

Analyse for (1→3)-β-D-glukan i serum

FUNGITELL®-ANALYSE

Bruksanvisning



**ASSOCIATES OF
CAPE COD
INCORPORATED**

124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02556 USA

Telefon: (508) 540-3444
Grønt nummer: (888) 395-2221
Faks: (508) 540-8680
Teknisk brukerstøtte: (800) 848-3248
Kundeservice: (800) 525-8378

Konly

IVD

Σ

42

CE

PN001268-rio Rev. 11
REF FT001
2021-12-14

Besøk www.accuisa.com for bruksanvisning på ditt språk.

Dette produktet er kun for in vitro-diagnostisk og profesjonell bruk.

1. Tiltenkt bruk

Fungitell®-analysen er en protease-zymogen-basert kolorimetrisk analyse for kvalitativ deteksjon av (1→3)-β-D-glukan i serum hos pasienter med symptomer på, eller medisinske tilstander som disponerer pasienten for invasiv soppinfeksjon. Serumkonsentrasjonen av (1→3)-β-D-glukan, en viktig celleveggskomponent hos ulike medisinsk viktige sopper*, kan brukes som et hjelpemiddel ved diagnose av dyptliggende mykoser og fungemier². Et positivt resultat indikerer ikke hvilken soppsekt som kan forårsake infeksjonen.

Titere av (1→3)-β-D-glukan skal brukes sammen med andre diagnoseprosedyrer, for eksempel mikrobiologisk dyrking, histologisk undersøkelse av biopsiprøver og radiologiske undersøkelser.

Viktig Gi denne informasjonen til leger som ber om det: <i>Visse sopper, for eksempel slekten Cryptococcus som produserer svært lave nivåer av (1→3)-β-D-glukan, resulterer kanskje ikke i et nivå av (1→3)-β-D-glukan i serum som er tilstrekkelig forhøyet til å bli detekert av analysen¹. Infeksjoner med sopper av ordenen Mucorales, for eksempel Absidia, Mucor og Rhizopus¹ som er kjent for å produsere (1→3)-β-D-glukan, har også blitt observert å gi lave titer av (1→3)-β-D-glukan i serum. I tillegg produserer Blastomyces dermatitidis lite (1→3)-β-D-glukan i gjærsoppfasen og detekteres kanskje ikke av analysen¹.</i>
Inkluder denne erklæringen ved rapportering av testresultatene til Fungitell®-analysen.

2. Oppsummering og forklaring

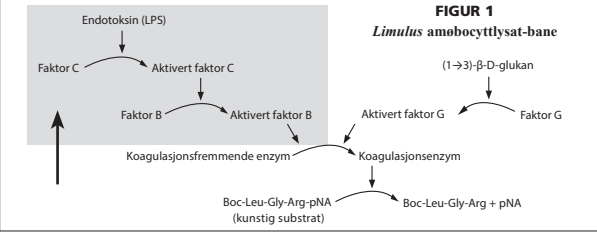
Det er en økende forekomst av soppinfeksjoner av opportunistiske patogener, spesielt hos immunkompromitterte pasienter^{1,2}. Invasive sopp sykdommer, som opportunistiske infeksjoner, er vanlig blant pasienter med hematologisk malignitet og aids og utgjør et voksende antall nosokomielle infeksjoner, spesielt blant mottakere av organtransplantat og andre pasienter som mottar immunsuppressive behandling^{9,10}. Mange sopp sykdommer erverves ved å inhalere sopp sporer som stammer fra jord, planterester, ventilasjonssystemer og/eller eksponerte overflater. Enkelte opportunistiske sopper er til stede i/på menneskers hud, tarmkanalen og slimhinner^{11,12}. Diagnose av invasive mykoser og fungemier baseres vanligvis på ikke-spesifikke diagnosteknikker eller radiologiske teknikker. Nylig er biologiske markører for soppinfeksjon lagt til de tilgjengelige diagnosemetodene¹.

Opportunistiske soppatogener 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-glukanet produsert av disse organismene, og andre, kan detekteres med Fungitell®-analysen^{1,8,13,14}.

3. Prosedyrens prinsipp

Fungitell®-analysen måler (1→3)-β-D-glukan. Analysen er basert på en modifikasjon av *Limulus* amobocyttylsat (LAL)-banen

Figur 1. Fungitell®-reagensen er modifisert for å eliminere bakteriell endotoksinreaktivitet og dermed kun reagere på (1→3)-β-D-glukan, gjennom den faktor G-medierte siden av banen. (1→3)-β-D-glukan aktiverer faktor G, et serinprotease-zymogen. Den aktiverte faktor G konverterer det inaktive koagulasjonsfremmede enzymet til det aktive koagulasjonsenzymet, som igjen spalter para-nitroanilin (pNA) fra det kromogene peptidsubstratet, Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, og danner en kromofor, para-nitroanilin, som absorberer ved 405 nm. Fungitell® kinetisk analyse, beskrevet nedenfor, er basert på bestemmelse av hastigheten for økning av optisk tetthet produsert av en prøve. Denne hastigheten tolkes mot en standardkurve for å produsere estimater av konsentrasjonen av (1→3)-β-D-glukan i prøven.



4. Materialer som følger med Fungitell®-settet

Fungitell®-settet er for in vitro-diagnostisk bruk. Følgende materialer som følger med hvert sett, er tilstrekkelig til å analysere 110 brønner på to mikrotiterplater (55 brønner på hver):

- Fungitell®-reagens, et frysetorret (1→3)-β-D-glukan spesifikt for LAL (to hetteglass). *Fungitell®-reagensen består av Limulus (dvs. hesteskokrabbe) amøbocyttylsat og Boc-Leu-Gly-Arg-pNA kolorimetrisk substrat. Den inneholder ikke proteiner fra mennesker eller pattedyr.*
- Pyrosol®-rekonstitusjonsbuffer (to hetteglass). Ytterligere hetteglass av Pyrosol-rekonstitusjonsbuffer (katalognummer BC051) kan kjøpes separat. *Den består av 0,2 M Tris-buffer.*
- Glukanstandard, frysetorret (1→3)-β-D-glukan fra Pachyman (to hetteglass). *Volumet av reagensvann som skal tilsettes, er indikert på hetteglassets etikett. Det er kalibrert mot en intern referansesstandard.*
- LAL-reagensvann (LRW) (to flasker)
- Merk:** 20 ml vann av reagenskvalitet (RGW) og LRW i hetteglass er likestilte.
- Basisk forbehandlingsløsning (to hetteglass) som inneholder *0,125 M KOH* og *0,6 M KCl*

Alt det ovennevnte, med unntak av standarden, er fri for interfererende nivåer av (1→3)-β-D-glukan.

5. Nødvendige materialer som ikke følger med

Alle materialer må være frie for interfererende glukan.

- Pipettespisser* (250 µl – katalognr. PPT25, 1000 µl – katalognr. PPT10)
- Pipetter som kan levere volumer på 5–25 µl og 100–1000 µl
- Repetisjonspipette med sprøytespisser som kan levere 100 µl
- Testrør* for klargjøring av standardserie (kalibreringskurve) og kombinasjon med behandlingsreagenser for serum. (12 x 75 mm – kat.nr. TB240 eller 13 x 100 mm – kat.nr TB013)
- Inkuberende (37 °C) plateleser som kan avlese ved 405 nm (skal helst kunne overvåke to bølgelengder, ved både 405 og 490 nm) med et dynamisk område opptil minst 2,0 absorbansenheter, sammen med egnet datamaskinbasert programvare for kinetisk analyse.
- Sterile, glukanfrie rør for alikvotering av prøver. Rør som er sertifisert RNase-, DNase- og pyrogenfrie, kan brukes.
- Parafilm®
- 96-brønners mikroplater* **Merk:** Fungitell®-analysen har blitt validert med plater som har følgende egenskaper: av polystyren, sterile, uten belegg, med flat bunn, uten interfererende beta-glukan iht. ACC-spesifikasjoner og pakket enkeltvis.

* Disse produktene, som leveres av Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), er sertifisert frie for interfererende glukaner.

6. Reagensoppbevaring

- Oppbevar alle reagenser, slik de leveres, ved 2–8 °C på et mørkt sted.
- Rekonstituert Fungitell®-reagens skal oppbevares ved 2–8 °C og brukes innen 2 timer. Alternativt kan rekonstituert Fungitell®-reagens fryses ved -20 °C i opptil 20 dager, tines én gang og brukes.

7. Advarsler og forholdsregler

- Ikke pipetter noe materiale med munnen. Ikke røyk, spis eller drikk i områder hvor det håndteres prøver eller settreagenser.
- Følg driftsforskrifter og lokale sikkerhetsforskrifter.
- Bruk beskyttelseshansker ved håndtering av biologiske prøver som kan være smittsomme eller farlige. De hanskekleddede hendene skal anses som kontaminerte til enhver tid – hold de hanskekleddede hendene unna øyne, munn og nese. Bruk øyevern og kirurgisk munnbind hvis det er mulighet for aerosolkontaminasjon.
- Merk:** Bruk ikke sett med skadet innhold.
- Avhending: Rester av kjemikalier og preparater anses generelt som farlig avfall. Avhending av denne type avfall er regulert av nasjonale og regionale lover og forskrifter. Kontakt lokale myndigheter eller avfallshåndteringselskaper for råd om avhending av farlig avfall.
- Sikkerhetsdatabladene** for alle Fungitell®-settkomponenter kan lastes ned fra nettstedet til ACC: www.accuisa.com.

7.1 Prosedyremessige forholdsregler

- Fungitell®-analysen krever grundig oppmerksomhet på teknikk og testmiljøet. Grundig opplæring av teknikeren i analysemetoden og i unngåelse av kontaminasjon er kritisk for analysens effektivitet.
- Bruk god laboratoriepraksis i henhold til lokale forskrifter. Denne analysen er følsom for kontaminasjon og uøyekiktig pipettering.
- Etabler et rent miljø hvor analysen skal utføres.

- Merk at glukan samt soppartikkelkontaminasjon fra menneskekropper, klær, beholdere, vann og luftbåret støv kan forårsake interferens med Fungitell®-testen.
- Mulige kilder til kontaminasjon: materialer som inneholder cellulose, for eksempel gasbind, papirservietter og papp, glasspipetter med bomullsplugger og pipettespisser med cellulosefiltre. Kirurgiske gasbindbandasjer og svamper kan også avgi store mengder (1→3)-β-D-glukan^{21,22}. Se testens avsnitt Begrensninger for andre pasientrelaterte kilder til kontaminasjon.
- Ikke bruk materialer etter utløpsdatoen.

7.2 Prøvehåndtering

- Blodprøvetaking og klargjøring av serum skal utføres i henhold til gjeldende lokale forskrifter. Prøvetaking: Blodprøver kan tas i sterile serumklargjøringsrør eller serumseparasjonsrør (SST) for klargjøring av serum.
- Oppbevaring av prøver: Serumprøver skal oppbevares ved 2–8 °C i opptil 15 dager, eller fryst ved -20 °C i opptil 27 dager eller -80 °C i opptil 4 år.
- Merking av prøver: Prøver skal merkes tydelig i samsvar med godkjent praksis ved institusjonen.

8. Prosedyre

8.1 Innstilling av instrument og programmering av sett

Innstillingene kan variere avhengig av instrumentet og programvaren. Generelt er det følgende aktuelt: Still inn plateleserens programvare til å samle inn data i Vmean-modus. Se programvarehåndboken for riktig innstillinger for å sikre at verdien som beregnes er gjennomsnittshastigheten av endring i optisk tetthet for alle datapunktene som er innsamlet. Still inn detektorens avlesningsintervall til det minste som er tillatt av programvaren/instrumentet i den 40-minutters testperioden. Programvarens bølgelengdeinnstillinger skal være 405 nm minus bakgrunnen ved 490 nm. Det anbefales å bruke begge bølgelengder, men hvis avlesning av to bølgelengder ikke er tilgjengelig, skal testen avleses ved 405 nm og hver pasientprøves kinetiske kurve undersøkes for tegn til interferens (se avsnitt 9.0 for mer informasjon). Inkubasjonstemperaturen skal stilles til 37 °C. Still inn blanding/plateristing til å inntreffe i 5–10 sekunder for avlesning startes. Still inn kurvetilpassning til «lineær/lineær» eller tilsvarende. Avlesning skal starte uten noen forsinkelsestid.

8.2 Klargjøring av glukanstandard som medfølger i settet.

- Los opp ett hetteglass av glukanstandarden med det volumet av LRW som er angitt på hetteglasset, for å lage en 100 pg/ml løsning. Vortex-bland i minst 30 sekunder ved middels høy hastighet for å rekonstituere standarden (løsning 1). Glukanløsningen skal oppbevares ved 2–8 °C og brukes innen tre dager. Trinn b–e oppført nedenfor viser et eksempel på en standard kurveklargjøringsplan.
- Klارجjør 50 pg/ml standard (løsning 2) ved å blande 500 µl LRW og 500 µl med løsning 1 i et glukanfritt rør (løsning 2). Vortex-bland i minst 10 sekunder.
- Klارجjør 25 pg/ml standard (løsning 3) ved å blande 500 µl LRW og 500 µl med løsning 2 i et glukanfritt rør (løsning 3). Vortex-bland i minst 10 sekunder.
- Klارجjør 12,5 pg/ml standard (løsning 4) ved å blande 500 µl LRW og 500 µl med løsning 3 i et glukanfritt rør (løsning 4). Vortex-bland i minst 10 sekunder.
- Klارجjør 6,25 pg/ml standard (løsning 5) ved å blande 500 µl LRW og 500 µl med løsning 4 i et glukanfritt rør (løsning 5). Vortex-bland i minst 10 sekunder.

8.3 Åpne den basiske forbehandlingsløsningen.

Den basiske forbehandlingsløsningen konverterer glukaner med trippelheliks til enkelttrådede glukaner^{13,18}, som er mer reaktive i analysen. I tillegg tjener den basiske pH-en til å inaktivere proteaser og hemmere i serumet som kan interferere med analysen.²⁴

Kast hetteglasset (i henhold til laboratoriepraksis) med mindre det skal brukes i en senere test, og dekk det i så fall med Parafilm, med siden av Parafilmten som vendte mot bakpapiret.

8.4 Oppsett av mikrotiterplater

Sett opp layouten av mikrotiterplater i programvaren, med standardene (Std), de negative kontrollene (Neg) og 21 prøver (Spl). Følgende layout anbefales:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		STD1 500	STD1 500		SPL1	SPL4	SPL7	SPL10	SPL13	SPL16	SPL19	
C		STD2 250	STD2 250		SPL1	SPL4	SPL7	SPL10	SPL13	SPL16	SPL19	
D		STD3 125	STD3 125		SPL2	SPL5	SPL8	SPL11	SPL14	SPL17	SPL20	
E		STD4 62,5	STD4 62,5		SPL2	SPL5	SPL8	SPL11	SPL14	SPL17	SPL20	
F		STD5 31,25	STD5 31,25		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
G		Neg	Neg		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
H												

Oppgi standardkonsentrasjonene i programvareinnstillingene som henholdsvis 500, 250, 125, 62,5 og 31 pg/ml.

Merk at standardkonsentrasjonene som oppgis er fem ganger større enn de som klargjøres i avsnitt 8.2 ovenfor. Dette er fordi volumet av standard som brukes i analysen er 25 µl per brønn, noe som er fem ganger volumet av serumprøven som brukes (se avsnitt 8.5 b. nedenfor). Serumprøven er dermed effektivt fortyrnet fem ganger i forhold til standarden. Å multiplisere standardkonsentrasjonene med fem kompenserer for denne fortyrningen.

Merk: De utvendige brønnene kan brukes, hvis det er demonstrert at ytelsen til de utvendige brønnene er tilsvarende ytelsen de innvendige brønnene.

Merk: De negative kontrollene er ikke brukt i standardkurven.

8.5 Tilsetning av serum og basisk forbehandlingsløsning.

- Tin frosne serumprøver ved romtemperatur. Vortex-bland alle prøvene godt – i minst 30 sekunder på middels til middels høy hastighetsinnstilling.
- Overfør 5 µl av serumprøven til hver av de uttekte brønnene (UK) i minst duplikat. Gjenta for hver serumprøve.
- Tilsett 20 µl av den basiske forbehandlingsløsningen til hver brønn som inneholder serum. Sørg for at serumet og dråpene av forbehandlingsløsningen kommer i kontakt med hverandre.
- Merk: Trinn b og c kan utføres i omvendt rekkefølge etter hva teknikeren foretrekker. Merk: For å unngå utilsiktet kontaminasjon skal du sette lokket tilbake på mikroplaten etter å ha tilstøtt prøven og reagensene i brønnene.
- Agiter platen i 5–10 sekunder for å blande innholdet godt (leserens plateagitasjonsfunksjon kan brukes) og inkuber deretter i 10 minutter ved 37 °C i den inkuberende plateleseren.

8.6 Rekonstusjon av Fungitell®-reagens.

Merk: Dette kan praktisk utføres mens forbehandlingsinkuberingen pågår. Konsistens på rekonstitusjonstiden vil forbedre reproduserbarheten, da Fungitell®-reaksjonen begynner ved rekonstitusjon, men på et lavt nivå.

Rekonstituer ett hetteglass med Fungitell®-reagens ved å tilsette 2,8 ml med LRW og deretter tilsette 2,8 ml med Pyrosol-rekonstitusjonsbuffer ved bruk av 1000 µl pipetten. Dekk hetteglasset med Parafilm med den siden av Parafilmten som vendte mot bakpapiret. Virlvle hetteglasset forsiktig for å løse helt opp – ikke vortex-bland.

8.7 Tilsetning av negative kontroller og glukanstandarder.

På slutten av forbehandlingsinkuberingen av serum (avsnitt 8.5 d.) fjerner du platen fra den inkuberende plateleseren og tilsetter standardene og de negative kontrollene i platen. Anbefalt standard konsentrasjonsmønstre:

- Tilsett 25 µl med LRW i brønn G2 og G3.
- Tilsett 25 µl med 6,25 pg/ml standardløsning 5 i brønn F2 og F3, merket som 31,25 pg/ml.
- Tilsett 25 µl med 12,5 pg/ml standardløsning 4 i brønn E2 og E3, merket som 62,5 pg/ml.
- Tilsett 25 µl med 25 pg/ml standardløsning 3 i brønn D2 og D3, merket som 125 pg/ml.
- Tilsett 25 µl med 50 pg/ml standardløsning 2 i brønn C2 og C3, merket som 250 pg/ml.
- Tilsett 25 µl med 100 pg/ml standardløsning 1 i brønn B2 og B3, merket som 500 pg/ml.

8.8 Tilsetning av Fungitell®-reagens og prosedyre for plateinkubering.

- Tilsett 100 µl med Fungitell®-reagens i hver av brønnene (som inneholder negative kontroller, standarder og prøver) ved bruk av den trinnvise (repetisjons-) pipetten.
- Sett platen inn i mikroplateleseren (temperert til 37 °C), ta av lokket og rist i 5–10 sekunder.

Les av platen **uten lokket** ved 405 nm minus 490 nm, i 40 minutter ved 37 °C. Merk: Hvis instrumentet ikke gir deg nok tid til å ta av lokket mellom risting og avlesning, skal ristingen foregå uten lokket for å sikre avlesning uten lokket.

9. Beregn resultatene.

Samle inn data og analyser som følgende: Undersøk kinetiske plotter av testprøver og se etter andre mønstre enn en jevn økning tilsvarende de fra standardene. Avvis plotter som indikerer optisk interferens (f.eks. med kinetiske mønstre som ikke følger de fra standardene). Beregn den gjennomsnittlige hastigheten av endringen i optisk tetthet (milli-absorbansenheter per minutt) for alle punkter mellom 0 og 40 minutter (utført av programvaren). Interpoler prøvens konsentrasjoner av (1→3)-β-D-glukan fra standardkurven (utføres av programvaren).

10. Kvalitetskontroll

- Korrelasjonskoeffisienten (r) til standardkurven (lineær vs. lineær) skal være ≥ 0,980.
- Brønnene med 25 µl LRW er de negative kontrollene. Negative kontroller skal ha hastighetsverdier (f.eks. milli-absorbansenheter per minutt) mindre enn 50 % av de laveste standardhastighetene. Hvis ikke, skal analysen gjentas med helt nye reagenser.
- Håndtere komplekse prøver. Hvis analytikeren observerer uvanlig kinetikk i en test av en prøve, f.eks. en prøve som er uklar, misfarget eller grumset (for eksempel prøven som er svært hemolysert, lipemiske eller inneholder for mye bilirubin), må prøven fortynnes med LRW og testes på nytt. Det må tas høyde for fortynningsfaktoren i rapporteringen av resultatene, ved å multiplisere resultatet med fortynningsfaktoren. **Som referert angis fortynningsfaktoren i programvareoppsettet for prøven, og korreksjonen gjøres automatisk.**

- Merk:**
- Hver bruker av testen skal etablere et kvalitetskontrollprogram for å sikre kompetanse i utførelse av testen i samsvar med forskriftene som gjelder for deres sted.
- Det anbefales å teste serumkontrollprøver (negative, i nærheten av grenseverdiene eller sterkt positive) i sammenheng med videre laboratoriekontroll og god laboratoriepraksis. Disse er ikke inkludert i Fungitell®-settet.

11. Tolkning av resultater

NEGATIVT RESULTAT

Verdier av (1→3)-β-D-glukan < 60 pg/ml tolkes som negativt resultat.

Laboratoriet som utfører testen, skal informere bestillende lege om at ikke alle soppinfeksjoner medfører forhøyede nivåer av (1→3)-β-D-glukan i serum. Noen sopparter, for eksempel slekten *Cryptococcus*^{3,4} produserer svært lave nivåer av (1→3)-β-D-glukan. Mucorales, som *Abidia*, *Mucor* og *Rhizopus*⁴, er ikke kjent for å produsere (1→3)-β-D-glukan. Tilsvarende produserer *Blastomyces dermatitidis*, i gjærsoffpansen, lite (1→3)-β-D-glukan, og blastomykosepasienter har vanligvis nivåer av (1→3)-β-D-glukan som er udetekterbare i Fungitell®-analysen¹.

UBESTEMT RESULTAT

Verdier fra 60 til 79 pg/ml anses som usikre. Ytterligere prøvetaking og testing av serumer anbefales. Hyppig prøvetaking og testing forbedrer nytten for diagnose.

POSITIVT RESULTAT

Verdier av (1→3)-β-D-glukan ≥ 80 pg/ml tolkes som positivt resultat. Et positivt resultat definerer ikke tilstedeværelsen av sykdom og skal brukes sammen med andre kliniske funn for å etablere en diagnose.

12. Testens begrensninger

- Soppinfeksjonens vevsplassering¹⁰, innkapsling og mengden (1→3)-β-D-glukan produsert av visse sopper kan påvirke serumkonsentrasjonen av denne analytten. Redusert evne til å tilføre (1→3)-β-D-glukan til blodlopet kan redusere evnen til å detektere visse soppinfeksjoner.
- Noen personer har forhøyede nivåer av (1→3)-β-D-glukan som faller i den ubestemte sonen. I slike tilfeller anbefales ytterligere overvåkingstesting.
- Hyppigheten av pasienttesting vil avhenge av den relative risikoen for soppinfeksjon. Prøvehyppighet på minst to til tre ganger i uken anbefales for utsatte pasienter.
- Positive resultater er funnet hos hemodialysepasienter^{9,30,38}, forsøkspersoner behandlet med visse fraksjonerte blodprodukter som serumalbumin og immunoglobuliner^{23,25} og i prøver eller forsøkspersoner eksponert for gasbind og kirurgiske svamper som inneholder glukn. Pasienter trenger 3–4 dager for gjenoppretting av baselinjenivåer av (1→3)-β-D-glukan i serum etter kirurgisk eksponering for svamper og gasbind som inneholder (1→3)-β-D-glukan^{21,22}. Tingen av prøvetaking fra kirurgiske pasienter skal derfor ta hensyn til dette.
- Prøver fra hæl- eller fingerstikkmetoder er ikke akseptable siden det alkoholvætede gasbindet som brukes til å klargjøre stedet (og potensielt ansamling av blod på hudoverflaten) er vist å kontaminere prøvene. I studier så langt er det ikke observert noen forskjeller mellom prøver tatt fra kateter/veneport eller med venepunksjon^{20,27}.
- For en omfattende gjennomgang av faktorer som bidrar til falskt positive resultater for (1→3)-β-D-glukan, se Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)³⁹.
- Testnivåene ble etablert hos voksne forsøkspersoner. Normale nivåer og avskjæringsnivåer for spedbarn og barn undersøkes^{28,29}.

13. Ytelseegenskaper

13.1 Avskjæringsverdier og forventede verdier

En prospektiv studie³¹ på flere steder utført for å bestemme den diagnostiske sensitiviteten og den diagnostiske spesifisiteten til Fungitell®-analysen (se sammenligningstesting nedenfor) har vist at verdiene for beta-glukan er forhøyet ved en rekke soppinfeksjoner. Når tegn og symptomer er til stede ved 80 pg/ml eller mer, varierer den prediktive verdien for at forsøkspersonen er positiv for en soppinfeksjon fra 74,4 til 91,7 %. Ved fravær av tegn og symptomer ved mindre enn 60 pg/ml varierte de negative prediktive verdiene fra 65,1 % til 85,1 %.

13.2 Klinisk ytelse

En prospektiv studie på flere steder ble utført for å validere ytelseegenskapene til Fungitell®-analysen³¹. Testen ble sammenlignet med andre standardmetoder for deteksjon (dvs. blodtrykk, histopatologisk undersøkelse av biopsiprøve og radiologiske tegn) for mykoser og fungemier.

Tre hundre og femtini (359) forsøkspersoner ble testet i analysen. Det ble tatt én prøve fra hver forsøksperson. Forsøkspersonene med lav risiko omfattet tilsynelatende friske personer og de på de kliniske stedene som ble innlagt på sykehus av andre grunner enn soppinfeksjoner. Rekruttering av forsøkspersoner ble utført på seks kliniske steder i USA. Fire av de kliniske stedene utførte analysen og testet totalt 285 prøver. ACC testet alle 359 prøvene to ganger, men brukte kun det andre settet med resultater til å bestemme analysens ytelse. Resultatene i det andre settet med analyser var ikke statistisk forskjellige fra det første settet.

- Diagnostisk sensitivitet** Sensitiviteten for hele pasientpopulasjonen (359), inkludert cryptococcosis-pasienter, var 65,0 % (95 % konfidensintervall (KI) på 60,1–70,0 %) (Tabell 1)).
- Diagnostisk spesifisitet** Spesifisiteten var 81,1 % (77,1–85,2 % KI). Da de 170 forsøkspersonene negative for soppinfeksjon og tilsynelatende friske personer ble analysert, var spesifisiteten 86,5 % med analysen (82,8–90,1 % KI). Da de ytterligere 26 forsøkspersonene som var negative for soppinfeksjon, men med andre forstyrrelser ble inkludert, ble det observert en spesifisitet på 81,1 % (77,1–85,2 % KI).

Sted	ACC-testresultater ved 60–80 pg/ml avskjæringsnivået etter sted						Totalt	
	Bevist/sannsynlig sensitivitet ≥80 pg/ml			Spesifisitet <60 pg/ml				
	Pos/Klin. Pos	Sensitivitet	Positiv Prediktiv Verdi	Neg/Klin. Neg	Spesifisitet	Negativ Prediktiv Verdi		
1	32/50	64,0	97,0	39/40	97,5	69,6	1	90
2	14/24	58,3	93,3	17/20	85,0	70,8	5	44
3	14/19	73,7	46,7	36/54	66,7	90,0	3	73
4	25/33	75,8	92,6	37/43	86,0	86,0	6	76
5	21/36	58,3	80,8	30/39	76,9	69,8	6	75
6	0/1	0,0	1/A	0/0	1/A	0,0	0	1
Totalt	106/163	65,0	80,9	159/196	81,1	76,8	21	359

Når resultatene oppnådd av ACC (359 prøver) og av de kliniske stedene (285 prøver) sammenlignes mot kliniske diagnose, er sensitiviteten 64,3 % (58,8–69,9 % KI) for ACC og 61,5 % (55,9–67,2 % KI) for stedene. Spesifisiteten er 86,6 % (82,7–90,6 % KI) for ACC sammenlignet med 79,6 % (74,9–84,3 % KI) for stedene

Candidiasis

Det var 107 forsøkspersoner med positiv diagnose for candidiasis i den prospektive studien. 83 av de 107 var positive med Fungitell®-analysen.

Ett hundre og syttifem candidiasis-bibliotekprøver ble levert til Associates of Cape Cod, Inc. 145 av de 175 var positive med analysen.

Aspergillose

Totalt 10 forsøkspersoner var positive for aspergillose. 8 av de 10 var positive med analysen.

Fusariose

Tre forsøkspersoner var positive for fusariose. 2 av de 3 var positive med analysen.

Behandling med soppdrepende legemiddel

Tilstedeværelsen eller fraværet av behandling med soppdrepende legemiddel hadde ingen statistisk signifikant effekt på analysens sensitivitet. 118 forsøkspersoner ble bevist positive for invasiv soppinfeksjon og var på soppdrepende behandling. 82 var positive med analysen (sensitivitet 69,5 %; 61,2–77,8 % KI). I tillegg ble gjuefreie (24) forsøkspersoner bevist positive, men var ikke på noen soppdrepende behandling. 18 var positive med analysen (sensitivitet 75 %; 57,7–92,3 % KI).

13.3 Testkorrasjoner

Fire av de kliniske stedene analyserte totalt 285 prøver. Testresultatene fra stedene korrelerte kvantitativt ved 96,4 % med resultatene fra Associates of Cape Cod, Inc. Korrasjonene til Associates of Cape Cod, Inc. med de ulike teststedene varierte fra 90,6 % til 99,2 %.

13.4 Presisjon

Fungitell®-analysen ble evaluert for presisjon (dvs. repeterbarhet og reproduserbarhet) ved å bruke ti (10) forskjellige prøver som hver ble testet av tre teststeder på tre forskjellige dager. Variasjonen innen analysen varierte fra 0,9 % til 28,9 % og fungerte som et mål på repeterbarhet. Variasjonen mellom analyser varierte fra 3,9 % til 23,8 % og fungerte som et mål på reproduserbarhet. De fire (4) negative prøvene ble ekskludert fra begge analysene.

13.5 Måleområde og linearitet

Resultatene uttrykkes i pg/ml serum og varierer fra ikke-detekterbar (< 31 pg/ml) til > 500 pg/ml og skrives ut av programvaren eller avleses fra standardkurven. Nøyaktige verdier over 500 pg/ml forutsetter at prøven fortynnes med LAL-reagensvann og testes på nytt. Som indiker i avsnittet Kvalitetskontroll skal korrelasjonskoeffisienten (r) til standardkurven (lineær vs. lineær) som dekker måleområdet til Fungitell®-analysen være ≥ 0,980, og de negative kontrollene skal ha hastighetsverdier (f.eks. milli-absorbanseheter per minutt) mindre enn 50 % av den laveste standardhastigheten. Hvis ikke, skal analysen gjentas med helt nye reagenser.

13.6 Interfererende stoffer














- Følgende prøvetilstander kan interferere med et nøyaktig Fungitell®-analyseresultat:
 - Misfargede eller grumsete prøver som dem som er svært hemolyserte, lipemiske eller inneholder for mye bilirubin, kan forårsake optisk interferens med analysen. Hvis slike prøver testes, skal testresultatene undersøkes for bevis på optisk interferens og/eller uvanlige kinetiske mønster.

- Forhøyede nivåer av immunoglobulin G, som for eksempel kan finnes i serumet på grunn av myelomatose, kan føre til utfelling i reaksjonsblandingen ved tilsetning av Fungitell® i det forbehandlede serumet¹⁸.
- I skrivende stund er det ikke beskrevet noen annen aktiverende faktor G (deteksjonselement for (1→3)-β-glukan) for Fungitell®-reagens enn (1→3)-β-glukan. I noen studier, hvor det er fremmet påstander om kryssreaktivitet, har behandling av det antatt aktiverende materialet med renset (1→3)-β-glukanase eliminert signalet, noe som viste at den observerte aktiveringen skyldtes kontaminasjon av (1→3)-β-glukan¹¹. Kontaminasjon av serinproteaser kan også føre til frigjøring av para-nitroanilin i Fungitell®-reaksjonsblandinger, men disse inaktiveres som en del av forbehandlingsprosessen.


14. Metaanalyser

I tillegg har det vært publisert mange fagfellevurderte studier om serum (1→3)-β-D-glukan-basert støtte for diagnose av invasiv soppyskdom, inkludert metaanalyser av diagnostisk ytelse^{12,34,35,36,37}.

15. Symbolforklaring

	«Brukes innem»		«Se bruksanvisningen»
	«Inneholder tilstrekkelig for ‘N’ tes-ter»		«Autorisert representant»
	«Partikode»		«CE-merke»
	«In vitro-diagnostisk utstyr»		«Kun på resept»
	«Katalognummer»		«Forsiktig»
	«Temperaturgrense»		«Holdes unna sollys»
	«Produsent»		

16. Autoriserte representanter

 Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2514 AP, Haag, Nederland

Australsk sponsor: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park 201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australia

Merk: Avrlørlige hendelser som har oppstått i forbindelse med enheten, skal rapporteres til produsenten og den kompetente myndigheten i medlemslandet hvor brukeren og/eller pasienten er etablert.

17. Kontaktinformasjon

Hovedkontor

Associates of Cape Cod, Inc.
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 USA
Tlf: (888) 395-2221 or (508) 540-3444 • Faks: +1 508-540-8680
E-post: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

Storbritannia

Associates of Cape Cod Int’l, Inc.
Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool L33 7RX, Storbritannia
Tlf: (44) 151–547–7444 • Faks: (44) 151–547–7400
E-post: info@accuii.co.uk • www.accuii.co.uk

Europa

Associates of Cape Cod Europe GmbH

Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Tyskland
Tlf: (49) 61 05–96 10 0

18. Revisjonshistorikk

Rev. 0 til 11: Endret testing i triplikat til testing i duplikat. Erstattet vann av reagenskvalitet med LAL-reagensvann. Kombinerte KCL- og KOH-komponentene i basisk forbehandlingløsning. Fjernet mikroplate fra settet og førte det opp som nødvendig materiale som ikke følger med. Endret EF-representant og la til australsk sponsor. Mindre avklaringer, formatering, la til symboler, ytterligere interfererende stoffer.

19. Referanser

- Odabasi, Z., Patznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-galucan 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.
- 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.
- Binder, U., Maurer, E., and Lass-Flörl, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
- 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.
- 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-Flörl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M. and Anaisse, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillus. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
- Livintseva, A.P., Lindsley, W.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 diagnosis and monitoring response to treatment during the multisite outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.
- Odabasi, Z., Mattuzzi, 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.
- Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in *Limulus*. Thrombosis Res. 68: 1-32.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoayagi, T., Iden, 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 gauge types. Tokoku J. Exp. Med. 217: 117-121.

- Mohr, J., Patznick, 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.
- Held, J, Wagner D.β-D-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2011;17:118-22.
- Tamura, H., Arimoto, Y., Tanaka, S., Yoshida, M., Obayashi, T. and Kawai, T. 1994. Automated kinetic assay for endotoxin and (1→3)-β-D-Glucan in human blood. Clin. Chim. Acta 226: 109-112.
- 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.
- Racil, Z., Kocmanova, I., Lengeroova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Tamisova, S., Rodriguez, J., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3-β-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;59:1616-22.
- Posteroaro B., De Pascale, G., Tambarello, 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.
- 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-galucan test in children. Clin. Vaccine Immunol. 14: 924-925.
- Goudjil, S., Kongofo, 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.
- 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 Waldenström's macroglobulinemia. J.Clin. Microbiol. 50:1054-6.
- 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.
- Karaeogoropoulos 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.
- 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.
- 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 (ECL3). Clin Infect Dis. 2012; 54:633-43.
- 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 jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol. 2012; 50:7-15.
- Karaeogoropoulos 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.
- He S¹, Hang JP², Zhang L³, Wang F³, 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.
- Wong J, Zhang Y, Patidar A, Vilar E, Finkelman M, Farrington K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artefact? Limitations of the *Limulus* Amoebocyte Lysate Assay and Role of (1→3)-β-D Glucan. PLoS One. 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.
- Finkelman M. Specificity Influences in (1→3)-β-D-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. J Fungi (Basel) 2020 Dec 29;7(1):14

Ytterligere referanse finnes på nettstedet vårt på Fungitell.com

En **hurtigveiledningsoversikt over testprosedyren** kan lastes ned fra nettstedet til Fungitell.com på: https://www.fungitell.com/pdfs/Fungitell_ProcedureOutline_PR18-016.pdf