

Analys av (1→3)-β-D-glukan i serum

FUNGITELL STAT®

På www.fungitell.com finns bruksanvisningar på ditt språk.

Fungitiell STAT[®]-analysen är en proteas-zylogen-baserad kolorimetrisk analys för kvalitativ detektion av (1→3)- β -D-glukan i serum hos patienter med symptom på, eller med medicinska tillstånd som predisponerar patienter för invasiv svampinfektion. Serumkoncentrationen av (1→3)- β -D-glukan, en viktig cellväggskomponent hos olika medicinskt viktiga svampar¹, kan användas som hjälpmedel för att diagnostisera djupliggande mykoser och fungemier². Ett positivt resultat visar inte vilken klass av svampar (fungi) som kan orsaka infektionen.

Förekomsten av svampinfektioner med opportunistiska patogener ökar, särskilt hos patienter med nedsatt immunkörförsvär.^{3,4,5} Invasiva svampsjukdomar, som opportunistiska infektioner, är vanliga bland patienter med hematologiska sjukdomar och AIDS och står för ett växande antal nosokomiala infektioner, i synnerhet bland organmottagare och andra patienter som får immunsuppressiva behandlingar.^{6,7} Många svampsjukdomar förvärras via inandning av svampsporer som härrör från jord, växtavfall, luftkonditioneringssystem och/eller exponerade ytor. Invasiva opportunistiska svampar förekommer i/på människans hud, tarmskanal och slemhinna.^{8,9} Diagnos på vissa mykoser och fungemier göres vanligtvis på icke-specifika diagnostiska eller radiologiska metoder. Nyligen har biologiska markörer av svampinfektioner lagts till de tillgängliga diagnostiska metoderna.²

Fungitell STAT®-analysen (katnr. FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) är en designförändring av Fungitell®-analysformatet (katnr. FT001, Associates of Cape Cod, Inc. eller ACC). Fungitell STAT®-analysen (CE-märkt produkt av 2019) utvecklades för att hantera behovet av ett testformat för engångsbruk och en mindre storlek på produkten som passar plattformet med 96 brunnar i Fungitell®-analysen (USA-predikat och CE-märkt produkt av 2008).

```
graph TD
    LPS[Endotoxin (LPS)] --> FC[Faktor C]
    FC --> AFC[Aktivierad faktor C]
    AFC --> FB[Faktor B]
    FB --> AFB[Aktivierad faktor B]
    AFB --> PKE[Pro-koagulerande enzym]
    PKE --> KE[Koagulerande enzym]
    G1[(1->3)-β-D-glukan] --> FG[Faktor G]
    FG --> AFG[Aktivierad faktor G]
    AFG --> KE
    KE --> S[Boc-Leu-Gly-Arg-pNA (artificiellt substrat)]
    S --> P[Boc-Leu-Gly-Arg + pNA]
    IB[Inaktiverad bana] --> FC
```

Tabell 1. Fungitell STAT® indexintervall	
Resultat	Indexvärde
Negativt	$\leq 0,74$
Obestämt	$0,75 - 1,1$
Positivt	$\geq 1,2$

Följande material medföljer varje produkt och räcker för att analysera 10 reaktioner (baserat på 10 rör med Fungitell STAT®-reagens). Varje produkt innehåller även fem Fungitell STAT®-standardrör.

- Allt material måste vara fritt från interfererande glukos.

- **Användarhandböcker kan laddas ner från ACC-webbplatsen: www.fungitell.com.**

- Förvara kitet i originalförpackningen som det levererades i, vid 2-8 °C och håll borta från solljus.
- Fungitell STAT®-reagens och Fungitell STAT®-standard är utformade för att användas i upp till en timme efter rekonstituering.

- Pipettera inte något material med munnen. Undvik att röka, äta eller dricka i områden där prover eller satsreagenser hanteras.
- Följ verkssamma och lokala säkerhetsbestämmelser.
- Använd skyddshandskar när du hanterar biologiska prover som kan vara smittsamma eller farliga. De handsckleddä händerna ska anses som kontaminerade hela tiden, håll dina handsckleddä händer borta från ögon, mun och näsa. Använd ett ögonskydd och skyddsmask om det finns en möjlighet för aerosolkontaminering.
- Använd inte produkter med skadat innehåll.
- Kassering: Rester av kemikalier och prepareringar ska i allmänhet anses vara farligt avfall. Kassering av denna typ av avfall regleras i nationella och regionala lagar och förordningar. Kontakta din lokala myndighet eller avfallhanteringsföretag för råd om kassering av farligt avfall.
- **Säkerhetsdatablad**en för Fungitell STAT®-reagensen, Fungitell STAT®-standard, LAL-reagensvatten och alkalisk förbehandlingslösning kan laddas ner från ACC-webbplatsen: www.acciusa.com.

Fungitell STAT®-analysen kräver omfattande uppmärksamhet på teknik och testmiljö. Grundlig utbildning av teknikern om analysmetoden och om undvikande av kontamination är avgörande för analysens effektivitet.

- Etablera en ren miljö i vilken analysen utförs.
- Notera att glukos såväl som svampartikeltkontamination från den mänskliga kroppen, kläder, behållare, vatten och luftburet damm kan störa Fungitell STAT®-testet.
- Möjliga kontamineringskällor innefattar cellulosaomaterial som gasväv, pappersservetter och kartong, gaspistetter med bomullskorkar och pipettspetsar med cellulosaafiter. Kirurgiska gasbindor och svampar kan också utsöndra stora mängder av (1→3)-β-D-glukan^{11,22}. Se avsnittet Testets begränsningar för andra patientrelaterade kontaminationskällor.
- Använd de öppna ampullerna med alkalisk förbehandlingslösning och LAL-reagensvatten omedelbart och om potentiell kontaminering är ett problem, återanvänd inte dessa material.
- Fungitell STAT®-reagensen och Fungitell STAT®-standard ges ut som en parad sats. Av detta skäl ska inte andra komponenter från andra produktsatser som inte är Fungitell STAT®-reagens och Fungitell STAT®-standard användas. Därför rekommenderas det att du kasserar alla kvarvarande Fungitell STAT®-standarder så snart alla Fungitell STAT®-reagensrör i förpackningen har använts.
- Använd inte material efter utgångsdatumet.

- Blodprovstagnning och preparering av serum ska utföras enligt tillämpliga, lokala förfordningar. Provstagnning: Blodprovena kan tappas i sterila serumprepareringsrör eller serumsepareringsrör (SST) för preparering av serum.
- Provförvaring: Serumprover kan förvaras vid 2–8 °C i upp till 15 dagar, eller frysas vid -20 °C i upp till 27 dagar eller -80 °C i upp till fyra år.
- Provmarkning: Prover ska märkas tydligt enligt den medicinska institutionens (laboratorium) vedertagna praxis.

- Använd god laboratoriesed enligt de lokala förordningarna. Denna analys är känslig mot kontamination och felaktig pipettering.
- Arbete i dragskåp rekommenderas för att kunna säkerställa operatörens säkerhet vid arbete med serumprover och för att minska möjligheten för kontamination av (1→3)-β-D-glukan från miljön under processen.
- Det rekommenderas att vortexprodukten förs in i dragskåpet (så länge som kritiskt luftflöde upprätthålls), för att minska onödiga förflyttningar av glasampuller in och ut från dragskåpet.
- Det rekommenderas att långa pipettspetsar används för att förhindra korskontaminering mellan ampullerna.
- Ett Fungitell STAT®-standardrör (röd kork och röd linjemärkning) ska alltid bearbetas under samma förhållanden och vid samma tid som patientprov(er) inom en körning. Detta är viktigt då analysens resultat är ett index (prov/standard) av de kinetiska reaktionsfrekvenserna (eller lutningar, absorbans/sek) från patientprovet och Fungitell STAT®-standarden.
- Det rekommenderas att du använder separata rörställ under proceduren, ett för provprepareringsrör och ett för reagensrören för att undvika förvirring och korskontamination.
- Det rekommenderas att du placerar Fungitell STAT®-standarden i en definierad och konsekvent position i rörstället, inkubatorn och avläsaren. Använd den första brunnen till vänster märkt "Standard" i PKF08-avläsaren.
- Slutet av varje blandningssteg ska du bekräfta visuellt att lösningen är homogen blandad.

Fungtill STAT®-produkten innehåller en visuell snabbguide med bilder och en sammanfattning av funktionerna i PKF08-instrumentet och BG Analytics®-programvaran.

8.1.1 Vid användning av PKF08 med BG Analytics®-programvaran:
Sätt på enheten och följ anvisningarna i BG Analytics®-programvaran. Se handboken till BG Analytics® för detaljerad information.

- Instrumentet ska kunna uppnå och hålla en temperatur på $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Instrumentet och programvaran måste kunna avläsa optisk densitet över tid (kinetiskt läge) vid två våglängder. Dessa våglängder ska specifikt ställas in på 405 nm och 495 nm.
- Ställ in det kinetiska läget på en avsläpningslängd på 40 minuter (2 400 sekunder). Ställ in det kinetiska avsläpningsintervallet på det minimum som tillåts av programvaran/instrumentet.
- Mätningen ska initieras omedelbart vid provinsättning.
- Se programvarans handbok för att fastställa hur du ska beräkna en frekvensmätning (lutning) från datauppsättningen. För detta tests ändamål upprepas detta i allmänhet genom att utföra en linjär regression av kinetiska data under den föreslagna tidsramen. Ställ in att den linjära regressionsberäkningen ska utföras över intervallet mellan 1 900 och 2 400 sekunder med programvarans "skivfunktion".

- Märk ett tomt rör för varje patientserumprov som ska testas.
- Märk ett rör med Fungitell STAT®-reagens för varje patientserumprov som ska testas.
- Märk ett rör med Fungitell STAT®-reagens för Fungitell STAT®-standarden.

- Vortexblanda patientserumprovet för minst 20 sekunder för att säkerställa homogenitet.
Obs: Frysprocessen kan producera provheterogenitet på grund av vattenabstraktion till den växande iskristallen och därmed exkludera upplösta ämnen.
- Tillsätt patientserumprovet och den alkaliska förbehandlingslösningen i ett förhållande på 1:4 till det motsvarande märkta, tomma röret. De rekommenderade volymerna är 50 µl patientprov och 200 µl alkalisk förbehandlingslösning.
Obs: Den alkaliska förbehandlingslösningen omvandlar trippelspiralglukaner till ensträngade glukaner^{14,15} vilka är mer reaktiva i analysen. Det alkaliska pH-värdet inaktiverar dessutom serumproteaserna och hämmarna som kan störa analysen²⁴.
- Vortexblanda under 15 sekunder och täck över flaskan.

Obs! Varje produkt (par med Fungitell STAT®-standard och Fungitell STAT®-reagens) testas och ges ut oberoende. Därmed är det viktigt att använda lotnummer för volymer av rekonstitution och alkalisk förbehandlingslösning. Dessa finns på förpackningsmärkningarna till Fungitell STAT®-standarden, på Fungitell STAT®-produktens analyscertifikat och på ACC-webbplatsen. Rekommendation: Skriv ner denna information på visuellt snabbguide som medföljer, innan du påbörjar testet.

- Rekonstituera en ampull med Fungitell STAT®-standarden med den lotnummer-specifika volymen av LAL-reagensvatten och vortexblanda under 15 sekunder.
- Tillsätt den lotnummer-specifika volymen av alkalisk förbehandlingslösning.
- Vortexblanda under 15 sekunder och täck över flaskan.

Inkubera rören med patientserumprov (från steg 8.3) och Fungitell STAT®-standardampullen (från steg 8.4) under 10 minuter vid 37 °C.

Obs! När du använder PKF08-instrumentet och sätter in ett rör i en brunn, ändras en indikator från röd till grön. Tryck in röret helt tills indikatorn blir grön.

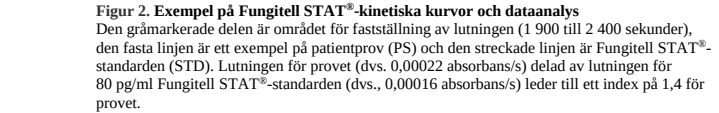
 Var försiktig, rören är sköra. Om glasskärvor och vätskor tränger in i en mätstation i PKF08, kontakta Associates of Cape Cod, Inc., teknisk service.

- Rekonstituera var och en av Fungitell STAT®-reagensampuller (märkta i steg 8.2 ovan) med 300 µl av LAL-reagensvatten.
- Vortexblanda försiktigt i maximalt fem sekunder.
Obs! Fungitell STAT®-reagenserna innehåller ett antal aktiva proteiner som krävs för analysen och det rekommenderas att lösningen hanteras varsamt. En högsta inställning på 2 000 RPM rekommenderas för alla vortexprodukter. Blanda inte för mycket.
- I slutet av förinkubationen:
 - Överför 75 µl av varje patientserumprovlösning i dess motsvarande Fungitell STAT®-reagensrör.
 - Överför 75 µl av Fungitell STAT®-standard till dess motsvarande Fungitell STAT®-reagensrör.
 - Vortexblanda alla rör maximalt i fem sekunder och täck över rören.

- Sätt in rören i röravläsaren medan du bekräftar att vart och ett är i den avsedda brunnen.
- Starta den kinetiska avläsningen för en 40-minutersperiod, vid 37 °C.

9.1 Mätprincip

Fungitell STAT®-testresultaten ska användas som en hjälp vid diagnostisering av invasiv svampinfektion. Standardfrekvenserna i patientprovet och Fungitell STAT® deriveras från beräkningen av lutningen (frekvensen) mellan 1 900 och 2 400 från resultaten av delta-absorbansen 405 - 495 nm. Fungitell STAT®-indexresultaten erhålls från divisionen av lutningen för patientprovet genom lutningen för Fungitell STAT®-standarden (se figur 2).



- Granskningen av kvalitetskriteriet utförs automatiskt av programvaran. Resultatet visas i den slutliga rapporten.
- För giltiga testkörningar fastställer BG Analytics®-programvaran ett indexvärde för varje prov, eller tilldelar ett tydligt negativt eller positivt resultat för provet.
- Om programvaran visar några indikationer på o giltiga parametrar i resultatutvärderingen, ska du följa anvisningarna i BG Analytics®-programvaruhandboken.

Verifiera att alla kvalitetskontrollkriterier är uppfyllda.

Kvalitetskontrollkriterierna anges nedan för resultaten av Fungitell STAT[®] Standard och patientserumprov, inklusive exempel på förväntade kinetiska kurvformer. Dessa kvalitetskontrollkriterier validerades i studierna som presenteras i avsnittet Prestandaegenskaper.

- **För alla brunnnummer**, bekräfta tilldelning av Fungitell STAT®-standard eller provnummer

- **För Fungitell STAT®-standardresultatet,**
 1. korrelationskoefficienten (r) måste vara $\geq 0,980$ och
 2. lutningen måste vara inom det förväntade lutningsintervallet på 0,00010 – 0,00024 absorbs/sekund.

Om Fungitell STAT®-standardresultatet inte uppfyller kriteriet nr 1 och nr 2, är körningen ogiltig och alla prover måste prepareras och testas igen.

- Gör följande för alla patientprovresultat:**
- A. Fastställ om resultatet kan vara utanför testets mätintervall**
- Resultatet är troligen utanför intervallet på den positiva sidan om:
 - Y-skärningspunkten är positiv och
 - Den kinetiska kurvan passerar 0,4 i absorbsans före 1 000 sekunder.
 - Resultatet är troligen utanför intervallet på den negativa sidan om:
 - Den kinetiska kurvan är positiv efter 500 sekunder och
 - Har en absorbsans på $\geq 0,00$ och $< 0,07$ i slutet av testet.
- Om provresultaten uppfyller båda kriterierna för antingen positivt eller negativt utanför intervall, behöver inte det allmänna kvalitetskontrollkriteriet nedan slutföras och indexvärdet ska **inte** beräknas. Alla resultat utanför intervallet på den positiva sidan ska rapporteras som "Positiva" och alla resultat utanför intervallet på den negativa sidan ska rapporteras som "Negativa".

- B. Om det ovanstående kriteriet inte gäller, ska du verifiera den allmänna kvalitetskontrollen:**
1. den kinetiska kurvan måste vara positiv efter 500 sekunder,
 2. den kinetiska kurvan måste ha en absobans på $\geq 0,00$ i slutet av testet,
 3. lutningen måste vara numeriskt positiv,
 4. korrelationskoefficienten (r) måste vara $\geq 0,980$ och
 5. den kinetiska kurvan måste ha en upptågande, ökande kurvform som är konsekvent med exemplen som visas i **figur 3**.

Om provresultatet inte uppfyller det allmänna kvalitetskontrollkriteriet nr 1, 3-5, är provresultatet ogiltigt och provet måste testas igen. Alternativt ska en annan metod användas.

Om provresultatet inte uppfyller kvalitetskontrollkriteriet nr 2, anger detta att provsignalen är låg. I detta fall ska användaren noggrant granska den angivna kurvan i sammanhanget och fastställa giltigheten i resultaten baserat på laboratoriets interna kvalitetssystem.

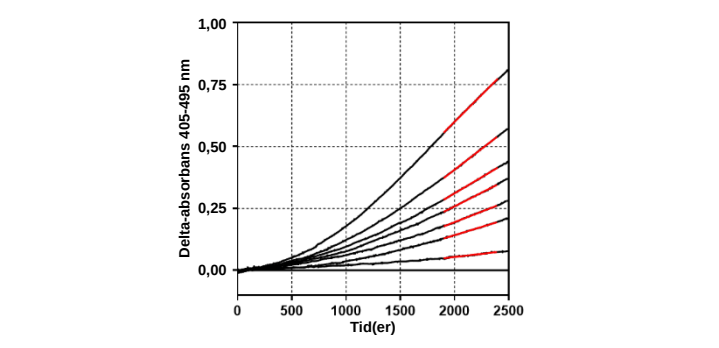


Figure 3. Exempel på lämpliga kinetiska kurvformer

Kinetiska kurvor ska ha en form med en uppåtgående, ökande kurva som i exemplen ovan. Exemplen på prover som visas här är från hela indexintervallet för Fungitell STAT®-analysen. Använd dessa exempel för att granska kvalitetskriteriet.

Obs:

1. Alla användare av testet ska etablera ett kvalitetskontrollprogram för att försäkra sig om att testet utförs korrekt enligt gällande bestämmelser på plats.
2. Det rekommenderas att testa serumkontrollprover (negativa, nära gränsvärdet eller starkt positiva) i sammanhanget av ytterligare laboratoriekontroller och god laboratoriesed. Dessa ingår inte i Fungitell STAT®-satsen.

11. Tolkning av resultat

- **Negativt resultat**
Indexvärdet ≤0,74 tolkas som negativa resultat.
Laboratoriet som utför testet ska informera den beställande läkaren om att inte alla svampinfektioner resulterar i förhöjda nivåer av (1→3)-β-D-glukan i serum. Vissa svampar, t.ex. klassen Cryptococcus^{16,17} producerar mycket låga nivåer av (1→3)-β-D-glukan. *Mucorales*, t.ex. *Absidia*, *Mucor* och *Rhizopus*^{1,17} är inte kända för att producera (1→3)-β-D-glucan. På liknande sätt producerar *Blastomyces dermatitidis*, i dess jästfas, föga (1→3)-β-D-glukan och blastomycospatienter har vanligen ej detekterbara nivåer av (1→3)-β-D-glukan i Fungitell STAT®-analysen¹⁸.
- **Obestämt resultat**
Indexvärdet från 0,75 till 1,1 anses vara ofullständig (tveetydiga). Ytterligare provtagning och testning av sera rekommenderas. Frekvent provtagning och testning förbättrar användbarheten för diagnos.
- **Positivt resultat**
Indexvärdet ≥1,2 tolkas som ett positivt resultat. Ett positivt resultat betyder att (1→3)-β-D-glukan detekterats. Ett positivt resultat definierar inte förekomsten av sjukdom och ska användas tillsammans med andra kliniska fynd för att fastställa en diagnos.

12. Testets begränsningar

- Vävnadsställen med svampinfektion⁷, inkapsling, samt mängden av (1→3)-β-D-glukan som produceras av vissa svampar kan påverka serumkoncentrationen av denna analyt. Reducerad förmåga att föra ut (1→3)-β-D-glukan i blodomloppet kan minska förmågan att detektera vissa svampinfektioner.
- Vissa individer har (1→3)-β-D-glukanindexvärdet som hamnar inom den obestämda zonen. I sådana fall rekommenderas ytterligare övervakande testning.
- Frekvensen av patienttestning beror på den relativa risken för svampinfektion. Provtagningsfrekvenser på minst två till tre gånger per vecka rekommenderas för riskpatienter.
- Positiva resultat har hittats hos hemodialyspatienter^{19,20,39}, patienter som behandlats med vissa fraktionerade blodprodukter såsom serumalbumin och immunglobuliner^{23,24} samt i prover eller hos patienter som exponerats för gasväv och kirurgiska svampar som innehåller glukan. Patienter behöver 3–4 dagar för att återställa baslinjenvärdena av (1→3)-β-D-glukan i serum efter kirurgisk exponering för svampar och gasväv som innehåller (1→3)-β-D-glukan^{21,22}. Ta detta med i beräkningen vid tidsanpassningen av provtagning på kirurgipatienter. En omfattande granskning av faktorer som bidrar till falska positiva (1→3)-β-D-glukan finns i Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)⁴⁰.
- Prover som erhållits genom stick i hälen eller fingret är oacceptabla eftersom den alkoholinblandta gasväv som används för att preparera stickstället (och, potentiellt, blodansamling på huden) har visat sig kontaminera proverna. I hittills utförda studier har inga skillnader observerats mellan prover som tagits via slang eller venpunktion^{25,26}.
- Testnivåer fastställdes på vuxna patienter. Normala nivåer och gränsvärdesnivåer för spädbarn och barn är under utredning^{27,28}.

13. Prestandaegenskaper

13.1 Förväntade värden

- **Diagnostisk sensitivitet och diagnostisk specificitet för referensmetoden, Fungitell®-analys**
En prospektiv multicenterstudie, som utfördes för att fastställa den diagnostiska sensitiviteten och den diagnostiska specificiteten för Fungitell®-analysen (USA-predikat och CE-märkning av 2008) har visat att (1→3)-β-D-glukanvärden ökar vid olika svampinfektioner. När tecken och symptom förekommer vid nivån 80 pg/ml eller högre, så varierar det prediktiva värdet för att patienten är positiv för en svampinfektion från 74,4 till 91,7 %. I frånvaro av tecken och symptom vid mindre än 60 pg/ml varierade det negativa prediktiva värdet från 65,1 till 85,1 %²⁹.
- **Fastställa Fungitell STAT®-gränsvärden**
Avidentifierade, frysta patientserumprover som samlats in för rutinsjukvård hos den avsedda populationen och mottagna vid Beacon Diagnostics Laboratory, Inc för Fungitell®-testning användes för denna studies ändamål. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc är en licensierad laboratoriedel för kliniska laboratorieförbättringar (CLIA) hos Associates of Cape Cod (ACC). En population med 93 avidentifierade patientserumprover ingick i studien med (1→3)-β-D-glukankoncentrationer, distribuerade över hela intervallet av Fungitell®-standardkurvan på 31 – 500 pg/ml. Fungitell STAT® gränsvärdesbedömning följde ROC-kurvanalysen (mottagarens funktionskaraktäristiska kurvor)³⁰. Resultaten angav att Fungitell STAT β-glukanindexvärdet ≥1,2 ska tolkas som ett positivt resultat i linje med Fungitell®-produktens 80 pg/ml gränsvärde medan indexvärdet ≤0,74 ska tolkas som negativa resultat i linje med Fungitell®-produktens 60 pg/ml gränsvärde. Dessa gränsvärden validerades som en del av metodjämförelsestudien och beräkningen av den negativa procentöverensstämmelsen och den positiva procentöverensstämmelsen som visas nedan.

13.2. Metodjämförelse

I likhet med gränsvärdesstudien, men med användning av en annan uppsättning prover, distribuerades också 488 avidentifierade, frysta patientserumprover med (1→3)-β-D-glukankoncentrationer över hela intervallet av Fungitell®-standardkurvan på 31 – 500 pg/ml och användes för metodjämförelsestudiens ändamål³⁰. Dessa innefattade 309 prover som hamnade inom den negativa zonen av Fungitell®-testresultaten, 143 prover som hamnade inom den positiva zonen av Fungitell® och 36 prover som hamnade inom den obestämda zonen av Fungitell® (**tabell 2**). Alla prover testades med både Fungitell STAT®- och Fungitell®-analyserna under denna studie. När prover som hamnade inom den obestämda zonen av Fungitell STAT® exkluderades från analysen, var det 290 prover kvar för den negativa procentöverensstämmelsens analys och 119 prover kvar för den positiva procentöverensstämmelsens analys.

Tabell 2. Fungitell STAT®-prestanda jämfört med Fungitell®					
		Fungitell®			Totalt
		Negativt	Obestämt	Positivt	
Fungitell STAT®	Negativt	283	17	1	301 (61,7 %)
	Obestämt	19	17	24	60 (12,3 %)
	Positivt	7	2	118	127 (26,0 %)
Totalt		309 (63,3 %)	36 (7,4 %)	143 (29,3 %)	488 (100 %)
		NPA: 97,6 %* (283/290) 95 % CI: (95,4, 99,9)		PPA: 99,2 %* (118/119) 95 % CI: (95,4, 99,9)	

*Obestämda (dvs. tveetydiga) resultat ingår inte i analysen, om alla obestämda resultat anses vara motstridiga resultat (t.ex. falskt positiva eller falskt negativa) är prestandan enligt följande: PPA - 73,8 % (118/160), 95 % CI: (66,4 %, 80,0 %); NPA - 91,0 % (283/311), 95 % CI: (87,3 %, 93,7 %)

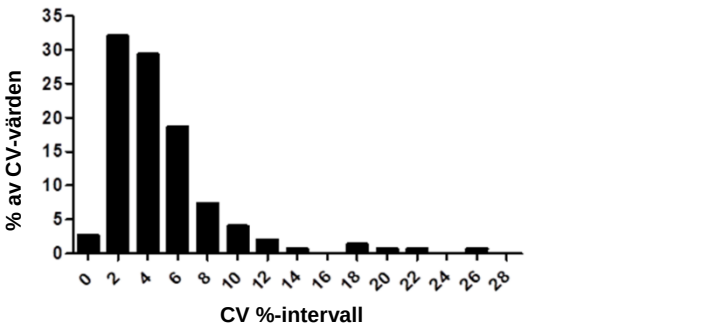
- **Negativ procentöverensstämmelse**
Tvåhundraåttiotre (283) av de 290 proverna som var negativa när de testades med Fungitell®-produkten var också negativa med Fungitell STAT®-analysen. Den beräknade negativa procentöverensstämmelsen (NPA) med Fungitell®-metoden var 97,6 % (95 % konfidensintervall: 95,4 %, 99,9 %) (**tabell 2**).
- **Positiv procentöverensstämmelse**
Etthundraarton (118) av de 119 proverna som var positiva när de testades med Fungitell®-produkten var också positiva med Fungitell STAT®-analysen. Den beräknade positiva procentöverensstämmelsen (PPA) med Fungitell®-metoden var 99,2 % (95 % konfidensintervall: 95,4 %, 99,9 %) (**tabell 2**).
- **Mätintervall, linjäritet och noggrannhet**
Indexresultaten var i intervallet från cirka 0,4 till 3,5, vilket täckte standardkurvan (31-500 pg/ml) av Fungitell®. Den linjära korrelationen mellan Fungitell®-koncentrationen och Fungitell STAT®-indexresultat var 0,92 (95 % konfidensintervall: 89,9 % och 93,6 %). Obs: Vid användning av PKF08 med BG Analytics®-programvaran används Fungitell STAT®-indexresultatet för att fastställa kategoriseringen. Ett uppskattat pg/ml-värde tillhandahålls endast som referens.

13.3 Analytisk studie mellan laboratorier

Fungitell STAT® utvärderades för precision (dvs. uppreparhet och reproducerbarhet), analytisk sensitivitet och analytisk specificitet genom att spika humant serum med *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)-β-D-glukan för att producera en panel med fem medlemmar bestående av ett lågt negativt prov, högt negativt prov (strax under det lägre gränsvärdet på 0,74), obestämt (tveetydigt) prov, lågt positivt prov (strax över det övre gränsvärdet på 1,2) och högt positivt prov (~2x över det övre gränsvärdet på 1,2). Panelen distribuerades till tre CLIA-laboratorier för testning med Fungitell STAT®-analysen. Varje laboratorium gav 150 datapunkter (dvs. 5 prover x triplikat per körning x två operatörer som utför en körning per dag x 5 dagar) för totalt 450 datapunkter och inklusive 30 körningar (dvs. analyser) och 90 datapunkter per prov (dvs. panelmedlem). Medelindexvärdet i studien som visas i **tabell 3** nedan är deriverade från data som tillhandahållits av de tre laboratorierna. Kolumnen med positiv procent representerar procentdelen av prover för en given panelmedlem som hamnade inom den positiva zonen. Bland dessa tre laboratorier var det positiva procentresultaten 1,1 % för det lågt negativa provet, 0 % för det högt negativa provet, 3,3 % för det obestämda provet, 96,7 % för det lågt positiva provet och 100 % för de högt positiva proverna.

Tabell 3. Analytisk studie mellan laboratorier					Analytisk specificitet (sant negativ) och analytisk sensitivitet (sant positiv)
Panelmedlem	Medelindex	Standardavvikelse	% CV	Procent positiva (Antal pos./antal testade)	
Lågt negativ	0,55	0,10	20,4 %	1,1 % (1/90)	89/90 sant negativ
Högt negativ	0,75	0,08	11,1 %	0 % (0/90)	90/90 sant negativ
Obestämt	0,94	0,10	11,1 %	3,3 % (3/90)	87/90 inte positiv
Lågt positiv	1,6	0,30	18,7 %	96,7 % (87/90)	87/90 sant positiv
Högt positiv	2,6	0,40	15,4 %	100 % (90/90)	90/90 sant positiv

Som anges i tabell 3, sträckte sig analysvariationen mellan laboratorier (dvs. % CV) från 11 till 20,4 % och fungerade som ett mått på reproducerbarhet. Analysvariationen mellan laboratorier sträckte sig från 0,4 % till 26,8 % och fungerade som ett mått på uppreparhet. Distributionen av analysen mellan laboratoriers % CV-intervall visas nedan i **figur 4**. Totalt var 94 % av CV-värden 10 % eller mindre och 75 % av CV-värden var 6 % eller mindre.



Figur 4. Distribution av analys mellan laboratoriers % CV-värden

13.4 Sannfärdighet

För varje lot av Fungitell STAT®-produkten, kalibreras Fungitell STAT®-standarden (1→3)-β-D-glukankoncentration till 80 +/- 8 pg/m med Fungitell®-referensmetoden och mot en intern (1→3)-β-D-glukan referensstandard.

13.5 Interfererande ämnen

Följande provförhållanden kan störa ett korrekt resultat av Fungitell STAT®-analysen:

- Missfärgade eller grumliga prover, t.ex. sådana som är kraftigt hemolyserade, lipemiska eller som innehåller överskott på bilirubin, kan orsaka optisk interferens för analysen. Om sådana prover testas, ska testresultaten undersökas avseende tecken på optisk interferens och/eller onormala kinetiska kurvmönster.
- Förhöjda nivåer av immunoglobulin G, som kan förekomma i serum på grund av multipelt myelom, kan resultera i utfällning i reaktionsblandning vid tillsats av Fungitell STAT® till förbehandlat serum³¹.
- Då detta skrevs hade ingen aktiverande faktor G ((1→3)-β-glukan detektionselement) av Fungitell®-reagensen beskrivits som annan än (1→3)-β-glukan. I vissa studier, där påståenden om korsreaktivitet gjorts, har behandling av det troliga aktiverande materialet med renat (1→3)-β-glukanas eliminerat signalen, vilket visar att den observerade aktiveringen berott på kontaminerande (1→3)-β-glukan¹². Kontaminering med serinproteas kan också resultera i para-nitroanilinutsläpp i Fungitell®-reaktionsblandningar, men dessa inaktiveras som en del av förbehandlingsprocessen.

14. Meta-analyser

Utöver detta har flera vetenskapligt granskade studier publicerats i ämnet om stöd för (1→3)-β-D-glukan i serum vid diagnos av invasiv svampsjukdom som innefattar meta-analyser av diagnostiska prestanda^{32,33,34,35,36,37,38,39}.

15. Symbolförklaring

	Används senast		Se bruksanvisningen
	Innehåller tillräckligt med material för "N" tester		Auktoriserade representanter i EU
	Satskod		CE-märkning
	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik		Endast receptbelagd
	Katalognr		Var försiktig
	Temperaturbegränsning		Håll borta från solljus
	Tillverkare		Importör
	Auktoriserad representant i Schweiz		

16. Auktoriserade representanter/importör

Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Nederländerna

	Auktoriserad representant i Schweiz MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Schweiz
	Importör MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Nederländerna

Sponsor i Australien:
Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park
201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australien

Obs: allvarliga tillbud som har inträffat i relation till produkten ska rapporteras till tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten har sin hemvist.

17. Kontaktinformation

Företagets huvudkontor
Associates of Cape Cod, Inc.
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 USA
Tel: (888) 395-2221 eller (508) 540-3444, Fax: (508) 540-8680
E-post: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

Storbritannien/Europa
Associates of Cape Cod Int’l, Inc.
Unit 1 F/G/H Academy Business Park, Lees Road
Knowsley, Liverpool L33 7SA, Storbritannien
Tel: (44) 151–547–7444, Fax: (44) 151–547–7400
E-post: info@acciuuk.co.uk • www.acciuuk.co.uk

18. Revisionshistorik

Rev 1-3: Lade till PKF08-PKG katalognr. och relaterade anvisningar, information om Fungitell STAT®-standards funktion som intern kontroll, kontaktinformation, tydliggöranden och formatering. Tydliggjorde allmänt kvalitetskontrollkriterium nr 3. Lade till provstabilitetsdata och fastställande av gränsvärde, avsnitt om mätintervall -linjäritet -noggrannhet och sannfärdighet. Rev 4: Ändrade EG-representant, ändrade värdet 0,03 till 0,00 i avsnittet kvalitetskontroll och mindre ändringar för tydlighet. Rev 5: EG-representant Emergo Europe borttagen. Rev 6: Uppdaterade symboler som används. Lade till MedEnvoy som EU-importör och tog bort ACC Europe GmBh från avsnitt 17. Uppdaterade symboler som används. Lade till namn och adress för EG-REP, schweizisk importör och CH-REP. Rev 7: Förtydligande av reagensförvaring. Lade till att ett uppskattat Fungitell; pg/ml-värde tillhandahålls med PKF08-BGA-rapporten, uppdaterade logotyp och referens till ACC-webbplatsen till www.fungitell.com för tillgång till märkning.

19. Referenser

1. Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
2. 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.
3. 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.
4. Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
5. 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.
6. Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
7. Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
8. Lass-Flörl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
9. Nucci, M. and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
10. Litvinseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgrulich, 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 ameobocyte 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-Flörl, 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, Y., 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., Ayagi, 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., Cocanour, 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. Ostrosky-Zeichner, L., Alexander, B.D., Kett, D.H., Vazquez, J., Pappas, P.G., Saeki, F., Ketchum, P.A., Wingard, J., Schiff, R., Tamura, H., Finkelman, M.A., Rex, J.H. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1→3)-β-D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. Clin. Inf. Dis. 41: 299-305.
30. D’Ordine, R.L., Garcia, K.A., Roy, J., Zhang, Y., Markley, B. and Finkelman, M.A. 2021. Performance characteristics of Fungitell STAT™, a rapid (1→3)-β-D-glucan single patient sample in vitro diagnostic assay. Med Mycol .59(1):41-49.
31. 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.
32. 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.
33. 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.

- 34.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.
- 35.Onishi A1, 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 jiroveci pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol. 2012; 50:7-15.
- 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 on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.
- 38.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.
- 39.Wong J, Zhang Y, Patidar A, Vilar E, Finkelman M, Farrington K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artefact? Limitations of the Limulus Amebocyte Lysate Assay and Role of (1 $\rightarrow$ 3)- β -D Glucan. PLoS One. 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.
40. Finkelman M. Specificity Influences in (1 $\rightarrow$ 3)- β -d-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. J. Fungi (Basel) 2020 Dec 29;7(1):14