Test na (1→3)-β-D-glukán v sére

FUNGITELL® STAT

Návod na použitie

Rx only

5-9

ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED
124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA

Telefón: (508) 540-3444
Bezplatné číslo: (888) 395-2221
Fax: (508) 540-8680
Technická podpora: (800) 848-3248
Zákaznícky servis: (800) 525-8378

PN002603-sk Rev002 2020-03-11

Pre návod na použitie vo vašom jazyku navštívte stránku www.acciusa.com.

ZAMÝŠĽANÉ POUŽITIE

Test Fungitell® STAT je proteolytický kolometrický test na báze zymogénu na kvalitatívne zisťovanie (1→3)-β-D-glukánu v sére pacientov so symptómami alebo ochoreniami, v dôsledku ktorých má pacient predisponíziu na invazívnu plesňovú infekciu. Koncentrácia séra (1→3)-β-D-glukánu, čo je hlavná zložka bunkovej steny rôznych medicínsky významných plesní[1], sa dá používať ako pomôcka pri diagnostike hlbokých mykóz a fungémií[2]. Pozitívny výsledok neuvádza, ktorý rod plesní môže spôsobovať infekciu.

Indexové hodnoty (1→3)-β-D-glukánu treba použiť v spojení s inými diagnostickými postupmi, napríklad s mikrobiologickou kultúrou, histologickým vyšetrením vzoriek biopsie a rádiologickým vyšetrením.

SÚHRN A VYSVETLENIE

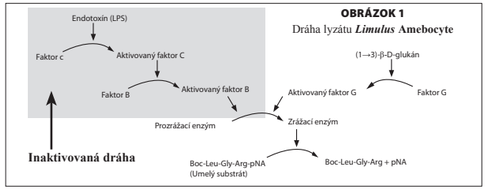
Existuje rastúci výskyt plesňových infekcií spôsobených oportunistickými patogénmi, a to hlavne u pacientov s oslabenou imunitou[3,4,5]. Invazívne plesňové ochorenia, ako sú oportunistické infekcie, sú bežné u pacientov s hematologickými malignitami a u pacientov s AIDS a zodpovedajú za rastúci počet nozokomiálnych infekcií, a to hlavne u príjemcov transplantácií orgánov a u iných pacientov s imunosupresívnou liečbou[6,7]. Veľa plesňových ochorení sa získava vdýchnutím spór plesní pochádzajúcich z pôdy, zvyškov rastlín, klimatizačných systémov alebo exponovaných povrchov. Niektoré oportunistické plesne sú prítomné v ľudskej koži alebo na nej, v zažívacom trakte a na slizniciach[8,9]. Diagnostika invazívnych mykóz a plesní je zvyčajne založená na nešpecifickej diagnóze alebo rádiologických technikách. Biologické znaky plesňovej infekcie boli nedávno zaradené medzi dostupné diagnostické metódy[2].

Medzi oportunistické plesňové infekcie patria *Candida spp., Aspergillus spp., Fusarium spp., Trichosporon spp., Saccharomyces cerevisiae, Acremonium spp., Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Sporothrix schenckii, Exserohilum rostratum* a *Pneumocystis jirovecii.* (1→3)-β-D-glukán, ktorý vytvárajú tieto organizmy a iné, sa dajú detegovať testom Fungitell® STAT[2,10,11].

PRINCÍP POSTUPU

Test Fungitell® STAT je dizajnovou úpravou formátu testu Fungitell ®. Test Fungitell® STAT bol vyvinutý ako odpoveď na potrebu jednorazového testového formátu a menšej veľkosti súpravy než je formát testu Fungitell® s platničkou s 96 jamkami.

Test Fungitell® STAT poskytuje kvalitatívne meranie (1→3)-β-D-glukánu. Test je založený na modifikácii dráhy lyzátu amebocytov kraba Limulus (LAL)[12,13,14,15], **obrázok 1**. Reagencia v teste Fungitell® STAT je modifikovaná, aby eliminovala reaktivitu bakteriálneho endotoxínu a tým by reagoval len na (1→3)-β-D-glukán pomocou dráhy sprostredkovanej faktorom G. (1→3)-β-D-glukán aktivuje faktor G, čo je zymogén sérovej proteázy. Aktivovaný faktor G menej neaktívny prozrážací enzým na aktívny zrážací enzým, ktorý zas štiepi para-nitroanilid Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, čím vzniká chromofór, para-nitroanilín (pNA), ktorý sa absorbuje pri vlnovej dĺžke 405 nm. Tu opísaný kinetický test Fungitell® STAT je založený na stanovení zvýšenia miery optickej hustoty, ktorú vyprodukuje vzorka. Táto miera sa porovnáva s mierou zvýšenia optickej hustoty štandardu pre Fungitell® STAT, aby sa vytvoril index. Táto indexová hodnota vzorky pacienta sa kvalitatívne interpretuje ako negatívny, neurčitý alebo kladný výsledok podľa rozsahov indexových hodnôt uvedených dole v **tabuľke 1**.



OBRÁZOK 1
Dráha lyzátu ***Limulus*** **Amebocyte**

TABUĽKA 1 ROZSAHY INDEXOVÝCH HODNÔT FUNGITELL® STAT

Výsledok	Indexová hodnota
Negatívny	≤ 0,74
Neurčitý	0,75 – 1,1
Pozitívny	≥ 1,2

MATERIÁLY PRILOŽENÉ K VÝROBKU FUNGITELL® STAT

Výrobok Fungitell® STAT je určený na diagnostické použitie *in vitro*. Nasledujúce materiály priložené ku každému výrobku postačujú celkovo na 10 reakcií (na základe 10 liekoviek reagencie Fungitell® STAT). Každý výrobok obsahuje aj 5 liekoviek štandardu Fungitell® STAT, čiže môže pomôcť až pri piatich chodoch, keď sa pri jednom chode testuje 1 liekovka štandardu Fungitell® STAT a 1 vzorka pacienta. Jedna liekovka so štandardom Fungitell® STAT sa môže poprípade použiť až s 9 vzorkami pacienta.

1. Reagencia Fungitell® STAT, lyofilizovaný lyzát LAL špecificka pre (1→3)-β-D-glukán (10 liekoviek) Reagencia *Fungitell® STAT neobsahuje interferujúce úrovne (1→3)-β-D-glukánu.*
2. Štandard Fungitell® STAT (5 liekoviek), s rekonštitučným objemom uvedeným na objeme s č. šarže
3. Návod na použitie
4. Rýchly vizuálny sprievodca

POTREBNÉ, ALE NEPRILOŽENÉ MATERIÁLY

Žiadny materiál, nesmie obsahovať interferujúci glukán. Sklo sa musí depyrogenovať suchým teplom aspoň 7 hodín pre teplota minimálne 235 °C (alebo v rámci validovaného ekvivalentu) na to, aby bolo vhodné na použitie.

1. LAL reagenčná voda* (liekovka 5,5 ml, katalógové č. W0051-10)
2. Alkalický predprípravný roztok 0,125 M KOH a 0,6 M KCl * (liekovka 2,5 ml, katalógové č. APS51-5)
3. Pipety na dávkovanie objemov 20-200 µL a 100-1000 µL
4. Pipetové špičky* (250 µL katalógové č. PPT25 a 1000 µL katalógové č. PPT10)
5. Dlhé pipetové špičky* (20-200 µL, katalógové č. TPT50)
6. Skúmavky* na prípravu vzoriek pacientov a zmiešanie predprípravného roztoku séra. (12 x 75 mm, katalógové č. TB240-5)
7. Čítačku skúmaviek a softvér pre kinetické testy
   a) Automatizovaná laboratórna kinetická inkubačná čítačka skúmaviek s 8 jamkami (prístroj PKF08) a softvér na analytiku beta glukánu (BG Analytics™) od spoločnosti Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) katalógové č. PKF08-PKG** **alebo**
   b) Inkubačná (37 °C) čítačka skúmaviek schopná merania pri vlnovej dĺžke 405 nm a 495 nm s rozsahom minimálne 0 – 1,0 absorbačných jednotiek a na umiestnenie liekoviek s priemerom 12 mm; spojená s vhodným počítačovým softvérom pre kinetické testy schopným pozorovať a analyzovať reakčnú kinetiku a podporovať kontrolu kritérií uvedených v časti Kontrola kvality návodu na použitie.
8. Sterilné skladovacie skúmavky so skrutkovacám uzáverom bez obsahu glukánu na alikvótne vzorky ((väčšina skúmaviek s certifikáciou RNAse, DNAse a neprítomnosti pyrogénov neobsahuje interferujúce hladiny (1→3)-β-D-glukánu).
9. Parafilm*

Upozornenie - sklenené pipety s vatovými zátkami a mikropipetové špičky s celulózovými filtrami sú potenciálnym zdrojom kontaminácie glukánom.

**Tieto výrobky dodávané spoločnosťou Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) sú certifikované ako produkty bez interferujúcich glukánov.*

***Kópie návodov na použitie od softvéru BG Analytics™ a prístroja PKF08 sa dajú stiahnuť z webovej stránky spoločnosti ACC: www.acciusa.com.*

UPOZORNENIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Tento výrobok je určený na DIAGNOSTICKÉ POUŽITIE IN VITRO.

Test Fungitell® STAT si vyžaduje dôslednú pozornosť venovanú technike a prostrediu testovania. Pre účinnosť testu je mimoriadne dôležité dôkladné zaškolenie technika v oblasti metodiky testu a zamedzenie kontaminácie.

1. Niektoré druhy plesní produkujú veľmi nízke úrovne (1→3)-β-D-glukánu a test Fungitell® STAT ich zvyčajne nezachyti. Ide o rod Cryptococcus[16,17] ako aj Mucorales, napríklad Absidia, Mucor a Rhizopus[1,17]. Okrem toho aj Blastomycetická dermatitída vo svojej kvasinkovej forme produkuje nízke množstvá (1→3)-β-D-glukánu, takže reagencia testu Fungitell® STAT ju preto obvykle nezisti[16].
2. Žiadny materiál nepipetujte ústami. V miestnosti, kde sa manipuluje so vzorkami alebo reagenciami súpravy nefajčite, nejedzte a nepite. Dodržiavajte firemné a miestne bezpečnostné predpisy.
3. Na vykonanie testu pripravte čisté prostredie. Použite materiály a reagencie s certifikovanou neprítomnosťou detegovateľných pozaďových hladín (1→3)-β-D-glukánu. Upozorňujeme, že glukán aj plesňová kontaminácia z ľudského tela, odevu, nádob, vody a prachu vo vzduchu môžu ovplyvniť výsledky testu Fungitell® STAT. Celulózové materiály, ako napríklad gáza, papierové utierky a lepenka, môžu vniesť (1→3)-β-D-glukán do prostredia, v ktorom sa vykonáva test.
4. Nepoužívajte materiály po dátume exspirácie
5. Vyblednuté alebo zakalené vzorky, napríklad výrazne hemolyzované, lipemické alebo obsahujúce nadmerné množstvá bilirubínu, môžu opticky narušiť test. V prípade merania týchto vzoriek je potrebné preskúmať výsledky testov s cieľom overiť optickú interferenciu alebo neobvyklé kinetické vzory.
6. Pri manipulácii so vzorkami pacientov používajte vhodný ochranný odev a bezpudrové rukavice.
7. Sérum hemodialyzovaných pacientov môže obsahovať vysoké hladiny (1→3)-β-D-glukánu, ak sa používajú niektoré celulózové dialyzačné membrány[18,20,38]. Zdá sa, že hemodialýza s membránou z triacetátu celulózy, polysulfónu alebo membránou z polymetylmetakrylátu nemá vplyv na test.
8. Z chirurgických gáz a špongií sa môžu vyplavovať veľké množstvá (1→3)-β-D-glukánu, ktoré môžu prispievať k prechodne pozitívnemu výsledku v teste Fungitell® z dôvodu kontaminácie, ako bolo pozorované u pacientov po operácii[21,22].
9. Produkty z frakcionovanej krvi, ako napríklad intravenózny imunoglobulín a albumín, tiež môžu byť zaťažené (1→3)-β-D-glukánom, ktorý v prípade injekčného alebo infúzneho podania na niekoľko dní zvýši titre (1→3)-β-D-glukánu v sére[23].
10. Nepoužívajte výrobky s poškodeným obsahom.
11. Materiály vystavené tekutinám s možnosťou kontaminácie (obsahujúcim patogény) sa musia zlikvidovať v súlade s miestnymi predpismi.

UCHOVÁVANIE REAGENCIÍ

Všetky dodané reagencie uchovávajte v tme pri teplote 2 – 8 °C. Reagenciu Fungitell® STAT a štandard Fungitell® STAT treba použiť do 1 hodiny od rekonštitúcie.

MANIPULÁCIA SO VZORKAMI

1. Odber vzorky: Vzorky krvi možno odobrať do sterilných skúmaviek na prípravu séra alebo do skúmaviek na separáciu séra (SST) na účely prípravy séra.
2. Uchovávanie vzoriek: Vzorky séra možno dočasne skladovať pri teplote 2 – 8 °C pred vykonaním testu, prípadne zmraziť pri teplote -20 °C alebo nižšej na dlhodobejšie uskladnenie.
3. Označenie vzoriek: Vzorky sa musia jasne označiť v súlade s postupmi schválenými v danej inštitúcii.

POSTUP

Balík výrobku Fungitell® STAT obsahuje Rýchlu vizuálnu príručku so súhrnom o postupe pre automatizovaný prístroj PKF08 a softvér BG Analytics™.

Niektoré nižšie opísané kroky sú automatizované, ak používate prístroj PKF08 a softvér BG Analytics™. Patria medzi ne: Nastavenie prístroja, Kontrola kvality a Interpretácia výsledkov. Ďalšie informácie nájdete v návodu na použitie od softvéru BG Analytics™ alebo sa spojte s výrobcom.

Pozn.:

- *Používajte dobrú laboratórnu prax podľa svojich miestnych predpisov. Test je citlivý na kontamináciu a nepresnosť pipetovania.*
- *Kroky 3-5 a 7 vám odporúčame vykonať v biologickej bezpečnostnej skrinke, aby sa zvýšila bezpečnosť operátora počas práce so vzorkami pacienta a aby sa znížil potenciál kontaminácie vonkajším (1→3)-β-D-glukánom počas postupu.*
- *Pre zníženie nepotrebných pohybov sklenených liekoviek do biologickej bezpečnostnej skrinky a z nej vám odporúčame umiestniť do biologickej bezpečnostnej skrinky zariadenie na vortexové miešanie (ak bude zachovaný kritický tok vzduchu).*
- *Odporúčame vám používať dlhé pipetové špičky, aby ste zamedzili krížovej kontaminácii medzi liekovkami.*
- *Štandard Fungitell® STAT (červený uzáver a etiketa s červenou líniou) treba vždy spracovať pri tých istých podmienkach a v tom istom čase ako vzorku (vzorky) pacienta v danom chode. Je to kritické, pretože výsledok testu je index (vzorka / štandard) rýchlosti kinetickej reakcie (alebo sklony, OD/sek) vzorky pacienta a štandardu Fungitell® STAT.*
- *Počas postupu vám odporúčame používať 2 držiaky skúmaviek, jeden na liekovky na prípravu vzorky (kroky 4-6) a jeden na liekovky s reagenciou (kroky 7-8). Pomôže vám to predísť možnej zámene liekoviek a krížovej kontaminácii počas postupu.*
- *Odporúčame vám klásť štandard Fungitell® STAT do stanovenej a konzistentnej polohy v držiaku skúmaviek, inkubátore a čítačke. Ak používate prístroj PKF08 a softvér BG Analytics™ , používajte prvú jamku naľavo, ktorá je označená ako "Štandard".*
- *Na konci každého zmiešavacieho kroku vizuálne potvrďte, či je roztok homogénne zmiešaný.*
- *Reagenciu Fungitell® STAT nemiešajte nadmerne. Odporúčané nastavenie pre každé zariadenie na vortexové miešanie je maximálne 2000 ot./min. Nemiešajte vortexovým miešadlom dlhšie než 5 sekúnd.*

1. Nastavenie prístroja

Nastavenia sa môžu líšiť u rôznych prístrojov a softvérov. Vo všeobecnosti treba splniť nasledujúce podmienky: Prístroj má byť schopný dosiahnuť a udržať teplotu 37 °C ± 1 °C. Prístroj a softvér musia vedieť snímať optickú hustotu v čase (kinetickú) pri dvoch vlnových dĺžkach. Tieto vlnové dĺžky treba konkrétne nastaviť na 405 nm a 495 nm. Kinetický režim nastavte na dobu snímania 40 minút (2400 sekúnd). Interval kinetického snímania nastavte na minimálny, aký vám softvér / prístroj povoľuje pri 40-minútovej dobe testovania a snímanie iniciujte po vložení vzorky. Pozrite návod od softvéru, aby ste zistili, ako vypočítať meranie rýchlosti (sklonu) zo súboru dát. Pre účely tohto testu sa to zvyčajne dosahuje vykonaním lineárnej regresie kinetických dát v navrhovanom časovom rámci. Výpočet lineárnej regresie nastavte tak, aby sa vykonával v rozsahu 1900 až 2400 sekúnd použitím funkcie softvéru "krájanie". Snímanie má začať bez časového oneskorenia.

2. Potvrďte špecifické informácie č. šarže štandardu Fungitell® STAT

a. Objemy rekonštitučného a predprípravného roztoku pre špecifické čísla šarží nájdete na obalovom štítku štandardu Fungitell® STAT, na Osvedčení o analýze výrobku Fungitell® STAT a na dostupnej stránke webovej spoločnosti ACC. Tieto informácie budú potrebné pre dokončenie kroku 5 nižšie
b. Odporúčame vám zaznamenať si ešte pred postupom konkrétnu informáciu o čísle šarže v Rýchlej vizuálnej príručke, ktorú dostanete s výrobkom Fungitell® STAT.

Pozn.: *Každý výrobok (dvojica štandard Fungitell® STAT a reagencia Fungitell® STAT) sa testuje a uvádza na trh samostatne. Preto je dôležité zaznamenať konkrétnu informáciu o čísle šarže pre každú dvojicu.*

3. Označenie skúmaviek

a. Označte jednu prázdnu skúmavku pre každú vzorku pacienta, ktorá sa bude testovať.
b. Označte jednu skúmavku pre reagenciu Fungitell® STAT pre každú vzorku pacienta, ktorá sa bude testovať.
c. Označte jednu skúmavku pre reagenciu Fungitell® STAT pre štandard Fungitell® STAT.

4. Pripravte skúmavky na vzorky pacienta

a. Vzorky pacienta miešajte aspoň 20 sekúnd vortexovým miešadlom, aby ste zabezpečili homogenitu.
   Pozn.: *Pri procese mrazenia sa môže vytvoriť heterogenita vzorky z dôvodu odvedenia vody na rastúci ľadový kryštál, čím sa vylúčia rozpustené látky.*
b. Do vhodne označenej prázdnej skúmavky pridajte pacientovu vzorku a alkalický predprípravný roztok v pomere 1:4. Odporúčané objemy sú 50 µl vzorky pacienta a 200 µl alkalického predprípravného roztoku.
   Pozn.: *Alkalický predprípravný roztok premení trojité helixové glukány na jednopramenné glukány[24,25], ktoré sú v teste reaktívnejšie. Zásadité pH navyše slúži na deaktiváciu proteáz séra a inhibítorov, ktoré môžu interferovať s testom[24].*
c. Miešajte 15 sekúnd vortexovým miešadlom a zakryte.

5. Pripravte skúmavke pre štandard Fungitell® STAT

a. Rekonštituujte jednu liekovku štandardu Fungitell® STAT so špecifickým objemom reagenčnej vody LAL podľa čísla šarže a miešajte 15 sekúnd s vortexovým miešadlom.
b. Pridajte špecifický objem alkalického predprípravného roztoku podľa čísla šarže.
   Pozn.: *Objemy rekonštitučného a predprípravného roztoku pre špecifické čísla šarží sú uvedené na obalovom štítku štandardu Fungitell® STAT, v Osvedčení o analýze výrobku Fungitell® STAT a na dostupnej webovej stránke spoločnosti ACC.*
c. Miešajte 15 sekúnd vortexovým miešadlom a zakryte.

6. Predprípravná inkubácia v čítačke skúmaviek

Inkubujte skúmavky vzorky pacienta (od kroku 4) a liekovku štandardu Fungitell® STAT (od kroku 5) pod dobu 10 minút pri teplote 37 °C.

7. Pripravte skúmavky s reagenciou Fungitell® STAT

a. Rekonštituujte každú z liekoviek reagencie Fungitell® STAT (označené v kroku 3 vyššie) s 300 µl reagenčnej vody LAL.
b. Jemne miešajte vortexovým miešadlom nie dlhšie než 5 sekúnd.
   Pozn.: *Reagencia Fungitell® STAT obsahuje niekoľko aktívnych bielkovín potrebných na test a odporúčame manipulovať s roztokom jemne. Odporúčané nastavenie pre každé zariadenie na vortexové miešanie je maximálne 2000 ot./min. Nemiešajte príliš.*
c. Na konci predinkubačnej úpravy:
   - Premiestnite 75 µl každého z roztokov vzorky pacienta do jeho príslušnej skúmavky s reagenciou Fungitell® STAT.
   - Premiestnite 75 µl štandardu Fungitell® STAT do jeho príslušnej skúmavky s reagenciou Fungitell® STAT.
   - Všetky skúmavky nemiešajte vortexovým miešadlom viac než 5 sekúnd a zakryte ich.

8. Spusťte chod

a. Vložte skúmavky do čítačky skúmaviek a potvrďte, či je každá v správnej jamke.
b. Spusťte kinetické snímanie na dobu 40 minút pri teplote 37 °C.

9. Prekontrolujte kritériá kontroly kvality

Pozri časť Kontrola kvality nižšie a ***obrázok 2****.*

10. Interpretácia výsledkov

Pozri časť Interpretácia výsledkov nižšie a ***obrázok 3****.*

LIKVIDÁCIA LIEKOVKY NA KONCI POSTUPU

- Odporúča sa zlikvidovať otvorené liekovky s alkalického predprípravného roztoku a reagenčnou vodou LAL v súlade s vašimi laboratórnymi postupmi. Tieto materiály nepoužívajte na viac než jeden chod, aby ste zamedzili možnej kontaminácii.
- Reagencia Fungitell® STAT a štandard Fungitell® STAT sú ako súčasť výroby uvádzané ako spárovaná šarža, a preto netreba používať komponenty reagencie Fungitell® STAT a štandardu Fungitell® STAT z rôznych šarží výrobkov. Preto po spotrebovaní všetkých liekoviek s reagenciou Fungitell® STAT v rámci jedného balenia odporúčame zlikvidovať aj prípadné zvyšné liekovky štanrardu Fungitell® STAT.

KONTROLA KVALITY

- **Pre všetky čísla jamiek** potvrďte priradenie štandardu Fungitell® STAT alebo čísla vzorky
- **Pre výsledok štandardu Fungitell® STAT**
  1. musí byť korelačný koeficient (r) ≥ 0,980 a
  2. sklon mjuí byť v rozmedzí predpokladného rozmedzia sklonu 0,00010 – 0,00024 OD/sekunda.

  Ak výsledok štandardu Fungitell® STAT nespĺňa kritériá, č.1 a 2, chod je neplatný a všetky vzorky sa musia vykonať znova.
- **Pre všetky výsledky vzorky pacienta:**

  A. Stanovte, či je výsledok mimo rozsahu indexu testu
  - Výsledok je pravdepodobne mimo rozsahu na pozitívnej strane, ak:
    - Je úsek Y pozitívny a
    - Kinetická krivka prechádza hodnotou 0,4 OD pred 1000 sekundami.
  - Výsledok je pravdepodobne mimo rozsahu na negatívnej strane, ak:
    - Je kinetická krivka pozitívna po 500 sekundách a
    - Na konci testu má hodnotu OD >0,03 a <0,07.

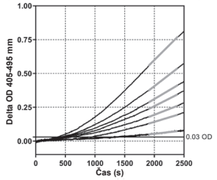
  Ak výsledok vzorky spĺňa obe kritériá buď za pozitívnym alebo negatívnym rozsahom, všeobecné kritériá kontroly kvality uvedené dole netreba dokončať a indexová hodnota sa ***nemá*** *počítať. Všetky výsledky mimo rozsahu na pozitívnej strane treba zapísať ako "Pozitívne" a všetky výsledky mimo rozsahu na negatívnej strane treba zapísať ako "Negatívne".*

  B. Ak výsledok nespĺňa kritériá mimo rozsahu, overte všeobecné kritériá kvality:
  1. kinetická krivka musí byť pozitívna po 500 sekundách,
  2. kinetická krivka musí mať na konci testu hodnotu OD ≥ 0,03,
  3. sklon musí byť numericky kladný,
  4. korelačný koeficient (r) musí byť ≥ 0,980 a
  5. kinetická krivka musí mať tvar stúpajúci nahor konzistentný s príkladmi uvedenými na **obrázku 2**.

Ak výsledky vzorky nespĺňajú všetky všeobecné kritériá kontroly kvality č. 1-5, výsledok vzorky je neplatný a vzorka sa musí otestovať znova. Popríapade treba použiť inú metódu.

OBRÁZOK 2

PRÍKLADY VHODNÝCH TVAROV KINETICKEJ KRIVKY



Kontrolné vzorky (negatívne, blízko limitov testu alebo na vysoko pozitívnych úrovniach) možno otestovať s cieľom overiť, či reagencie a test fungujú správne. Každý používateľ testu si má vypracovať program kontroly kvality s cieľom zaistiť spôsobilosť výkonu testu v súlade s predpismi platnými na danom mieste.

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

Výsledky testu Fungitell® STAT sa majú používať ako pomôcka pri diagnostike invazívnej plesňovej infekcie. Pomery vzorky pacienta a štandardu Fungitell® STAT sú odvodené z výpočtu sklonu (pomeru) medzi 1900 a 2400 z delta výsledkov OD 405 - 495 nm . Výsledky indexu Fungitell® STAT sú odvodené z vydelenia pomeru (sklonu) vzorky pacienta pomerom (sklonom) štandardu Fungitell® STAT (*pozri* ***obrázok 3***). Výsledky indexu sú rozmedzí od približne 0,4 do 3,5, pokrývajú plnú krivku štandardu (31 – 500 pg/mL) predikátu Fungitell®. Indexové hodnoty Fungitell® STAT treba interpretovať ako je uvedené nižšie:

NEGATÍVNY VÝSLEDOK

Indexové hodnoty ≤ 0, 74 sú interpretované ako negatívne výsledky.

NEURČITÝ VÝSLEDOK

Indexové hodnoty od 0,75 do 1,1 signalizujú možnú plesňovú infekciu. Odporúča sa odobratie ďalšej vzorky séra a testovanie. Časté odoberanie a testovanie vzoriek zlepšuje využiteľnosť na účely stanovenia diagnózy.

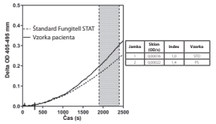
POZITÍVNY VÝSLEDOK

Indexové hodnoty ≥ 1,2 sú interpretované ako pozitívny výsledok. Pozitívny výsledok znamená, že sa zistil (1→3)-β-D-glukán. Pozitívny výsledok ešte nestanovuje prítomnosť choroby a musí sa použiť spolu s ďalšími klinickými nálezmi s cieľom stanoviť diagnózu.

Laboratórium vykonávajúce test musí informovať objednávajúceho lekára, že nie všetky plesňové infekcie vedú k zvýšeným hladinám (1→3)-β-D-glukánu v sére. Niektoré plesne, napríklad rod Cryptococcus[16,17], produkujú veľmi malé množstvá (1→3)-β-D-glukánu. Je známe, že *Mucorales*, ako napríklad *Absidia, Mucor* a *Rhizopus*[1,17] neprodukujú (1→3)-β-D-glukán. Podobne aj *Blastomycetická dermatitida,* vo svojej kvasinkovej forme produkuje nízke množstvá (1→3)-β-D-glukánu, takže pacienti s blastomykózou obvykle majú nedetegovateľné množstvá (1→3)-β-D-glukánu pri testovaní pomocou testu Fungitell® STAT[18].

OBRÁZOK 3

PRÍKLAD KINETICKÝCH KRIVIEK A ANALÝZY DÁT TESTU FUNGITELL® STAT



Oblasť zvýraznená sivou farbou je oblasť určovania sklonu (1900 až 2400 sekúnd (s)), neprerušovaná čiara je príklad vzorky pacienta (PS) a prerušovaná čiara je štandard Fungitell® STAT (STD). Sklon vzorky (t.j. 0,00022 OD/s) vydelený sklonom 80 pg/mL štandardu Fungitell® STAT (t.j. 0,00016 OD/s) je index 1,4 pre vzorku. Sklon a pomer sú pri tejto aplikácii synonymické.

OBMEDZENIA TESTU

1. Tkanivo, kde je lokalizovaná plesňová infekcia[10], zapuzdrenie a množstvo (1→3)-β-D-glukánu produkovaného konkrétnymi plesňami môžu ovplyvniť koncentráciu tohto analytu v sére. Znížená schopnosť prinášať (1→3)-β-D-glukán do krvného riečiska môže znížiť schopnosť detegovať niektoré plesňové infekcie. *Cryptococcus spp.* produkuje nízke množstvá (1→3)-β-D-glukánu[16,17]. Je známe, že *Mucorales*, ako napríklad *Absidia spp., Mucor spp.* a *Rhizopus spp.*, neprodukujú (1→3)-β-D-glukán[1,17] *Blastomycetická dermatitida* vo svojej kvasinkovej forme produkuje nízke množstvá (1→3)-β-D-glukánu a výsledky testu bývajú obvykle negatívne[18]. Tieto informácie treba poskytnúť lekárovi, ktorý ich požaduje.
2. Niektorí jedinci majú zvýšené indexové hodnoty (1→3)-β-D-glukánu, ktoré patria do neurčitej zóny. V takom prípade sa odporúča ďalšie pozorovacie testovanie.
3. Frekvencia testovania pacienta bude závisieť od relatívneho rizika plesňovej infekcie. U rizikových pacientov sa odporúča interval odberu vzoriek najmenej dva- až trikrát týždenne.
4. Pozitívne výsledky sa zistili u hemodialyzovaných pacientov[19,20], pacientov liečených niektorými produktmi z frakcionovanej krvi, napríklad sérovým albumínom a imunoglobulínmi , a vo vzorkách alebo u pacientov s kontaktom s gázou a chirurgickými špongiami s obsahom glukánu. Pacient potrebuje 3 – 4 dni na obnovenie východiskovej hladiny sérového (1→3)-β-D-glukánu po chirurgickej expozícii špongiám a gázam obsahujúcim (1→3)-β-D-glukán[21,22]. Pri plánovaní odberu vzoriek u chirurgických pacientov to treba zohľadniť.
5. Vzorky získané odberom z päty alebo prsta sú neprijateľné, pretože sa preukázalo, že alkoholom napustená gáza, ktorá sa používa na prípravu miesta (a potenciálne aj nahromadenie krvi k povrchu kože), kontaminujú vzorky. V doterajších štúdiách sa nepozorovali žiadne rozdiely medzi vzorkami získanými odbermi z hadičky alebo vpichom do cievy[23,24].
6. Testovacie hladiny boli stanovené u dospelých účastníkov. Normálne a limitné hodnoty u dojčiat a detí sú predmetom výskumu[27,28].

LÁTKY OVPLYVŇUJÚCE TEST

Nasledujúce stavy vzorky môžu ovplyvniť presnosť výsledku testu Fungitell® STAT:

- Hemolýza
- Zakalenosť vzorky spôsobená lipémiou
- Prítomnosť viditeľne zjavného bilirubínu
- Zakalené sérum
- Zvýšené hladiny imunoglobulínu G, ktoré môžu existovať v sére napríklad v dôsledku mnohonásobného myelómu, môžu viesť k vyzrážaniu vzorky v reakčnej zmesi pri pridaní testu Fungitell® STAT do predpripraveného séra[29].

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Multicentrická, prospektívna štúdia vykonaná na validáciu parametrov výkonu testu Fungitell (predikát) zistila, že hodnoty β-glukánu sú zvýšené pri rôznych plesňových infekciách. Ak sú pri hladine 80 pg/ml alebo viac prítomné známky a príznaky, prediktívna hodnota, že účastník je testovaný pozitívne na plesňovú infekciu sa pohybuje v rozmedzí 74,4 až 91,7 %. V prípade neprítomnosti známok a príznakov pri hladine do 60 pg/ml sa negatívne prediktívne hodnoty pohybovali v rozmedzí 65,1 % až 85,1 %.

Indexové hodnoty β-glukánu tesdtu Fungitell® STAT ≥ 1,2 sú interpretované ako pozitívny výsledok v súlade s predikovaným limitom výrobku Fungitell® 80 pg/mL, pričom indexové hodnoty ≤ 0,74 sú interpretované ako negatívne výsledky v súlade s predikovaným limitom výrobku Fungitell® 60 pg/mL.

PARAMETRE VÝKONU

METÓDA POROVNÁVACÍCH TESTOV

Na účel štúdie metódy porovnávania boli použité deidentifiované zmrazené vzorky séra pacienta zozbierané pre rutinnú klinickú starostlivosť o zamýšľané obyvateľstvo a prijaté laboratóriom Beacon Diagnostics® Laboratory, Inc na testovanie predikátu Fungitell®. Beacon Diagnostics® Laboratory, Inc je licensované laboratórium typu Úpravy vylepšení klinických laboratórií (CLIA) a je súčasťou spoločnosti ACC. Do štúdie bolo zahrnutých celkovo 488 deidentifikovaných vzoriek séra pacientov s koncentráciami (1→3)-β-D-glukánu distribuovanými po celom rozsahu štandardnej krivky predikátu Fungitell®. Bolo medzi nimi 309 vzoriek, ktoré spadali do negatívnej zóny výsledkov testu predikátu Fungitell®, 143 vzoriek, ktoré spadali do pozitívnej zóny výsledkov testu predikátu Fungitell® , a 36 vzoriek, ktoré spadali do neurčitej zóny predikátu Fungitell® (**tabuľka 2**). Všetky vzorky boli počas tejto štúdie testované testami Fungitell® STAT aj Fungitell®. Po vylúčení vzoriek spadajúcich do neurčitej zóny testu Fungitell® STAT z analýzy, ostalo zvyšných 290 vzoriek pre analýzu negatívnej percentuálnej zhody a 119 vzoriek pre analýzu pozitívnej percentuálnej zhody

TABUĽKA 2

VÝKON TESTU FUNGITELL® STAT V POROVNANÍ S TESTOM FUNGITELL®

		Predikát Fungitell®			
		Negatívny	Neurčitý	Pozitívny	Celkom
Fungitell® STAT	Negatívny	283	17	1	301 (61,7 %)
	Neurčitý	19	17	24	60 (12,3 %)
	Pozitívny	7	2	118	127 (26,0 %)
	Celkom	309 (63,3 %)	36 (7,4 %)	143 (29,3 %)	488 (100 %)
		NPA: 97,6 %* (283/290) 9 5% CI: (95,4, 99,9)		**PPA:** 99,2 %* (118/119) 95 % CI: (95,4, 99,9)	

Neurčité (tzn. dvojznačné) výsledky nie sú zahrnuté v analýze; ak sú všetky neurčité výsledky považované za diskondartné (napr. falošne pozitívne alebo falošne negatívne), výkon je nasledovný: PPA - 73,8 % (118/160), 95 % CI: (66,4 %, 80,0 %); NPA - 91,0 % (283/311), 95 % CI: (87,3 %, 93,7 %)

NEGATÍVNA PERCENTUÁLNA ZHODA

Dvestoosemdesiattri (283) vzoriek z 290 vzoriek, ktoré boli negatívne pri testovaní so zariadením predikátu Fungitell®, bolo negatívnych aj pri teste Fungitell® STAT. Vypočítaná negatívna percentuálna zhoda (NPZ) s metódou predikátu bola 97,6 % (95 % interval spoľahlivosti: 95,4 %, 99,9 %) (**Tabuľka 2**)

POZITÍVNA PERCENTUÁLNA ZHODA

Stoosemsiat' (118) vzoriek zo 119 vzoriek, ktoré boli pozitívne pri testovaní so zariadením predikátu Fungitell® bolo takisto pozitívnych aj s testom Fungitell® STAT. Vypočítaná pozitívna percentuálna zhoda (PPZ) s metódou predikátu Fungitell® bola 99,2 % (95 % interval spoľahlivosti: 95,4 %, 99,9 %) (**Tabuľka 2**).

ŠTÚDIA REPRODUKOVATEĽNOSTI

Reprodukovateľnosť testu Fungitell® STAT bola hodnotená vložením ľudského séra s Saccharomyces cerevisiae (1→3)-β-D-glukánom, aby sa vytvoril pár'členný panel skladajúci sa nízko negatívnej vzorky, vysoko negatívnej vzorky (tesne pod spodným limitom 0,74), neurčitej (dvojznačnej) vzorky, nízko pozitívnej vzorky (tesne nad horným limitom 1,2) a vysoko pozitívnej vzorky (~2x nad horným limitom 1,2). Panel bol distribuovaný do troch laboratórií CLIA na testovanie testom Fungitell® STAT. Každé laboratórium poskytlo 150 dátových bodov (tzn. 5 vzoriek x trojito na chod x dvaja operátori vykonávajúci jeden chod denne x 5 dní), teda celkovo 450 dátových bodov. Priemerné indexové hodnoty štúdia uvedené v **tabuľke 3** dole sú odvodené z dát, ktoré poskytli tri laboratóriá. Stĺpec Percento pozitívnych predstavuje percento vzoriek z daného člena panela, ktoré spadali do pozitívnej zóny. Spomedzi všetkých troch laboratórií bolo percento pozitívnych výsledkov 1,1 % pri nízko negatívnych vzorkách, 0 % pri vysoko negatívnych vzorkách, 3,3 % pri neurčitých vzorkách, 96,7 % pri nízko pozitívnych vzorkách a 100 % pri vysoko pozitívnych vzorkách.

TABUĽKA 3 VÝSLEDKY ŠTÚDIE REPRODUKOVATEĽNOSTI

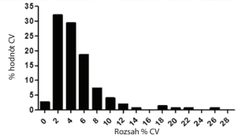
Člen panelu	Priemerný index	Štandardná odchýlka	% CV	Percento pozitívnych (Počet poz./počet testovaných)
Nízko negatívny	0,55	0,10	20,4 %	1,1 % (1/90)
Vysoko negatívny	0,75	0,08	11,1 %	0 % (0/90)
Neurčitý	0,94	0,10	11,1 %	3,3 % (3/90)
Nízko pozitívny	1,6	0,30	18,7 %	96,7 % (87/90)
Vysoko pozitívny	2,6	0,40	15,4 %	100 % (90/90)

ZHODNOSŤ

Odchýlka výsledkov v rámci testu (tzn. % CV) sa pohybovala 0,4 % do 26,8% a hodnoty výsledkov v rámci testu od 11 do 20,4 %. Čo sa týka rozsahu odchýlky v rámci testu, distribúcia rozmedzia % CV je znázornená dole na **obrázku 4**. Celkovo bolo 94 % hodnôt CV 10 % alebo menej a 75 % hodnôt CV bolo 6 % alebo menej.

OBRÁZOK 4

DISTRIBÚCIA HODNÔT % HODNÔT CV V RÁMCI TESTU



METAANALÝZY

Okrem toho boli publikované mnohé odborne recenzované štúdie na tému podpory diagnostiky invazívnych plesňových ochorení na základe (1→3)-β-D-glukánu v sére, vrátane meta-analýz diagnostickej výkonnosti[30,31,32,33,34,35,36,37].

LEGENDA K SYMBOLOM

	„Použiť do“		„Obmedzenie teploty“
	„Obsah postačuje na „N“ testov“		„Výrobca“
LOT	„Kód šarže“		„Pozrite si návod na použitie“
IVD	„Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro“	EC REP	„Autorizovaný zástupca“
REF	„Katalógové číslo“	CE	„Značka CE“

℞only „Len na písomný lekársky poukaz“

ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED
124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA
Telefón: (508) 540-3444
Bezplatné číslo: (888) 395-2221
Fax: (508) 540-8680
Technická podpora: (800) 848-3248
Zákaznícky servis: (800) 525-8378

EC REP Associates of Cape Cod Europe GmbH, Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Germany

Zastúpenie v Spojenom kráľovstve: Associates of Cape Cod, Int'l., Inc, Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool, L33 7RX, Spojené kráľovstvo

Austrálsky garant: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park, 201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Austrália

Referencie

1. Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
2. De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Concensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
3. Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.
4. Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
5. Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H. Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
6. Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
7. Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
8. Lass-Florl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
9. Nucci, M. and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
10. Litvintseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgurich, D.E., Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.
11. Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.
12. Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in *Limulus*. Thrombosis Res. 68: 1-32.
13. Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1→3)-β-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.
14. Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-β-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus amebocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
15. Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
16 . Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.
17. Binder, U., Maurer, E., and Lass-Florl, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
18. Girouard, G., Lachance, C., and Pelletier, R. 2007. Observations of (1→3)-β-D-Glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by *Histoplasma* or *Blastomyces*. J. Med. Mycology 56: 1001-1002.
19. Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
20. Kato, A., Takita, T, Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.
21. Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakat, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauze types. Tohoku J. Exp. Med. 217: 117-121.
22. Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cocanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.
23. Held J, Wagner D.β-d-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2011;17:1118-22.
24. Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-β-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. Int. J. Hematol. 80: 97-98.
25. Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, I., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3-{beta}-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. J. Med. Microbiol. 2010; 59:1016-22.
26. Posteraro B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi,M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguinetti, M., and Antonelli, M. 2011 Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1→3)-β-D-glucan assay, *Candida* score, and colonization index. Crit Care.15: R249.
27. Smith, P.B., Benjamin, D.K., Alexander, B.D., Johnson, M.D., Finkelman, M.A., and Steinbach, W.J. 2007. (1→3)-β-D-Glucan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-glucan test in children. Clin. Vaccine Immunol. 14: 924-925.
28. Goudjil. S., Kongolo, G., Dusol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. J. of Maternenal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-48.
29. Issa, N.C., Koo, S., Lynch, R.C., Gay, C., Hammond, S.P., Baden, L.R., Ghobrial, I.M., Finkelman, M.A., and Marty, F.M... 2012 Serum galactomannan and (1->3)-β-D-glucan assays for patients with multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia. J.Clin. Microbiol. 50:1054-6.
30. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2011; 52:750-70.
31. Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. PLoS One. 2015 Jul 6;10:e0131602.
32. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). Clin Infect Dis. 2012; 54:633-43.
33. Onishi 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 jirovecí* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol. 2012; 50:7-15.
34. Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β-D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2013; 19:39-49.
35. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.
36. Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β-D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2013; 19:39-49.
37. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.
38. Wong J, Zhang Y, Patidar A, Vilar E, Finkelman M, Farrington K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artefact? Limitations of the Limulus Amebocyte Lysate Assay and Role of (1→3)-β-D Glucan. PLoS One. 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.