

## Analyse til (1→3)-β-D-Glukan i serum

**FUNGITELL**<sup>®</sup>

### Brugervejledning



ASSOCIATES OF  
**CAPE COD**  
INCORPORATED  
124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA  
Telefon: +1 508 540-3444  
Gratis nummer: +1 888 395-2221  
Fax: +1 508 540-8680  
Teknisk service: +1 800 848-3248  
Kundeservice: +1 800 525-8378

PN001268-da Rev 1

Revideret februar 2011

#### BRUGSFORMÅL

Fungitell-analysen er en proteasezymogen-baseret kolorimetrisk analyse for kvalitativ bestemmelse af (1→3)-β-D-Glukan i serum hos patienter med symptom på, eller medicinske tilstande, der kan prædisponere patienter for invasiv svampeinfektion. Serum koncentrationen på (1→3)-β-D-Glukan, en vigtig cellevægskomponent i forskelligartede medicinsk vigtige svampe (1), kan bruges som hjælp ved diagnosticeringen af dybtliggende mycosis og svampeinfektioner (2). Et positivt resultat indikerer ikke hvilken svampeklasse der forårsager infektionen.

Fungitell bør benyttes sammen med andre diagnostiske procedurer såsom mikrobiologisk kultur, histologisk undersøgelse af biopsiprover og radiologiske undersøgelser.

<b>Vigtigt – det anbefales at denne information gives til den rekvirerende læge:</b>
Fungitell-analysen kan ikke påvise særlige svampearter som slægten <i>Cryptococcus</i> , som producerer meget lave niveauer af (1→3)-β-D-Glukan (3,4). Analysen påviser ligeledes ikke Zygomycetes såsom <i>Absidia</i> , <i>Mucor</i> og <i>Rhizopus</i> (1,4), som ikke vides at producere (1→3)-β-D-Glukan. Derudover producerer gæringsfasen af <i>Blastomyces dermatitidis</i> kun lidt (1→3)-β-D-Glukan og vil muligvis ikke blive påvist af prøven (5).
<b>Inkluder denne redegørelse når testresultaterne for glukannalysen rapporteres.</b>

#### SAMMENDRAG OG FORKLARING

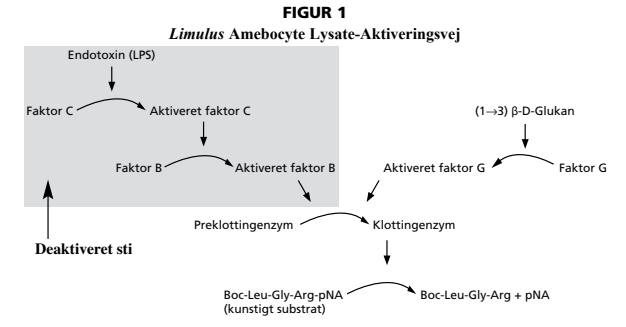
Der er en stigende udbredelse af svampeinfektion af opportunistiske patogener, især hos patienter med nedsat immunforsvar (6,7,8). Invasive svampesygdomme, som opportunistiske infektioner, er almindelige hos patienter med hæmatologisk malignitet og AIDS, og udgør et voksende antal hospitalinfektioner, især blandt modtagere af organtransplantat samt øvrige patienter, der modtager immunsuppressiv behandling (9,10). Mange svampesygdomme erhverves ved at inhalere svampesporer, der stammer fra jorden, planteaffald, luftventilationssystemer og/eller udsatte overflader. Nogle opportunistiske svampe er til stede i/på menneskehud, tarmkanal og slimhinder (11,12). Diagnose af invasiv mycosis og svampeinfektion er normalt baseret på ikke-specifikke diagnostistiske eller radiologiske teknikker. For nyligt er biologiske markører for svampeinfektioner blevet gjort tilgængelige blandt diagnostiske metoder (2).

Opportunistiske svampepatogener inkluderer *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, og *Pneumocystis jirovecii*. Det (1→3)-β-D-Glukan som er produceret af disse og andre organismer kan påvises af Fungitell-analysen (1,8,13).

#### PROCEDURENS PRINCIPPER

Fungitell-analysen måler niveauer af (1→3)-β-D-Glukan. Analysen er baseret på en modifikation af *Limulus* Amebocyte Lysate (LAL) aktiveringsvej (14,15,16,17), Figur 1. Fungitell-reagenset er modificeret til at eliminere faktor C og således til kun at reagere på (1→3)-β-D-Glukan gennem den Faktor G-medierede aktiveringsvej.

(1→3)-β-D-Glukan aktiverer faktor G, et serinproteasezymogen. Den aktiverede faktor G konverterer det inaktive præklottingenzym til det aktive klottingenzym, som til dernæst spalter pNA fra det kromogene peptidsubstrat, Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, og skaber en kromofor som kan læses ved 405 nm. Den Fungitell kinetiske analyse beskrevet nedenfor er baseret på bestemmelsen af den optiske densitet for hver enkelt prøve. Resultaterne relateres til en standardkurve for at give estimater af (1→3)-β-D-Glukan koncentration i prøverne.



#### MATERIALER LEVERET MED FUNGITELL-KITSET

Fungitell-kitset er til *in vitro* diagnostisk brug. Det følgende materiale leveret med hvert kit er tilstrækkeligt til at prøvebestemme 110 brønde på 2 mikrotiterplader (55 brønde på hver):

- Fungitell<sup>®</sup> reagens, et frysetørret (1→3)-β-D-Glukan specifikt LAL (to hætteglas)
- Pyrosol<sup>®</sup> rekonstitutionsbuffer, Tris HCl 0,2 M pH 7,4 (to hætteglas). Yderligere hætteglas med Pyrosol rekonstitutionsbuffer (katalognummer BC051) kan købes separat.
- Glukanstandard, frysetørret pachyman og inert fyldstof med (1→3)-β-D-Glukan indhold angivet på etiketten (to hætteglas)
- Reagensvand (RGW) (to flasker)
- Pyroplader: Fladbundede, 96-brønde, ikke coatede mikroplader med låg, fri for interfererende glukane (to)
- KCl 1.2 M (et hætteglas )
- KOH 0.25 M (et hætteglas)

Alt ovenstående med undtagelse af standarden, er fri for interfererende niveauer af (1→3)-β-D-Glukan

#### MATERIALER PÅKRÆVET MEN IKKE MEDLEVERET

Alle materialer skal være fri for interfererende glukane. Glasprodukter skal være varmbehandlet pyrogenfrit ved mindst 235°C i 7 timer (eller en valideret tilsvarende metode) for at være egnede til brug.

- Pipettespidser\* (250 µL - Vnr PPT25, 1000 µL - Vnr PPT10)
- Pipetter til 5-25 µL, og 100-1000 µL volumen
- Step-pipetter, til 100 µL spidser
- Reagensglas\* for standardserieforberedelser og kombineret serumbehandlingsreagens. (13 x 100 mm Borosilikat glas - Cat# TB013)
- Inkubationspladelæser (37°C) med mulighed for dobbelt bølgelængdelæsning ved 405 og 490 nm, med et dynamisk udbredelsesområde op til mindst 2,0 absorberende enheder, sammen med relevant computer-baseret kinetisk prosvsoftware.
- Sterile, glukane-fri opbevaringsglas med skruelåg (de fleste glas som er certificeret til at være RNase, DNase, og pyrogen-fri er fri for interfererende niveauer af (1→3)-β-D-Glukan).
- Parafilm<sup>®</sup>

\* Disse produkter, leveret af Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), er certificerede og fri for interfererende glucaner.

**Bemærk:** glaspipetter med bomuldspropper er en potentiel kilde til glukankontamination.

#### ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

*Dette produkt er til IN VITRO DIAGNOSTISK BRUG.*

Fungitell-analysen kræver nøje opmærksomhed omkring teknik og testmiljø. Grundig oplæring af teknikeren i analysemetoden og i undgåelse af kontamination er kritisk for prøvens effektivitet.
---

- Visse svampearter producerer meget lave niveauer af (1→3)-β-D-Glukan og påvises sædvanligvis ikke med Fungitell-analysen. Disse inkluderer arterne *Cryptococcus* (3,4) og Zygomycetes derunder *Absidia*, *Mucor* og *Rhizopus* (1,4). Derudover producerer *Blastomyces dermatitidis* i gæringsform kun lave niveauer af (1→3)-β-D-Glukan, og kan derfor normalt ikke påvises med analysen (5).
- Mundpipeter ikke. Undgå at ryge, spise og drikke i områder, hvor prøver eller reagenser bruges.
- Etabler et rent miljø at udføre prøven i. Brug materialer og reagenser som er certificeret til at være fri for interfererende niveauer af (1→3)-β-D-Glukan. Bemærk at glukane såvel som svampekontamination fra den menneskelige krop, tøj, beholdere, vand og luftbåret støv kan forårsage interferens i Fungitell-analysen.
- Brug ikke reagenser efter udløbsdatoen.

- Misfarvede eller uklare prøver. Prøver som er ekstremt hæmolyserede, lipemiske eller indeholder meget bilirubin kan muligvis forårsage interferens. Såfremt de testes, bør testresultaterne undersøges for bevis på optisk interferens og/eller usædvanlige kinetiske kurvemønstre.
- Anvend beskyttelsestøj og puderfri handsker ved håndtering af patientprøver.
- Serum fra hæmodialyserede patienter kan indeholde høje niveauer af (1→3)-β-D-Glukan, når visse cellulose dialysemembraner er brugt (18,19). Hæmodialyse med cellulose triacetate membraner eller polymethyl methacrylat membraner synes ikke at påvirke prøverne.
- Kirurgisk gaze og tamponer kan lække høje niveauer af (1→3)-β-D-Glukan, der kan forårsage et kontaminationsbaseret forbigående positivt resultat i Fungitell-analysen, som det har været observeret hos patienter efter operation (20,21).
- Kits med beskadiget indhold bør ikke bruges.
- Materialer som er udsat for potentielt kontaminerende (patogen-indholdende) væsker skal bortskaffes i overensstemmelse med den lokale regler.

#### Reagensopbevaring

Opbevar alle reagenser som leveret ved 2-8°C i mørke. Rekonstitueret Fungitell-reagens skal opbevares ved 2-8°C og bruges inden 2 timer. Alternativt kan rekonstitueret Fungitell-reagens nedfryses ved -20°C i op til 20 dage, optøs én gang og anvendes.

#### Håndtering af prøver

- Prøvetagning: Serumprøver skal opsamles i sterile vakuum rør (rød hætte), eller serumseparationsglas (SST) og henstå til koagulering. Serum separeres derpå fra koaglet og overføres til en passende beholder, som er fri for interfererende niveauer af (1→3)-β-D-Glukan.
- Opbevaring af prøver: Serumprøver kan opbevares ved 2 - 8 °C for analyse eller nedfryses ved -20 grader eller koldere. Testning bør foretages omgående for at undgå risiko for prøveforringelse.
- Mærkning af prøver: Prøver skal markeres tydeligt i overensstemmelse med godkendt laboratoriepraksis.

#### PROCEDURE

Bemærk: Programmeringen kan variere mellem forskellige instrumenter og software. Generelt vil følgende gælde: Indstil pladelæsersoftwaren til at indsamle data i V-mean mode. Tjek at softwaremanualen har de rigtige indstillinger, for at sikre at den beregnede værdi er den gennemsnitlige optiske absorbansændring for alle indsamlede datapoints. Indstil intervallet for instrumentets ”aflysninger” til det minimalt tilladte af softwaren og instrumentet over prøvens 40 minutters varighed. Softwarens bølgelængdeindstillinger skal være 405 nm minus baggrunden på 490 nm. Såfremt dobbelt bølgelængdeaflysning ikke er tilgængelig læses ved 405 nm. Inkubationstemperaturen skal sættes til 37°C. Rystning af plade skal ske 5 - 10 sekunder for aflæsningsens begyndelse. Kurvens indstilling skal være ”lin-lin” eller tilsvarende. Aflæsning skal påbegyndes uden forsinkelse.

- Forberedelse af glukane-standard leveret i kittet.
  - Oplos et hætteglas af glukane-standarden med den reagensvandvolumen RGW anført på hætteglasset for at opnå en 100 pg/mL opløsning. Vortex-blandes mindst 30 sekunder for at resuspendere (opløsning 1). Glukanopløsningen skal opbevares ved 2-8°C og bruges inden tre dage. Trin b-e nedenfor illustrerer et eksempel på et standardkurveforberedelseskema.
  - Klargør 50 pg/mL standard ved at blande 500 µL RGW og 500 µL af opløsning 1 i en glukane-frit rør (opløsning 2). Vortex-blandes i mindst 10 sekunder.
  - Klargør 25 pg/mL standard ved at blande 500 µL RGW og 500 µL af opløsning 2 i en glukane-frit rør (opløsning 3). Vortex-blandes i mindst 10 sekunder.
  - Klargør 12.5 pg/mL standard ved at blande500 µL RGW og 500 µL af opløsning 3 i et glukane-frit rør (opløsning 4). Vortex-blandes i mindst 10 sekunder.
  - Klargør 6.25 pg/ml standard ved at blande 500 µL RGW og 500 µL af opløsning 4 i et glukane-frit rør (opløsning 5). Vortex-blandes i mindst 10 sekunder.
- Klargøring af serumforbehandlingsreagens. Alkalisik serumforbehandlingsreagens konverterer triple-helix glukamer til single glukane (16,17), som er mere reaktive i prøven. Den høje pH inaktiverer også serinproteaserne og serin-protease-inhibitorer i serum, som kan give hhv. et falsk positivt og et falsk negativt resultat (22).
  - Klargør serumforbehandlingsreagenset ved at blande lige mængder af 0.25 M KOH og 1.2 M KCl, og Vortex-bland grundigt. Anbefalede mængder er op til 900 µL af hvert reagens, hvilket giver mulighed for to præparationer. Dæk hætteglassene med Parafilm til brug med den anden plade. Dæk hætteglasset med Parafilm med den side af Parafilmens som vendte mod beskyttelseapparet.

- Bemærk: Ved optegnelse af standardkurven, multiplicer koncentrationen af standarderne med fem således, at sekvensen er fra 500 til 31 pg/mL. Indtast standarderne i programindstillingen som henholdsvis 500, 250, 125, 62.5, og 31 pg/mL.

*Volumen af standarder i prøven er 25 µL pr. brønd eller fem gange volumen af serumprøven. Mikrotiterpladen med standarderne (St), negative kontroller (Neg) og 21 ukendte (Uk) hver især analyseret i duplikat opsættes som følger:*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>												
<b>B</b>		St1	St1		Uk1	Uk4	Uk7	Uk10	Uk13	Uk16	Uk19	
<b>C</b>		St2	St2		Uk1	Uk4	Uk7	Uk10	Uk13	Uk16	Uk19	
<b>D</b>		St3	St3		Uk2	Uk5	Uk8	Uk11	Uk14	Uk17	Uk20	
<b>E</b>		St4	St4		Uk2	Uk5	Uk8	Uk11	Uk14	Uk17	Uk20	
<b>F</b>		St5	St5		Uk3	Uk6	Uk9	Uk12	Uk15	Uk18	Uk21	
<b>G</b>		Neg	Neg		Uk3	Uk6	Uk9	Uk12	Uk15	Uk18	Uk21	
<b>H</b>												

Bemærk 1: De ydre brønde kan bruges, såfremt det er blevet påvist, at udførelsen i de udvendige brønde er sammenlignelig med de indre brønde. Bemærk 2: For at undgå tilfældig kontamination lægges låget på mikropladen efter isætning af prøver og reagenser i brøndene. Fjern låget for placering af pladerne i aflæseren for at undgå optisk interferens fra kondensation.

- Serum og forbehandlingsreagens isættes.
  - Optø nedfrosne serumprøver ved stuetemperatur. Vortex-bland alle prøver grundigt.
  - Overfør 5 µL serumprøve til hver af de planlagte brønde (Uk) i mindst duplikat. Gentag for hver serumprøve.
  - Isæt 20 µL serum forbehandlingsreagens til hver brønd indeholdende serum. *Bemærk:* Trin b og c kan blive udført i omvendt rækkefølge afhængig af teknisk præference.
  - Ryst pladen i 5-10 sekunder for at blande brøndindholdet (aflæserens pladerystnings-funktion kan benyttes) inkuber derefter i 10 minutter ved 37°C i inkubatorpladelæseren.
- Rekonstitution af Fungitell-reagens. Bemærk: Dette kan med fordel udføres, mens forbehandlingsinkubationen er i gang.
  - Rekonstituer et hætteglas Fungitell-reagens ved at tilføje 2,8 mL RGW og tilføj herefter 2,8 mL Pyrosol rekonstitueringsbuffer ved at bruge 1000 µL pipetter. Dæk hætteglasset med Parafilm ved at bruge Parafilm siden, der vender mod papirbagsiden. Ryst hætteglasset forsigtigt for at oplosse fuldstændigt – Vortexbland ikke.
- Isæt negative kontroller og glukanestandarder. Ved slutningen af serum-forbehandlingsinkubationen (trin 3.d), fjern pladen fra den inkuberende pladelæser og sæt standarderne og negativ kontrol i pladen.
  - Sæt 25 µl RGW i brønd G2 og G3.
  - Sæt 25 µl 6.25 pg/mL standardopløsning 5 i brønd F2 og F3.
  - Sæt 25 µl 12.5 pg/mL standardopløsning 4 i brønd E2 og E3.
  - Sæt 25 µl 25 pg/mL standardopløsning 3 i brønd D2 og D3.
  - Sæt 25 µl 50 pg/mL standardopløsning 2 i brønd C2 og C3.
  - Sæt 25 µl 100 pg/mL standardopløsning 1 i brønd B2 og B3.
- Fungitell-reagens tilsætning og pladeinkubationsprocedure.
  - Sæt 100 µl Fungitell-reagens i hver brønd (indeholdende negative kontroller, standarder og prøver) ved at bruge step-pipetten.
  - Anbring pladen i mikropladelæseren (kalibreret til 37°C) med låg på og ryst i 5-10 sekunder. Aflæs pladen uden låg ved 405 nm minus 490 nm i 40 minutter ved 37°C. Hvis baggrundssubstruktionen (på 490 nm) er utilgængelig, er det acceptabelt at aflæse ved 405 nm. Hvis pladens rystefunktion er utilgængelig med mikropladelæseren kan en ekstern mikropladeryster bruges.
  - Indsaml data og analyser som følger: Undersøg de optiske absorbansprøvekurver, og tjek for andre kinetiske spormønstre end en jævn stigning sammenlignet med standarderne. Ugyldiggør kurver, der indikerer optisk interferens. Beregn den gennemsnitlige optiske absorbansændring (milli-absorbansenheder pr. minut) for alle punkter mellem 0 og 40 minutter.

#### FORKLARING AF RESULTATER

Fungitell-analysens resultater skal bruges som en hjælp til diagnosticering af invasiv svampeinfektion. Resultaterne er udtrykt i pg/ml serum og rangerer fra ikke-påviseligt (<31 pg/ml) til > 500 pg/ml og er udskrivet af programmet eller aflæst fra standardkurven. Præcise værdier over 500 pg/ml kræver, at prøven fortyndes i RGW og gentestes.

Laboratoriet som udfører testen skal informere den rekvirerende læge om at Fungitell-analysen ikke påviser visse svampearter såsom slægten *Cryptococcus* (3,4), som producerer meget lave niveauer af (1→3)-β-D-Glukan. Testen påviser heller ikke *Zygomycetes* som *Absidia*, *Mucor* og

*Rhizopus* (1,4), som ikke er kendt for at producere (1→3)-β-D-Glukan. Tilsvarende producerer *Blastomyces dermatitidis*, i sin gæringsfase, kun lidt (1→3)-β-D-Glukan, og kan normalt ikke påvises (5).

**NEGATIVT RESULTAT**

(1→3)-β-D-Glukan værdier < 60 pg/mL tolkes som negative.

**POSITIVT RESULTAT**

Værdier ≥80 pg/ml tolkes som positive. Et positivt resultat betyder at (1→3)-β-D-Glukan er påvist. Et positivt resultat definerer ikke sygdommens tilstedeværelse og skal bruges i forbindelse med andre kliniske resultater for at danne grundlag for en diagnose.

**UBESTEMMELIGT RESULTAT**

Værdier mellem 60 og 79 pg/mL antyder en mulig svampeinfektion. Yderligere prøver og analyse af sera anbefales. Lævnlige prøver og tests øger anvendeligheden ved diagnosticering.

**KVALITETSKONTROL**

- Korrelationskoefficienten (r) af standardkurven (linær vs. linær) skal være > 0,980.
- Brøndene med 25 µL af reagensvand (RGW) udgør de negative kontroller. Negative kontroller skal have faktiske optiske absorbansværdier (V-mean) under 50% af laveste standard. Hvis ikke, skal prøven gentages med helt friske reagenser.
- Håndtering af problemprøver. Hvis analytikeren observerer usædvanlig optisk absorbans-kinetik i en prøve, der er uklare, misfarvede eller grumsede prøver (såsom stærkt hæmolyserede, lipemiske eller som indeholder meget bilirubin), skal prøverne fortyndes i reagensvand og testes igen. Fortyndingen inkluderes i rapporteringen af resultaterne ved at gange resultatet med fortyndingsfaktoren. Typisk er fortyndingsfaktoren indtastet i programindstillingen for prøven, og korrektionen dermed automatisk tilføjet.
- Kontrolanalyse ved grænseværdier og yderst positive niveauer bør gennemføres for at verificere at reagenset er i orden og analysen korrekt udført. Hver testbruger skal etablere et kvalitetskontrolprogram for at sikre en professional udførelse af testen.

**TESTENS BEGRÆNSNINGER**

- Svampeinfektionens vævslokalisering (10), indkapsling og mængden af (1→3)-β-D-Glukan produceret af visse svampe kan muligvis påvirke serumkoncentrationen i denne analyt. Reduceret evne til at overføre (1→3)-β-D-Glukan til blodbanen kan reducere evnen til at påvise visse svampeinfektioner. *Cryptococcus spp.* producerer lavt niveau af (1→3)-β-D-Glukan (3,4). *Zygomycetes*, inklusive *Absidia spp.*, *Mucor spp.* og *Rhizopus spp.* er ikke kendt for at producere (1→3)-β-D-Glukan (1,4). I sin gæringsfase producerer *Blastomyces dermatitidis* kun lidt (1→3)-β-D-Glukan, og testresultater er normalt negative (5).
- Nogle personer har øget niveau af (1→3)-β-D-Glukan som falder inden for den ubestemmelige zone. I sådanne tilfælde anbefales yderligere testing.
- Hypigheden af patienttesting afhænger af den relative risiko for svampeinfektion. Prøvefrekvens på mindst to til tre gange pr. uge anbefales for patienter i risikozonen.
- Positive resultater er fundet i hæmodialyse patienter (18,19), patienter behandlet med visse fraktionerede blodprodukter som serum albumin og immunglobuliner (23) og i prøver eller patienter udsat for glukanimidholdende gaze. Patienter kræver 3 - 4 dage for normalisering af det grundlæggende serumniveau (1→3)-β-D-Glukan, efter udsættelse for kirurgiske (1→3)-β-D-Glukan-indeholdende tamponer og gaze (20,21). Derfor skal timing for testing af kirurgiske patienter tages i betragtning.
- Prøver opnået med hæl eller fingerspidsmetoder er uacceptable, da den alkoholsugende gaze brugt til at klargøre stikstedet (og potentielt hudoverfladens opsamling af blod) har vist sig at kontaminere prøverne.
- Testniveauer er etableret for voksne patienter. Børn og pædiatriske normalniveauer nærmer sig de voksne (24). Der mangler data for neonatale og børn under seks måneder.
- Rapporteringsområdet for analysen ligger mellem 31 pg/ml og 500 pg/ml. Værdier under 31 pg/ml skal rapporteres som <31 pg/ml. Værdier >500 pg/ml skal rapporteres som >500 pg ml, med mindre prøven er blevet fortyndet.

**FORSTYRENDE STOFFER**

Følgende prøvebetingelser kan forstyrre et nøjagtigt Fungitell-analyseresultat:

- Hæmolyse
- Prøve uklarhed forårsaget af lipemia
- Tilstedeværelsen af synligt bilirubin
- Uklart serum

**FORVENTEDE VÆRDIER**

Betagluknsværdier er forhøjede ved en række svampeinfektioner. Når tegn og symptomer er til stede ved et niveau på 80 pg/mL eller højere, varierer den prædiktive værdi for, at patienten er positiv bærer af svampeinfektion fra 74,4 til 91,7% (Tabel 2). Ved manglende tegn og symptomer på mindre end 60 pg/mL, varierer den negative prædiktive værdi fra 65,1% til 85,1%.

**PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA**

**Sammenlignende Analyse**

Et multi-center, prospektivt studie for at validere performance karakteristika for Fungitell-analysen blev udført (25). Analysen blev sammenlignet med andre standardmetoder for påvisning (som f.eks. blodkultur, histopatologisk undersøgelse af biopsi prøver og radiologiske tegn) for mycosis og svampeinfektion.

Trehundrede og ni og halvtreds (359) patienter blev testet med analysen. En enkelt prøve blev taget fra hver patient. Patienter i lavrisiko gruppen omfattede tilsyneladende sunde personer, samt patienter der var indlagt på hospitalet af andre årsager end svampeinfektioner. Patientinkludering skete på seks kliniske afdelinger i USA. Fire af de kliniske afdelinger udførte analysen og testede i alt 285 prøver. ACC analyserede alle 359 prøver to gange, men brugte kun anden rundes resultater til at vurdere analysen. Resultaterne af anden rundes analyser afveg ikke statistisk fra første runde.

Sensitiviteten for hele patientpopulationen (359) inklusive *Cryptococcus* var 65,0% (60,1 – 70,0% Konfidensinterval (C.I.)). Specificiteten var 81,1% (77,1 – 85,2 % C.I.) (Tabel 1). Resultaterne fra de fire laboratorier fik sensitiviteten til at variere fra 50,0% til 66,7%. Specificiteten lå i området fra 70,0% til 93,0% på de 285 analyserede prøver (Tabel 2).

<b> Tabel 1</b>	<b> ACC analyseresultater ved 60-80 pg/mL grænseværdi pr laboratorium</b>							
Total labs	Pos/Klin. Pos	Bevist/sandsynligt <b>Sensitivitet</b> >=80pg/mL		Specificitet <60pg/mL		Ikke entydig 60<=X<80	Total	
		<b>Sensitivitet</b>	Positiv Forudsigelig Værdi	Neg/Klin. Neg	<b>Specificitet</b>			Negativ prædiktiv værdi
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	Ikke tilgængelig	0/0	Ikke tilgængelig	0,0	0	1
Total*	106/163	65,0	80,9	159/196	81,1	76,8	21	359

**\*Inkluderer en prøve fra laboratorium 6.**

Når resultaterne der blev opnået af ACC (359 prøver) og de, som blev opnået af de kliniske laboratorier (285 prøver) er sammenlignet med kliniske diagnoser, er sensitiviteten 64,3% (58,8% - 69,9% CI) for ACC og 61,5% (55,9% - 67,2% CI) for laboratorierne. Specificiteten er 86,6% (82,7% - 90,6% CI) for ACC versus 79,6% (74,9% - 84,3% CI) for laboratorierne (Tabel 2).

<b> Tabel 2</b>	<b> Laboratorieresultater ved 60-80 pg/mL grænseværdi per laboratorium</b>							
Total labs	Pos/Klin. Pos	Bevist/sandsynligt <b>Sensitivitet</b> >=80pg/mL		Specificitet <60pg/mL		Ikke entydig 60<=X<80	Total	
		<b>Sensitivitet</b>	Positiv Forudsigelig Værdi	Neg/Klin. Neg	<b>Specificitet</b>			Negativ prædiktiv værdi
1	32/50	64,0	74,4	28/40	70,0	65,1	4	90
2	12/24	50,0	75,0	15/20	75,0	65,2	5	44
3 *								
4	22/33	66,7	91,7	40/43	93,0	85,1	5	76
5	22/36	61,1	78,6	30/39	76,9	75,0	7	75
6 *								
Total, Sites	88/143	61,5	79,3	113/142	79,6	73,9	21	285
ACC	92/143	64,3	91,1	123/142	86,6	74,1	18	285

**\* Ikke et test-laboratorium**

**CANDIDIASIS**

Der var 107 patienter som blev positivt diagnosticeret med candidiasis i de respektive studier. 83 af de 107 var positive med Fungitell-analysen.

175 candidiasis library-prøver blev sendt til Associates of Cape Cod. 145 af de 175 var positive i analysen.

**ASPERGILLOSIS**

I alt 10 patienter var positive for aspergillosis. 8 ud af 10 var positive i analysen.

**FUSARIOSIS**

3 emner var positive med fusariosis. 2 ud af 3 var positive i analysen.

**ANTIFUNGAL MEDICINSK BEHANDLING**

Tilstedeværelsen eller fraværet af antifungal medicinsk behandling havde ikke statistisk signifikant effekt på prøvens sensitivitet. 118 patienter var positive for invasive svampeinfektion og på antifungal behandling. 82 var positive i prøven (sensitivitet 69.5%; 61.2% - 77.8% CI). Derudover var 24 patienter positive, men ikke i nogen antifungal behandling. 18 var positive i analysen (sensitivitet, 75%; 57,7% - 92,3% CI).

**SPECIFICITET**

Et samlet antal på 170 patienter var negative for svampeinfektion og var klart sunde mennesker. Specificiteten var 86,5% i analysen (82.8% - 90.1% C.I.). Da de yderligere 26 patienter, der var negative for svampeinfektion, men som havde andre sygdomme blev inkluderet, blev der observeret en specificitet på 81,1% (77,1 – 85,2 % C.I.).

**TESTKORRELATIONER**

Fire af de kliniske laboratorier analyserede et samlet antal på 285 prøver. Laboratorieresultaterne korrelerede kvantitativt ved 96,4% med Associates of Cape Cod resultaterne. Associates of Cape Cod korrelationer med de forskellige laboratorier lå i området fra 90,6 til 99,2%.

**PRÆCISION**

I præcisionsstudierne blev 10 forskellige prøver analyseret af tre laboratorier på tre forskellige dage. Intra-analyse variationen lå fra 0,9 til 28,9%. Inter-analyse variationen lå fra 3,9 til 23,8%. De fire negative prøver blev ekskluderet fra begge analyser.

**HENVISNINGER**

- 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.
- 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.
- Mitsuya, M., Wada, K. and Yamaguchi, H. 1994. In vitro studies on the release of G Test-positive (1→3)-β-D-glucans from various fungal pathogens. In Committee on Organic Dusts, ICOH, Report 1/94, Rylander, R. and Goto, H, editors. pp 29-37.
- 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-Floir, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- 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.
- 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.
- 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 (13)-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., 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 gaez types. Tohoku J. Exp. Med. 217: 117-121.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

**ANDRE HENVISNINGER SOM IKKE ER CITEREDE**

- Desmet, S., Van Wijngaerden, E., Maertens, J., Verhaegen, J., Verbeken, E., De Munter, P., Meersseman, W., Van Meensel, B., Van Eldere, J., Lagrou K. 2009. Serum (1→3)-β-D-glucan as a diagnostic tool for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with HIV infection or hematological malignancy. J. Clin. Microbiol. 47: 3871-3874.
- Koo, S., Bryar, J.M., Page, J.H., Baden, L.R., Marty, F.M. 2009. Diagnostic performance of the (1→3)-β-D-glucan assay for invasive fungal disease. Clin. Infect. Dis. 49:1650-9.
- Ellis, M., Ramadi, B., Finkelman, M., Hedstrom, U., Kristenson, J., Ali-Zadeh, H., and Klingspor, L. 2007. Assessment of the clinical utility of serial β-D-glucan concentrations in patients with persistent neutropenic fever. J. Med. Microbiol. 57: 287-95.
- Marty, F.M., Lowry, C.M., Lemptski, S.J., Kubiak, D.W., Finkelman, M.A., and Baden, L. R., 2006. Reactivity of (1→3)-β-D-glucan assay with commonly used intravenous antimicrobials. Antimicrob. Agents Chemo. 50: 3450-3453.
- Marty, F. M., Koo, S., Bryar, and J., and Baden, L.R. 2007. (1→3)-β-D-glucan assay positivity in patients with *Pneumocystis (carinii) jirovecii* pneumonia. Ann. Int. Med. 147: 70-72.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Tamura, H., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Kawai, T. 1992. Determination of plasma (1→3)-β-D-glucan: A new diagnostic aid to deep mycosis. J. Medical and Vet. Mycol. 30: 275-280.
- 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. Clinica Chimica Acta 226: 109-112.
- Yasuioka, A., Tachikawa, N., Shimada, K., Kimura, S., and Oka, S. 1996. (1→3)-β-D-glucan as a quantitative serological marker for *Pneumocystis carinii* pneumonia. Clinical and Diagnostic. Lab. Immuno. 3: 197-199.
- Yoshida, M., Obayashi, T., Iwama, A., Ito, M., Tsumoda, S., Suzuki, T., Muroi, K., Ohta, M., Sakamoto, S., and Miura, Y. 1997. Detection of plasma (1→3)-β-D-glucan in patients with *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces* and *Acremonium* fungaemias. J. Med. Vet. Mycology 35:371-374.
- Yuasa, K., Goto, H., Iguchi, M., Okamura, T., and Ieki, R. 1996. Evaluation of the diagnostic value of the measurement of (1→3)-β-D-glucan in patients with pulmonary aspergillosis. Respiration 63: 78-83.

<span></span>		<span></span>		<span></span>		<span></span>		<span></span>	
<b>SYMBOLER</b>									
<span></span>	<b>”Bruges inden”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Indeholder tilstrækkeligt til ”N” tests”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Datakode”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Medicinsk anordning til <i>in vitro</i> diagnostik”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Katalognummer”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Temperaturbegrænsning”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Producent”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Læs brugervejledning”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”Autoriseret repræsentant”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>
<span></span>	<b>”CE mærke”</b>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>	<span></span>

<span></span>	<span></span>	<b>Associates of Cape Cod International, Inc.</b>
<span></span>	<span></span>	Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool, L33 7RX, Storbritannien