

<p><b>Analys för (1→3)-β-D-glukan i serum</b></p>	
<p><b>FUNGITELL®</b></p>	
<p><i><b>Bruksanvisning</b></i></p>	
 <p>ASSOCIATES OF <b>CAPE COD</b> INCORPORATED</p> <p>124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536</p>	<p>Telefon: +1 508 540-3444</p> <p>Avgiftsfritt: +1 888 395-2221</p> <p>Fax: +1 508 540-8680</p> <p>Teknisk support: +1 800 848-3248</p> <p>Kundtjänst: +1 800 525-8378</p>
 <p>42</p> 	<p>PN001268-sv</p> <p>Rev 000 Reviderad december 2007</p>

#### AVSEDD ANVÄNDNING

Fungitell-analysen är en proteas-zymogen-baserad kolorimetrisk analys för den kvalitativa detektionen av (1→3)-β-D-glukan i serum hos patienter med symptom på, eller med medicinska tillstånd som predisponerar patienten för, invasiv svampinfektion. Serumkoncentrationen av (1→3)-β-D-glukan, en viktig cellväggskomponent hos olika medicinskt viktiga svampar, kan användas som hjälpmedel för att diagnostisera djupliggande mykoser och fungemier. Ett positivt resultat visar inte vilken klass av svampar (fungi) som kan orsaka infektionen.

Analysen är indicerad för presumtiv diagnos av svampinfektion. Den ska användas tillsammans med andra diagnostiska förfaranden, såsom mikrobiologisk odling, histologisk undersökning av biopsiprover och röntgenundersökning.

<p><b>Viktigt - Vi rekommenderar att denna information lämnas till den remitterande läkaren:</b></p>
<p>Fungitell-analysen kan inte detektera vissa svamparter såsom genus <i>Cryptococcus</i> (9) vilken producerar mycket små nivåer av (1→3)-β-D-glukan. Analysen detekterar inte heller zygomyceter såsom <i>Absidia</i>, <i>Mucor</i> och <i>Rhizopus</i> (17) vilka såvitt känt inte producerar (1→3)-β-D-glukan. Dessutom producerar jästfasen av <i>Blastomyces dermatitidis</i> föga (1→3)-β-D-glukan och detekteras eventuellt inte av analysen (18).</p>
<p><b>Infoga detta uttalande när du rapporterar resultaten av glukananalystestet.</b></p>

#### SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

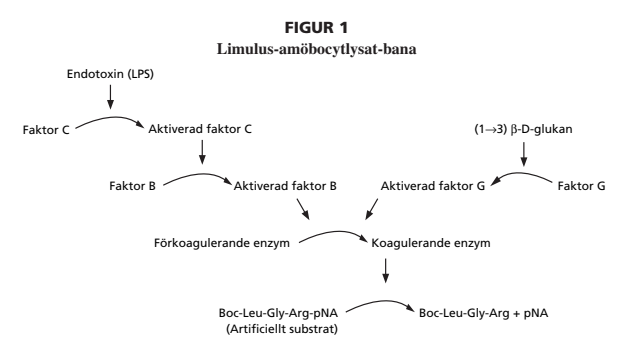
Förekomsten av svampinfektioner ökar, både med primära och opportunistiska patogener, särskilt hos patienter med nedsatt immunförsvår (2,3,4). Invasiva svampsjukdomar, som opportunistiska infektioner, är vanliga bland patienter med hematologiska sjukdomar eller AIDS och står för ett växande antal nosokomiala infektioner, i synnerhet bland organottagare och andra patienter som får immunsuppressiva behandlingar (1,4). Många svampsjukdomar förvärvas via inandning av svampsporer som härrör från jord, växtavfall, luftkonditioneringssystem och/eller exponerade ytor. Vissa opportunistiska svampar förekommer i/på människans hud, tarmkanal och slemhinnor (7). Diagnos på invasiva mykoser och fungemier grundas vanligtvis på icke-specifika diagnostiska eller radiologiska metoder.

Vanliga primära humana svamppatogener är *Candida* spp. och *Aspergillus* spp. Opportunistiska svamppatogener innefattar *Fusarium* spp., *Trichosporon* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium* spp., *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii* och *Pneumocystis carinii*. (1→3)-β-D-glukanet som produceras av dessa organismer, och andra, kan detekteras med Fungitell-analysen (4,5, 16).

#### PRINCIP FÖR FÖRFARANDET

Fungitell-analysen mäter nivåer av (1→3)-β-D-glukan. Analysen baseras på en modifiering av banan för *Limulus*-amöbocytylsat (LAL) (8-11), Figur 1. Fungitell-reagenset är modifierat för att eliminera faktor C och alltså endast reagera på (1→3)-β-D-glukan via den faktor G-medierade sidan av banan.

(1,3)-β-D-glukan aktiverar faktor G, ett serinproteaszymogen. Den aktiverade faktor G omvandlar det inaktiva förkoagulerande enzymet till det aktiva koagulerande enzymet, vilket i sin tur avskiljer pNA från det kromogena peptidsubstratet, Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, och skapar en kromofor som absorberar vid 405 nm. Fungitell kinetisk analys, beskriven nedan, är baserad på bestämningen av frekvensen av optisk densitetsökning som produceras av ett prov. Denna frekvens tolkas mot en standardkurva för att producera uppskattningar av koncentrationen av (1→3)-β-D-glukan i provet.



#### MATERIAL SOM MEDFÖLJER FUNGITELL-SATSEN

Fungitell-satsen är avsedd för diagnostisk *in vitro*-användning. Följande material medföljer varje sats och räcker för att analysera 110 brunnar på två mikrotiterplattor (55 brunnar på varje):

- Fungitell® -reagens, en frystorkad (1→3)-β-D-glukanspecifik LAL (två ampuller)
- Pyrosol-rekonstitutionsbuffert, Tris HCl 0.2 M pH 7,4 (två ampuller)
- Glukanstandard, frystorkad pachyman och inert utfyllnad med (1→3)-β-D-glukan-innehållet angivet på etiketten (två ampuller)
- Reagensvatten (RGW) (två flaskor)
- Pyroplattor: Flatbottnade, 96-brunnars, ej belagda mikroplattor, med lock, fria från interfererande glukaner (två)
- KCl 1,2 M (en ampull)
- KOH 0,25 M (en ampull)

Allt ovanstående material, med undantag för standarden, är fria från interfererande nivåer av (1→3)-β-D-glukan.

**MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER**  
Allt material måste vara fritt från interfererande glukan. Glaskärl måste steriliseras med torr värme vid minst 235°C i 7 timmar (eller en validerad motsvarighet) för att kunna betraktas som lämpligt för användning.

- Pipettspetsar\* (250 µl - art.nr PPT25, 1000 µl - art.nr PPT10)
- Pipetter som klarar att tillföra volymer på 5–25 µl och 100–1000 µl
- Stepper-pipett, med sprutspetsar, som klarar att tillföra 100 µl
- Provrör\* för preparering av standardserie och kombination av serumbehandlingsreagens. (13 x 100 mm borosilikatglas - art.nr TB013)
- Inkuberingsplattläsare (37°C) som klarar dubbel våglängdsmonitorering, vid 405 och 490 nm, med ett dynamiskt intervall upp till minst 2,0 absorbansenheter, ansluten till lämplig datorbaserad programvara för kinetisk analys.
- Sterila, glukanfria förvaringsrör med skruvlock för alikvotering av prover (de flesta rör som är certifierade som RNase, DNase och icke-pyrogena är fria från interfererande nivåer av (1→3)-β-D-glukan).
- Parafilm®

\* Dessa produkter, vilka tillhandahålls av Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), är certifierat fria från interfererande glukaner.

**Var försiktig** - glaspipetter med bomullsproppar är en potentiell källa till glukankontamination.

#### VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSMÅTT

*Denna produkt är avsedd för DIAGNOSTISK IN VITRO-ANVÄNDNING.*

<p>Fungitell-analysen kräver rigorös noggrannhet avseende metod och testmiljö. För att analysen ska vara effektiv krävs en grundlig utbildning av teknikern i analysmetod och undvikande av kontamination.</p>
--

- Arter som inte detekteras av Fungitell-analysen. Vissa svamparter producerar mycket låga nivåer av (1→3)-β-D-glukan och detekteras vanligtvis inte av Fungitell-analysen. Dessa innefattar genus *Cryptococcus* (14,16) liksom zygomyceter såsom *Absidia*, *Mucor* och *Rhizopus* (16,17). Dessutom producerar *Blastomyces dermatitidis*, i dess jästform, låga nivåer av (1→3)-β-D-glukan och detekteras därför oftast inte av Fungitell-analysen (18).
- Undvik att pipettera något material med munnen. Undvik att röka, äta eller dricka i områden där prover eller satsreagens hanteras.
- Etablera en ren miljö i vilken analysen utförs. Använd material och reagens som är certifierat fria från interfererande nivåer av (1→3)-β-D-glukan. Notera att glukan såväl som svampkontamination från den mänskliga kroppen, kläder, behållare, vatten och luftburet damm kan störa Fungitell-analysen.
- Använd inte reagens med utgånget datum.

- Missfärgade eller grumliga prover, t.ex. sådana som är kraftigt hemolyserade, lipemiska eller innehåller överskott på bilirubin, kan orsaka interferens. Om de testas ska testresultaten undersökas avseende evidens på optisk interferens och/eller onormala kinetiska kurvmönster.
- Använd lämpliga skyddskläder och puderfria handskar när du hanterar patientprover.
- Serum från hemodialyspatienter kan innehålla höga nivåer av (1→3)-β-D-glukan när vissa cellulossodialysmembran används (13). Hemodialys med cellulossatriacetatmembran eller polymetylmetakrylatmembran förefaller inte påverka analysen.
- Kirurgiska gaskompresser och tamponger kan laka ur höga nivåer av (1→3)-β-D-glukan vilket kan bidra till ett kontaminationsbaserat övergående positivt resultat för Fungitell-analysen vilket har observerats på patienter efter operation (6).
- Använd inte satser med skadat innehåll.
- Material som utsatts för potentiellt kontaminerade (patogenninnehållande) vätskor måste avyttras på ett sätt som överensstämmer med de lokala föreskrifterna.

#### Reagensförvaring

Förvara alla reagens mörkt i leveranskicket vid 2–8°C. Rekonstituerat Fungitell-reagens ska förvaras vid 2–8°C och användas inom 2 timmar. Alternativt kan rekonstituerat Fungitell-reagens frysas vid -20°C i upp till 20 dagar, tinas en gång och användas.

#### Provhantering

- Provinsamling: Serumprover ska tappas i sterila vakuumrör (röd propp), eller serumseparationsrör (SST), och få koagulera. Därefter skiljs serumet från koaglet och dekanteras till en lämplig behållare som är fri från interfererande nivåer av (1→3)-β-D-glukan.
- Provförvaring: Serumprover kan förvaras vid 2–8°C före analys, eller frysas vid -20°C eller kallare.
- Provmärkning: Prover ska märkas tydligt enligt institutionens vedertagna praxis.

#### FÖRFARANDE

Obs! Inställningar kan variera med olika instrument och programvaror. I allmänhet gäller följande: Ställ in programvaran för plattläsaren så att data insamlas i Vmean-läget. Kontrollera i handboken till programvaran att inställningarna är korrekta för att garantera att det beräknade värdet är medelfrekvensen för optisk densitetsförändring för samtliga insamlade datapunkter. Intervallet mellan avläsningarna av optisk densitet ska ligga inom ett intervall på 15–30 sekunder. Programvarans våglängdsinställningar ska vara 405 nm minus bakgrunden på 490 nm. Om dubbel våglängdsavläsning inte är tillgänglig, avläs vid 405 nm. Inkubationstemperaturen ska ställas in på 37°C. Plattsakningen ska pågå i 5–10 sekunder innan avläsningen inleds. Kurvanpassningsinställningen ska vara ”linjär/linjär” eller motsvarande. Avläsning ska påbörjas utan någon fördröjningstid.

- Beredning av glukanstandard som medföljer satsen.

- a. Lös upp en ampull med glukanstandard med den volym reagensvatten (RGW) som anges på ampullen så att du får en 100 pg/ml-lösning. Vortexblanda i minst 30 sekunder för att resuspendera (lösning 1). Förvara glukanolösningen vid 2–8°C och använd den inom tre dagar. Steg b–e nedan visar ett exempel på ett schema för preparation av standardkurva.
- b. Bered en 50 pg/ml-standard genom att blanda 500 µl reagensvatten och 500 µl av lösning 1 i ett glukanfritt rör (lösning 2). Vortexblanda i minst 10 sekunder.
- c. Gör en 25 pg/ml-standard genom att blanda 500 µl reagensvatten och 500 µl av lösning 2 i ett glukanfritt rör (lösning 3). Vortexblanda i minst 10 sekunder.
- d. Gör en 12,5 pg/ml-standard genom att blanda 500 µl reagensvatten och 500 µl av lösning 3 i ett glukanfritt rör (lösning 4). Vortexblanda i minst 10 sekunder.
- e. Gör en 6,25 pg/ml-standard genom att blanda 500 µl reagensvatten och 500 µl av lösning 4 i ett glukanfritt rör (lösning 5). Vortexblanda i minst 10 sekunder.
- Beredning av serumförbehandlingsreagens. Det alkaliska serumförbehandlingsreagenst omvandlar trippelspiralglukaner till ensträngade glukaner (10,11) vilka är mer reaktiva i analysen. Det höga pH-värdet inaktiverar dessutom serinproteaserna och serinproteasähämmarna i serum som kan ge ett falskt positivt respektive ett falskt negativt resultat (20).
  - a. Bered serumförbehandlingsreagenst genom att kombinera lika volymer av 0,25 M KOH och 1,2 M KCl, samt vortexblanda väl. Rekommenderade volymer är upp till 900 µl av varje reagens, vilket medger två beredningar. Täck ampuller med Parafilm för användning med den andra plattan. Täck ampullen med Parafilm med användning av den sida av Parafilmen som var riktad mot pappersbaksidan.

- Obs! När standardkurvan ritas upp multiplicerar du koncentrationen för standarderna med fem så att intervallet är från 500 till 31 pg/ml. Skriv in standarderna i programvaruinställningarna som 500, 250, 125, 62,5 respektive 31 pg/ml.

Standardvolymen i analysen är 25 µl per brunn eller fem gånger serumprovets volym.

Mikrotiterplattan med standarder (St),negativa kontroller (Neg) och 21 okända (Uk)

som vart och ett analyseras i duplikat ställs upp på följande sätt:

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

Obs 1: De yttre brunnarna kan användas, om det har påvisats att de yttre brunnarnas prestanda är jämförbar med prestandan för de inre brunnarna.
Obs 2: För att undvika oavsiktlig kontamination ska du sätta tillbaka locket över mikroplattan när du tillsatt prover och reagens i brunnarna. Ta av locket innan du sätter plattan i läsåren för att undvika optisk interferens från kondensation.

- Tillsats av serum och förbehandlingsreagens.
  - Tina frysta serumprover i rumtemperatur. Vortexblanda alla prover väl.
  - Överför 5 µl av serumprovet till var och en av dess betecknade brunnar (Uk) i minst duplikat. Upprepa för varje serumprov.
  - Tillsätt 20 µl av serumförbehandlingsreagenst till varje brunn som innehåller serum. *Obs!* Steg b och c kan utföras i omvänd ordning enligt teknikerns preferens.
  - Skaka plattan i 5–10 sekunder för att blanda innehållt väl (avläsarens plattsakningsfunktion kan användas) och inkubera sedan i 10 minuter vid 37°C i inkubationsplattläsaren.
- Rekonstitution av Fungitell-reagens. Obs! Detta är praktiskt att utföra medan förbehandlingsinkubationen pågår.
  - a. Rekonstituera en ampull med Fungitell-reagens genom att tillsätta 2,8 ml reagensvatten och sedan tillsätta 2,8 ml pyrosolrekonstitutionsbuffert med hjälp av 1000 µl-pipetten. Täck ampullen med Parafilm och använd Parafilm-sidan som var riktad mot pappersbaksidan. Virvla runt ampullens innehåll försiktigt för att lösa upp det helt – vortexblanda inte.
- Tillsats av negativa kontroller och glukanstandarder. När serumförbehandlingsinkubationen (steg 3d) är klar tar du bort plattan från inkubationsplattläsaren och tillsätter standarder och negativa kontroller till plattan.
  - a. Tillsätt 25 µl reagensvatten till brunn G2 och G3.
  - b. Tillsätt 25 µl av 6,25 pg/ml-standardlösningen 5 till brunn F2 och F3.
  - c. Tillsätt 25 µl av 12,5 pg/ml-stoandardlösningen 4 till brunn E2 och E3.
  - d. Tillsätt 25 µl av 25 pg/ml-standardlösningen 3 till brunn D2 och D3.
  - e. Tillsätt 25 µl av 50 pg/ml-standardlösningen 2 till brunn C2 och C3.
  - f. Tillsätt 25 µl av 100 pg/ml-standardlösningen 1 till brunn B2 och B3.
- Förfarande vid tillsats av Fungitell-reagens och plattinkubation.
  - a. Tillsätt 100 µl Fungitell-reagens till varje brunn (innehållande negativa kontroller, standarder, och prover) med hjälp av stepper-pipetten.
  - b. Sätt in plattan i mikroplattläsaren (utjämnd till 37°C) med locket på och skaka i 5–10 sekunder. Avläs plattan utan lock vid 405 nm minus 490 nm i 40 minuter vid 37°C. Om bakgrundssubtraktion (vid 490 nm) inte är tillgänglig kan avläsning göras vid 405 nm. Om en plattsakningsfunktion inte är tillgänglig med mikroplattläsaren kan en extern mikroplattsakare användas.
  - c. Samla in data och analysera på följande sätt: Räkna ut medelfrekvensen för optisk densitetsförändring (milliabsorbansenheter per minut) för alla punkter mellan 0 och 40 minuter.

#### TOLKNING AV RESULTAT

Fungitell-testresultaten ska användas som en hjälp att diagnostisera invasiv svampinfektion. Resultaten uttrycks i pg/ml serum och omfattar icke-detekterbart (<31 pg/ml) till > 500 pg/ml och skrivs ut av programvaran eller avläses från standardkurvan. Korrekta värden över 500 pg/ml kräver att provet späds i reagensvatten och omtestas.

Laboratoriet som utför testet ska informera den remitterande läkaren om att Fungitell-analysen inte detekterar vissa svamparter såsom genus *Cryptococcus* (16,17) vilken producerar mycket små nivåer av (1→3)-β-D-glukan. Testet detekterar inte heller *zygomyceter* såsom *Absidia*, *Mucor* och *Rhizopus* (16,17) vilka såvitt känt inte producerar (1→3)-β-D-glukan. På liknande sätt producerar *Blastomyces dermatitidis*, i dess jästfas, föga (1→3)-β-D-glukan, och kan vanligtvis inte detekteras (18).

#### NEGATIVT RESULTAT

(1→3)-β-D-glukan-värden < 60 pg/ml tolkas som negativa resultat.

### POSITIVT RESULTAT

Värden >80 pg/ml tolkas som positiva. 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.

#### OSÅKERT RESULTAT

Värden från 60 till 79 pg/ml tyder på en möjlig svampinfektion. Ytterligare provtagning och testning av sera rekommenderas. Frekvent provtagning och testning förbättrar användbarheten för diagnos.

#### KVALITETSKONTROLL

- Korrelationskoefficienten (r) för standardkurvan (linjär mot linjär) ska vara > 0,980.
- Brunarna med 25 µl reagensvatten är de negativa kontrollerna. Negativa kontroller ska ha värden för faktiskt optisk densitetsfrekvens (Vmean) som är mindre än 50 % av den lägsta standarden. Om inte, så måste analysen upprepas med alla nya reagens.
- Hantering av problemprover. Om analytikerna observerar mjölkiga, missfärgade eller grumliga prover, t.ex. sådana som är kraftigt hemolyserade, lipemiska eller som innehåller överskott på bilirubin, så måste provet spädas med reagensvatten och testas igen. Spädningen måste räknas in i rapporteringen av resultat genom att resultatet multipliceras med spädningsfaktorn. I typfallet skrivs spädningsfaktorn in i programvaruinställningen för provet och korrigeringen görs då automatiskt.
- Kontrollprover, vid brytvärde och kraftigt positiva nivåer, kan köras för att verifiera att reagensen och analysen fungerar korrekt. Varje testanvändare ska etablera ett kvalitetskontrollprogram för att försäkra sig om att testet utförs korrekt.

#### TESTETS BEGRÄNSNINGAR

- Vävnadsställen med svampinfektion (10), 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. *Cryptococcus* spp. producerar låga nivåer av (1→3)-β-D-glukan (11) på grund av inkapslingen av cellen. Zygomyceter, däribland *Absidia*, *Mucor* spp. och *Rhizopus* spp. (16,17) producerar inte, såvitt känt, (1→3)-β-D-glukan (16,17). *Blastomyces dermatitidis*, i dess jästfas, producerar föga (1→3)-β-D-glukan, och testresultat är vanligtvis negativa (18).
- Vissa individer har förhöjda nivåer av (1→3)-β-D-glukan som hamnar inom den obestämda zonen. I sådana fall rekommenderas ytterligare 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 (12,13), patienter som behandlats med vissa fraktionerade blodprodukter såsom serumalbumin och immunglobuliner (19) samt i prover eller hos patienter som exponerats för glukaminnehållande gasväv. Patienter behöver 3–4 dagar för att återställa baslinjenivåerna av (1→3)-β-D-glukan i serum efter kirurgisk exponering för tamponger och gasväv som innehåller (1→3)-β-D-glukan (6). Ta därför med detta i beräkningen vid tidsanpassningen av provtagning på postoperativa patienter.
- Prover som erhållits genom stick i hälen eller fingret är oacceptabla eftersom den alkoholindränkta gassudd som används för att preparera stickstället (och, potentiellt, blodansamling på huden) har visat sig kontaminera proverna.
- Testnivåer fastställdes på vuxna patienter. Normala nivåer för spädbarn och barn närmar sig nivåerna för vuxna (21). Data för nyfödda och spädbarn under sex månader saknas.
- Analysens rapporteringsbara intervall är 31 pg/ml till 500 pg/ml. Värden under 31 pg/ml rapporteras som < 31 pg/ml. Värden >500 pg/ml ska rapporteras som > 500 pg/ml.

#### STÖRANDE SUBSTANSER

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

- Hemolys
- Grumlighet i provet orsakat av lipemi
- Förekomsten av synligt bilirubin
- Grumligt serum

#### FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Betaglukanvärden är förhöjda vid flera olika svampinfektioner. När tecken och symtom 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 % (Tabell 2). I frånvaro av tecken och symtom vid mindre än 60 pg/ml varierade det negativa prediktiva värdet från 65,1 till 85,1 %.

#### PRESTANDAEGENSKAPER

**Jämförelsetestning**

En multicenter, prospektiv studie utfördes för att validera prestandaegenskaperna för Fungitell-analysen. Testet jämfördes med andra standardmetoder för detektion, (dvs. blododling, histopatologisk undersökning av biopsiprover och radiologiska tecken) avseende mykoser och fungemier.

Trehundrafemtionio (359) patienter testades med analysen. Ett enstaka prov togs från varje patient. I gruppen med lågriskpatienter ingick till synes friska individer och sådana patienter på klinikerna som lagts in av andra orsaker än svampinfektioner. Patientperiodiseringen utfördes vid sex kliniker i USA. Fyra av klinikerna utförde analysen och testade totalt 285 prover. ACC testade alla 359 prover två gånger men använde endast den andra uppsättningen resultat för att fastställa analysens prestanda. Resultaten från den andra analysuppsättningen skilde sig inte statistiskt från den första.

Sensitiviteten för hela patientpopulationen (359) inklusive *Cryptococcus* var 65,0 % (60,1–70,0 % konfidensintervall [C.I.]). Specificiteten var 81,1 % (77,1–85,2 % C.I.) (Tabell 1). Resultaten från de fyra testklinikerna hade sensitivitetsintervallet 50,0 % till 66,7 %. Specificiteten varierade från 70,0 till 93,0 % för de 285 testade proverna (Tabell 2).

<b>Tabell 1</b>	<b>ACC-testresultat vid brytnivån 60–80<span> </span>pg/ml per klinik</b>								
Klinik	Bevisad/Trolig <b>Sensitivitet</b> >=80pg/ml			Specificitet <60 <span> </span> pg/ml			Tveetydigt 60<=X<80	Totalt	
	Pos/Klin. pos	Sensitivitet	Positivt prediktivt värde	Neg/Clin. Neg	Specificitet	Negativt prediktivt värde			
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	Ej relevant	0/0	Ej relevant	0.0	0	1	
Totalt*	106/163	65.0	80.9	159/196	81.1	76.8	21	359	

**\*Innefattar ett prov från klinik 6.**

När resultaten som erhöllits av ACC (359 prover) och av klinikerna (285 prover) jämförs med klinisk diagnostisering är sensitiviteten 64,3 % (58,8–69,9 % CI) för ACC och 61,5 % (55,9–67,2 % CI) för klinikerna. Specificiteten är 86,6 % (82,7–90,6 % CI) för ACC mot 79,6 % (74,9–84,3 % CI) för klinikerna (Tabell 2).

<b>Tabell 2</b>	<b>Resultat för testklinikerna vid brytnivån 60–80<span> </span>pg/ml per klinik</b>								
Klinik	Bevisad/Trolig <b>Sensitivitet</b> >=80pg/ml			Specificity <60pg/mL			Tveetydigt 60<=X<80	Totalt	
	Pos/Klin. pos	Sensitivitet	Positivt predikivt värde	Neg/Clin. Neg	Specificitet	Negativt prediktivt värde			
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 *									
Totalt, kliniker	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	

**\* Ej en testklinik**

#### CANDIDIASIS

Ettundrasju (107) patienter fick en positiv diagnos med candidiasis i den prospektiva studien. Åttiotre (83) av de 107 var positiva enligt Fungitell-analysen.

Ettundrasjuttiofem candidiasis library-prover levererades till Associates of Cape Cod. 145 av de 175 var positiva enligt analysen.

#### ASPERGILLOS

Totalt 10 patienter var positiva för aspergillos. 8 av de 10 var positiva enligt analysen.

#### FUSARIOS

Tre patienter var positiva för fusarios. 2 av de 3 var positiva enligt analysen.

#### TERAPI MED ANTIMYKOTIKUM

Förekomsten eller frånvaron av terapi med antimykotikum hade ingen statistiskt signifikant effekt på analysens sensitivitet. 118 patienter besvades vara positiva för invasiv svampinfektion och stod på antimykotikum. 82 var positiva enligt analysen (sensitivitet, 69,5 %; 61,2–77,8 % CI). Dessutom besvades tjugofyra (24) patienter vara positiva, men stod inte på något antimykotikum. 18 var positiva enligt analysen (sensitivitet, 75 %; 57,7–77,8 % CI).

#### SPECIFICITET

Totalt 170 patienter var negativa för svampinfektion och var uppenbart friska. Specificiteten var 86,5 % med analysen (82,8–90,1 % C.I.). När de ytterligare 26 patienterna som var negativa för svampinfektion men hade andra sjukdomar inkluderades observerades en specificitet på 81,1 % (77,1–85,2 % C.I.).

#### TESTKORRELATIONER

Fyra av klinikerna analyserade totalt 285 prover. Kliniktestresultaten korrelerade kvantitativt vid 96,4 % med resultaten från Associates of Cape Cod. Korrelationerna för Associates of Cape Cod med de olika testklinikerna varierade från 90,6 till 99,2 %.

#### PRECISION












I precisionsstudierna testades tio (10) olika prover, vart och ett av tre testkliniker på tre olika dagar. Variationerna inom samma analys varierade från 0,9 till 28,9 %. Variationerna mellan olika analyser varierade från 3,9 till 23,8 %. De fyra (4) negativa proverna uteslöts från båda analyserna.

- Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002; 4 (Suppl. 3):32-37.
- 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 (24):1741-1751.
- Obayashi, et.al. Plasma (1,3)-beta-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 1995; 345:17-20.
- Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. (2004) -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.
- Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cocanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. (2005) A prospective pilot survey of B-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.
- Ascioglu, et.al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: An international consensus. Clinical Infectious Diseases. 2002; 34:7-14.
- Iwanaga, S., Morita, T., Nakamura, T., and Aketagawa, J. (1986) The hemolymph coagulation system in invertebrate animals. J. Protein Chem 5: 255-268.
- 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* ameboocyte 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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 measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet 345: 17-20.
- 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.
- Mitsuya, M., Wada, K. and Yamaguchi, H. (1994) In vitro studies on the release of G Testpositiive (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.
- 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.
- 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.
- 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.

#### YTTERLIGARE REFERENSER SOM INTE CITERAS

- Obayashi, T., Yoshida, M., Tamura, H., (1-3)-β-D-glucans 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.
- Yasuoka, 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., Tsunoda, 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.

<b>SYMBOLER</b>	
	<b>”Utgångsdag”</b>
	<b>”Räcker till 'N' tester”</b>
	<b>”Batchnummer”</b>
	<b>”Medicinsk produkt för in vitro-diagnostik”</b>
	<b>”Artikelnr”</b>
	<b>”Temperaturgräns”</b>
	<b>”Tillverkare”</b>
	<b>”Se bruksanvisningen”</b>
	<b>”Auktoriserad representant</b>
	<b>”CE-märke”</b>
	<b>Associates of Cape Cod® International, Inc.</b> Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool, L33 7RX.