,10	11,1 <span> </span> %	3,3 <span> </span> % (3/90)
Lav positiv	1,6	0,30	18,7 <span> </span> %	96,7 <span> </span> % (87/90)
Høj positiv	2,6	0,40	15,4 <span> </span> %	100 <span> </span> % (90/90)

**PRÆCISION**

Intra-analyse variationen (dvs. %CV) lå i intervallet fra 0,4 % til 26,8 %, og inter-analyse værdierne lå i intervallet fra 11 til 20,4 %. Angående intra-analyse variationsintervallet, så er fordelingen af % CV-intervallet præsenteret nedenfor i  **figur 4**. Overordnet set, var 94 % af CV-værdierne 10 % eller mindre, og 75 % af CV-værdierne var 6 % eller mindre.



**META-ANALYSE**

Derudover har flere peer-vurderede studier blevet offentliggjort inden for serum (1→3)-β-D-glucan-baseret support for invasive svampesygdom diagnoser, inklusive meta-analyser af diagnosticeringspræstationer<sup>30,31,32,33,34,35,36,37</sup>.

**SYMBOLFORKLARING**

	“Anvendes inden”		“Temperaturbegrænsning”
	“Indeholder tilstrækkeligt til 'N' test”		“Producent”
	“Batchkode”		“Se brugsanvisninger”
	“In-vitro diagnostisk medicinsk enhed”		“Autoriseret repræsentant”
	“Katalognummer”		“CE-mærkning”

Xonly “Kun for receptpligtig anvendelse”

	<b>ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED</b>	Telefon: (508) 540-3444 Gratis nummer: (888) 395-2221 Fax: (508) 540-8680 Teknisk support: (800) 848-3248 Kundeservice: (800) 525-8378
	Partnere til Cape Cod Europe GmbH, Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Germany	

UK repræsentanter: Partnere til Cape Cod, Int'l., Inc, Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool, L33 7RX, UK  
Australiske sponsorer: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park, 201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australia

Referencer

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-gluan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
- De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
- Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.
- Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H. Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
- Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
- Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
- Lass-Flori, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M. and Anaisie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.

10. Litvinitseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgurich, D.E., Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.

11. Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.

12. Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in *Limulus*. Thrombosis Res. 68: 1-32.

13. Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1→3)-β-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.

14. Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-β-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus amoebocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.

15. Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.

16 . Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.

17. Binder, U., Maurer, E., and Lass-Flori, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.

18. Girouard, G., Lachance, C., and Pelletier, R. 2007. Observations of (1→3)-β-D-Glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by *Histoplasma* or *Blastomyces*. J. Med. Mycology 56: 1001-1002.

19. Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.

20. Kato, A., Takita, T, Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.

21. Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakat, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauze types. Tohoku J. Exp. Med. 217: 117-121.

22. Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Coeanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.

23. Held J, Wagner D.β-d-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2011;17:1118-22.

24. Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-β-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. Int. J. Hematol. 80: 97-98.

25. Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, I., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3- {beta}-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. J. Med. Microbiol. 2010; 59:1016-22.

26. Posteraro B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi,M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguinetti, M., and Antonelli, M. 2011 Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1→3)-β-D-glucan assay, *Candida* score, and colonization index. Crit Care 15: R249.

27. Smith, P.B., Benjamin, D.K., Alexander, B.D., Johnson, M.D., Finkelman, M.A., and Steinbach, W.J. 2007. (1→3)-β-D-Glucan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-glucan test in children. Clin. Vaccine Immunol. 14: 924-925.

28. Goudjil, S., Kongolo, G., Dusol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. J. of Maternal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-48.

29. Issa, N.C., Koo, S., Lynch, R.C., Gay, C., Hammond, S.P., Baden, L.R., Ghobrial, I.M., Finkelman, M.A., and Marty, F.M... 2012 Serum galactomannan and (1->3)-β-D-glucan assays for patients with multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia. J.Clin. Microbiol. 50:1054-6.

30. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2011; 52:750-70.

31. Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. PLoS One. 2015 Jul 6;10:e0131602.

32. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). Clin Infect Dis. 2012; 54:633-43.

33. Onishi AI, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol. 2012; 50:7-15.

34. Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β-D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2013; 19:39-49.

35. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.

36. Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β-D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2013; 19:39-49.

37. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus