


Analyyssi seerumin (1→3)-β-D-glukaanin testaamiseen		
FUNGITELL STAT®		
Käyttöohjeet		
	<p>Puhelin: +1 (508) 540-3444 Maksuton: +1 (888) 395-2221 Faksi: +1 (508) 540-8680 Tekninen tuki: +1 (800) 848-3248 Asiakaspalvelu: +1 (800) 525-8378</p>	<p>☒only Σ 10 10 IVD CE</p>
PN002603-fi Rev5	REF FT007	2023-06-13

Löydät ohjeet omalla kielelläsi sivustolta www.acciusa.com.

Tämä tuote on tarkoitettu vain in vitro -diagnoosiikkaan ja ammatillaiseen käyttöön.

1. Käyttötarkoitus

Fungitell STAT® -analyysi on proteaasisympoegenipohjainen kolorimetrisen analyyssi (1→3)-β-D-glukaanin kvalitatiiviseen havaitsemiseen sellaisien potilaiden seerumista, joilla on invasiivisen sieni-infektion oireita tai kyseisille oireille altistavia sairauksia. Useiden lääketieteellisesti tärkeiden sienien¹ soluseinämän komponenttina toimivan (1→3)-β-D-glukaanipitoisuutta seerumissa voidaan käyttää apuna syyien mykoosien ja fungemioiden diagnosoinnissa². Positiivinen tulos ei kerro, minkä sukuinen sieni infektion on voinut aiheuttaa.

(1→3)-β-D-glukaanin indeksiarvoja on käytettävä yhdessä muiden diagnostisten menetelmien, kuten mikrobiologisen viljelyn, biopsianäytteiden histologisen tutkimisen ja radiologisen tutkimuksen, kanssa.

2. Yhteenveto ja selitys

Opportunistiset patogeenit aiheuttavat yhä enemmän sieni-infektioita, etenkin immuunipuutteisille potilaille^{3,4,5}. Invasiiviset sienisairaudet kuten opportunisti-infektiot ovat yleisiä potilailla, joilla on hematologisia kasvaimia, sekä AIDS-potillailla. Ne aiheuttavat myös yhä suuremman osan sairaalaInfektioista, etenkin elinsirtopotilaiden ja muiden immunosuppressiivisia hoitoja saavien potilaiden keskuudessa^{6,7}. Monet sienisairauksista tarttuvat maaperästä, kasvijätteistä, ilmankäsittelyjärjestelmistä ja/tai altistuneilta pinnoilta peräisin olevia sieni-itöitä hengittämällä. Joitakin opportunistisia sienitä esiintyy ihmisen iholla tai ihossa, ruuansulatuskanavassa ja limakalvoilla^{8,9}. Invasiivisten mykoosien ja fungemioiden diagnoosi perustuu yleensä epäspesifiseen diagnostikkaan tai radiologisiin tekniikoihin. Käytössä oleviin diagnostisiin menetelmiin on iskettäin lisätty sieni-infektion biologiset merkkiaineet².

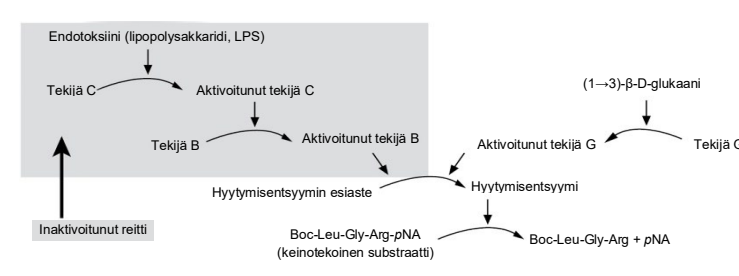
Yhteenveto Fungitell STAT® -analyysistä. Fungitell STAT® -analyysi on proteaasisympoegenipohjainen kolorimetrisen analyyssi (1→3)-β-D-glukaanin kvalitatiiviseen havaitsemiseen sellaisien potilaiden seerumista, joilla on invasiivisen sieni-infektion oireita tai kyseisille oireille altistavia sairauksia.

Fungitell STAT® -analyysi on proteaasisympoegenipohjainen kolorimetrisen analyyssi (1→3)-β-D-glukaanin kvalitatiiviseen havaitsemiseen sellaisien potilaiden seerumista, joilla on invasiivisen sieni-infektion oireita tai kyseisille oireille altistavia sairauksia.

3. Menetelmän periaate
Fungitell STAT® (luettelonumero FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) -analyysi on Fungitell® (luettelonumero FT001, Associates of Cape Cod, Inc. eli ACC) -analyysimuodon mallimuunnos. Fungitell STAT® -analyysi (vuonna 2019 CE-merkitty laite) kehitettiin vastauksena yhden määrittäksen muodon ja pienemmän pakkauskuon tarpeelle Fungitell®-analyysin (edeltävä malli Yhdysvalloissa ja vuonna 2008 CE-merkitty laite) 96-kuoppalevyn muotoon verrattuna.

Fungitell STAT® -analyysi on proteaasisympoegenipohjainen kolorimetrisen analyyssi (1→3)-β-D-glukaanin kvalitatiiviseen havaitsemiseen sellaisien potilaiden seerumista, joilla on invasiivisen sieni-infektion oireita tai kyseisille oireille altistavia sairauksia.

Fungitell STAT® -analyysin avulla voidaan mitata (1→3)-β-D-glukaani kvalitatiivisesti. Analyysi perustuu *Limulus*-amebosytytilysaatti (LAL) -reitin muokkaukseen^{12,13,14,15}. **kuva 1.** Fungitell STAT® -reagenssia on muokattu siten, että bakteerindotoksiinireaktiivisuus eliminoidaan ja että reaganssi reagoi siten vain (1→3)-β-D-glukaaniin kyseisen reitin tekijä G -väliteisen puolen kautta. (1→3)-β-D-glukaani aktiivoi tekijän G, joka on serini-proteaasisympoegeni. Aktivoitunut tekijä G muuttaa hyytymisentsyymin ei-aktiivisen esiasteen aktiiviseksi hyytymisentsyymiksi, joka puolestaan pilkkoo paranitroaniidit-Boc-Leu-Gly-Arg-pNA: ta muodostaen kromoforia, paraniitroaniiliinia (pNA), joka absorboi aallonpituudella 405 nm. Seuraavassa kuvattava kineettinen Fungitell STAT® -analyysi perustuu potilaan seeruminäytteen aiheuttamaan optisen tiheyden määrän suurenemisen määrittämiseen. Tätä määrää verrataan Fungitell STAT® -standardin aiheuttamaan optisen tiheyden määrän suurenemiseen, jolloin saadaan indeksi. Fungitell STAT® -standardi on kalibroitu pitoisuuteen 80 +/- 8 pg/ml, joka on Fungitell® -analyysin positiivinen raja-arvo. Tämä potilaan seeruminäytteen indeksiarvo tunnetaan kvalitatiivisesti negatiiviseksi, määrittelemättömäksi tai positiiviseksi tulokseksi seuraavassa **taulukossa 1** annettujen indeksiarvojen rajojen mukaisesti.


 Kuva 1. *Limulus*-amebosytytilysaattireitti

Taulukko 1. Fungitell STAT® -indeksirajat		
Tulos	Indeksiarvo	
Negatiivinen	≤ 0,74	
Määrittelemätön	0,75–1,1	
Positiivinen	≥ 1,2	

4. Fungitell STAT® -tuotteen mukana toimitettavat materiaalit
Fungitell STAT® -tuote on tarkoitettu *in vitro* -diagnoosiikkaan.

Seuraavat kukin tuotteen mukana toimitettavat materiaalit riittävät yhteensä 10 reaktioon (perustuu 10 putkeen Fungitell STAT® -reagenssia). Kussakin tuotteessa on myös 5 putkea Fungitell STAT® -standardia.

- Fungitell STAT® -reagenssi, kylmäkuivattu (1→3)-β-D-glukaanispesifinen LAL (10 putkea) *Fungitell STAT® -reagenssi koostuu Limulus (ts. molukkirapu) -amebosytytilysaattista, kolorimetrisesta Boc-Leu-Gly-Arg-pNA-substraatista ja Tris-puskurista. Se ei sisällä ihmis- tai nisäkäsproteiineja. Fungitell STAT® -reagenssi ei sisällä häiritseviä määriä (1→3)-β-D-glukaania.*
- Fungitell STAT® -glukaanistandardi (5 putkea), kylmäkuivattu (1→3)-β-D-glukaani. *Fungitell STAT® -glukaanistandardi koostuu D-laktoosista ja (1→3)-β-D-glukaanista, jotka ovat peräisin Saccharomyces cerevisiae -hiivaavusteesta. Sisäinen kontrolli: Fungitell STAT® -standardin (1→3) β-D-glukaanipitoisuus on kalibroitu Fungitell® -tuotteen (edeltävä malli Yhdysvalloissa ja vuonna 2008 CE-merkitty laite) positiivisen raja-arvoon ja sisäistä viitestandardia vastaan. Fungitell STAT® -standardi sisältää tunnetun määrän glukaania. Tuloksena saadut arvot kuvataan laadunvalvontasiossa, ja ne toimivat Fungitell STAT® -analyysin sisäisenä kontrollina.*
- Käyttöohjeet
- Pikaopas

5. Tarvittavat materiaalit, joita ei toimiteta pakkauksen mukana
Mikään materiaaleista ei saa sisältää häiritsevävä glukaania.

- LAL-reagenssivesi* (5,5 ml:n pullo, luettelonumero W0051-10)
- Emäksinen esikäsittelyliuos, 0,125 M KOH ja 0,6 M KCl* (2,5 ml:n pullo, luettelonumero APS1-5)
- Pipettejä, joilla voidaan pipetoida tilavuuksia 20–200 µL ja 100–1 000 µL
- Pipetinkärkiä* (250 µL, luettelonumero PPT25, ja 1 000 µL, luettelonumero PPT10)
- Pitkiä pipetinkärkiä* (20–200 µL, luettelonumero TPT50)
- Koeputkia* potilaan näytteen valmisteluun ja seerumin yhdistämiseen esikäsittelyluoksen kanssa (12 x 75 mm, luettelonumero TB240-5)
- Putkiliukuja ja kineettisen analyysin ohjelmistoa
 - PKF08, inkuboiva 8-kuoppainen putkiliukuja (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)**, jossa on Beta Glucan Analytics -analyttikaajohelmisto (BG Analytics®), BG Analytics® -ohjelmiston opas ja BG Analytics® -järjestelmän verifointiprotokolla** (BGA007, Associates of Cape Cod, Inc.). PKF08-laitteen ja BG Analytics® -ohjelmiston toimittaa Associates of Cape Cod, Inc. (luettelonumero PKF08-PKG**). PKF08-PKG on valdaitoittu Fungitell STAT® -määrittäksen kanssa. **Tai**...
 - Inkuboiva (37 °C) putkiliukuja, jolla voidaan lukea aallonpituuksilla 405 nm ja 495 nm vähintään alueella 0–1,0 absorbanssisyikköä), kytkettynä sopivaan tietokonepohjaiseen kineettiseen analysohjelmistoon, jolla voidaan analysoida reaktiokinetiikkaa ja joka tukee käyttöohjeiden laadunvalvontasiossa lueteltujen kriteerien arviointia.
- Sterilejä, glukaania sisältämättömiä putkia näytteiden erin jakamista varten. Voidaan käyttää putkia, jotka on sertifioitu RNAasia, DNAasia ja pyrogeenejä sisältämättömiiksi.
- Parafilm®

*Nämä Associates of Cape Cod, Inc:n (ACC) toimittamat tuotteet eivät sertifioidusti sisällä häiritseviä glukaaneeja.

**Käyttöoppaat voidaan ladata ACC:n verkkosivustolta: www.acciusa.com.

- Reagenssien säilytys**
 - Säilytä toimitettua pakkausta pimeässä, 2–8 °C:n lämpötilassa.
 - Fungitell STAT® -reagenssi ja Fungitell STAT® -standardi on suunniteltu käytettäväiksi enintään yksi tunti nesteeseen luottamisen jälkeen.
- Varoitukset ja varoitoimet**
 - Älä pipetoi mitään materiaalia suulla. Älä tupakoi, syö tai juo alueilla, joilla käsitellään näytteitä tai pakkauksen reagensseja.
 - Noudata käyttömääräyksiä ja paikallisia turvallisuusmääräyksiä.
 - Käytä suojakäsineitä, kun käsittelet mahdollisesti tartunnanvaarallisia tai vaarallisia biologisia näytteitä. Käsineiden peittämät kädet on katsottava joka hetkellä kontaminoituneiksi. Pidä käsinäkädet kaukana silmistä, suusta ja nenästä. Käytä silmäsuojia ja kirurgista maskia, jos aerosolikontaminaatio on mahdollinen.
 - Tuotteita, joiden sisältö on vaurioitunut, ei saa käyttää.
 - Hävittäminen: Kemikaalien ja preparaattien jäämien katsotaan yleisesti olevan vaarallisia jätteitä. Tämän tyyppisen jätteen hävittämistä säädellään kansallisilla ja alueellisilla laeilla ja määräyksillä. Ota yhteys paikallisiin viranomaisiin tai jätteenkäsittely-yrityksiin saadaksesi neuvoja vaarallisen jätteen hävittämisestä.
 - Fungitell STAT® -reagenssin, Fungitell STAT® -standardin, LAL-reagenssiveden ja emäksisen esikäsittelyluoksen **käyttöturvallisuustiedotteet** voidaan ladata ACC:n verkkosivustolta: www.acciusa.com.

7.1 Menetelmään liittyvät varoitoimet

Fungitell STAT® -analyysi edellyttää perusteellista paneutumista tekniikkaan ja testausympäristöön. Analyysin tehokkuuden kannalta on erittäin tärkeää, että suorittaja saa analyysiiä ja kontaminaation välttämistä koskevan perusteellisen koulutuksen.

- Varmista, että analyysin suoritusympäristö on puhdas.
- Huomioi, että ihmiskehosta, vaatteista, astioista, vedestä ja ilman pölystä peräisin oleva glukaani ja sienipartikkelikontaminaatio voivat häiritä Fungitell STAT® -määrittystä.
- Mahdollisia kontaminaation lähteitä: selluloosaa sisältävät materiaalit kuten sideharso, paperipyyhkeet ja pahvi, pumputulipalla varustetut lasipipetit ja selluloosasuodattimilla varustetut pipetinkärjet. Kirurgisista sideharsoseiteistä ja sienistä voi myös erittyä suuria määriä (1→3)-β-D-glukaania^{21,22}. Katso muita potilaaseen liittyviä kontaminaation lähteitä Määrittäksen rajoitukset -osiota.
- Käytä heti aivoimet injektiopullot, joissa on emäksistä esikäsittelyluosta ja LAL-reagenssivettä, ja jos mahdollinen kontaminaatio on riskinä, älä käytä näitä materiaaleja uudelleen.
- Fungitell STA®-reagenssi ja Fungitell STAT® -standardi vapautetaan myyntiin eräparina. Tästä syystä ei pidä käyttää mitään Fungitell STAT® -reagenssin ja Fungitell STAT® -standardin osia, jotka ovat peräisin muista tuote-eristä. Siksi suosittelemme hävittämään mahdolliset jäljellä olevat Fungitell STAT® -standardit heti, kun pakkaukseen sisältyneet Fungitell STAT® -reagenssiputket on käytetty.
- Älä käytä materiaaleja niiden viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.

7.2 Näytteiden käsittely

- Verinäytteen otto ja seerumin valmistaminen on tehtävä hyväksytyjen paikallisten määrittysten mukaisesti. Näytteiden ottaminen: Verinäytteet voidaan ottaa steriileihin seerumin valmisteluputkiin tai seerumin erotteluputkiin (SST-putki) seerumin valmistelua varten.
- Näytteiden säilytys: Seeruminäytteitä voidaan säilyttää 2–8 °C:ssa enintään 15 päivää tai pakastettuna -20 °C:ssa enintään 27 päivää tai -80 °C:ssa enintään 4 vuotta.
- Näytteiden merkitä: Näytteet on merkittävä selkeästi lääketieteellisen laitoksen (laboratorion) hyväksytytjen käytäntöjen mukaisesti.

7.3

Huomautuksia määrittämenetelmästä:

- Käytä hyvää laboratoriokäytäntöjä paikallisia säännöksiä noudattaen. Tämä määrittys on herkkä kontaminaatiolle ja pipetoinnin epätarkkuudelle.
- Jotta käyttäjän turvallisuus varmistetaan seeruminäytteen kanssa työskennellessä ja jotta vähennetään (1→3)-β-D-glukaanikontaminaation mahdollisuutta ympäristöstä menetelmän aikana, suosittelemme työskentelyä biologisessa suojakaapissa.
- Jotta vähennetään lasipullojen tarpeettomia siirtämisitä biologisen suojakaapin sisälle ja sieltä pois, suosittelemme tuomaan vorteksilaitteen biologisen suojakaapin sisälle (kunhan ratkaisevan tärkeä ilmavirtaus säilytetään).
- Suosittelemme käyttämään pitkiä pipetinkärkiä ristikontaminaation torjumiseksi pullojen välillä.
- Fungitell STAT® -standardia (punainen korkki ja punaviivainen etiketti) on käsiteltävä aina samoissa olosuhteissa ja samaan aikaan kuin potilasnäytettä (tai -näytteitä) ajon sisällä. Tämä on ratkaisevan tärkeää, sillä määrittäksen tulos on indeksi (näyte/standardi) kineettisistä reaktionopeuksista (tai kulmakertoimista OD/s), jotka on saatu potilasnäytteestä ja Fungitell STAT® -standardista.
- Suosittelemme käyttämään erilisiä putkiliuoneitä määrittäysmenetelmän aikana, toinen näytteen valmisteluputkia varten ja toinen reagenssiputkia varten, jota sekaantuminen ja ristikontaminaatio vältetään.
- Suosittelemme asettamaan Fungitell STAT® -standardin tiettyyn ja yhdenmukaiseen paikkaan putkiliuoneissä, inkubaattorissa ja lukijassa. Käytä PKF08-lukijassa ensimmäistä kuoppaa vasemmassa, jossa lukee "Standard" (standardi).
- Varmista jokaisen sekoitusvaiheen jälkeen visuaalisesti, että liuos on sekoittunut homogeeniseksi.

8.

8. Menetelmä
Fungitell STAT® -tuote sisältää pikaoppaan, jossa on kuvia ja yhteenveto PKF08-instrumentin ja BG Analytics® -ohjelmiston ominaisuuksista.

Seuraavat toiminnot ovat jo valmiiksi asetettuja, kun käytetään PKF08-laitetta ja BG Analytics® -ohjelmistoa: laitteen asetus, tulosten arviointi ja laadunvalvonta. Katso lisätietoja BG Analytics® -ohjelmiston käyttöoppaasta tai ota yhteys valmistajaan.

8.1 Instrumentin asetus ja määrittäksen ohjelmointi

- 8.1.1 **Kun käytetään PKF08-laitetta ja BG Analytics® -ohjelmistoa:** Käynnistä laite ja noudata BG Analytics® -ohjelmiston ohjeita. Katso tarkat tiedot BG Analytics® -oppaasta.

8.1.2

- Kun käytetään muuta instrumenttia ja ohjelmistoa,** seuraavien ehtojen on täyttyttävä: Instrumentin on kyettävä saavuttamaan lämpötila 37 °C ± 1 °C ja säilyttämään se.
- Instrumentin ja ohjelmiston on kyettävä lukemaan optista tiheyttä ajan kuluessa (kineettinen tila) kahdella aallonpituudella. Nämä aallonpituudet on nimenomaisesti asetettava aallonpituuteen 405 nm ja 495 nm.
- Aseta kineettinen tila lukemaan 40 minuutin (2 400 sekunnin) pituus. Aseta kineettisen lukemisen aikaväli minimiarvoon, jonka ohjelmisto/instrumentti sallii.
- Mittauksen on käynnistyttävä heti näytteen lisäyksen hetkellä.
- Katso ohjelmiston oppaasta, miten lasketaan nopeuden (kulmakerroin) mittaus datasarjasta. Tämän määrittäksen tarkoituksissa tämä saavutetaan yleensä tekemällä kineettisestä datasta lineaarinen regressio ehdotetun ajanjakson kuluessa. Aseta lineaarisen regression laskenta suoritettavaksi välillä 1 900–2 400 sekuntia ohjelmiston "slice" (leikeitoiminnon) avulla.

8.2

Merkitse putket

- Merkitse yksi tyhjä putki kutakin määritettävää potilaan seeruminäytettä kohti.
- Merkitse yksi Fungitell STAT® -reagenssiputki kutakin määritettävää potilaan seeruminäytettä kohti.
- Merkitse yksi Fungitell STAT® -reagenssiputki Fungitell STAT® -standardia varten.

8.3

- Valmistele potilaan seeruminäyte**
 - Varmista potilaiden seeruminäytteiden homogeenisuus vorteksioimalla niitä vähintään 20 sekuntia. ***Huomautus:** Pakastusprosessi voi aiheuttaa näytteeseen heterogeenisyyttä, koska vettä erottuu kasvaavan jääkkeeseen ja liuenneet aineet jäävät siten ulkopuolelle.*
 - Lisää potilaan seeruminäytettä ja emäksistä esikäsittelyluosta suhteessa 1:4 vastaavaan merkittyyn tyhjiään putkeen. Suosittelut tilavuudet ovat 50 µL potilasnäytettä ja 200 µL emäksistä esikäsittelyluosta. ***Huomautus:** Emäksinen esikäsittelyliuos muuttaa kolmoisheliksikulukaanit yksiyksusteiseksi glukaaneiksi^{14,15}, jotka ovat analyysissä reaktiivisempia. Lisäksi emäksinen pH inaktivoi seerumin proteaaseja ja estäjiä, jotka voivat häiritä analyysitä⁴.*
 - Vorteksoi 15 sekuntia ja sulje putki.

8.4

- Valmistaa Fungitell STAT® -standardi*****Huomautus:** Kukin tuote (Fungitell STAT® -standardin ja Fungitell STAT® -reagenssin pari) testataan ja vapautetaan myyntiin toisistaan riippumatta. Siten on tärkeää käyttää nesteiden liuottamisen ja emäksisen esikäsittelyluoksen tilavuuksia, jotka ovat eränumeroiden mukaisia. Nämä on esitetty Fungitell STAT® -standardin pakkausetiketissä. Fungitell STAT® -tuotteen analyysieriftikaatissa sekä ACC:n verkkosivustolla. Suositus: Ennen kuin aloitat määrittystä, kirjoita muistiin nämä tiedot mukana toimitettuun pikaoppaaseen.*
 - Liuta yksi pullollinen Fungitell STAT® -standardia eränumerokohtaiseen tilavuuteen LAL-reagenssivettä ja vorteksoi 15 sekuntia.
 - Lisää eränumerokohtainen tilavuus emäksistä esikäsittelyluosta.
 - Vorteksoi 15 sekuntia ja sulje putki.

8.5

Esikäsittelyinkubaatio putkiliukijassa
Inkuboi potilaan seeruminäyteputkia (vaiheesta 8.3) ja Fungitell STAT® -standardipulloa (vaiheesta 8.4) 10 minuuttia 37 °C:ssa.

Huomautus: Kun käytetään PKF08-instrumenttia, merkivalo muuttuu punaisesta vihreäksi, kun putki asetetaan kuoppaan. Työnmä putki kokonaan paikalleen, kunnes merkivalo muuttuu vihreäksi.

⚠ Huomio! Putket ovat helposti särkyviä. Jos teräviä lasinpaloja ja nesteitä pääsee PKF08-instrumentin mittausasemaan, ota yhteys Associates of Cape Cod, Inc:n tekniseen palveluun.

8.6 Valmistele Fungitell STAT® -reagenssiputket

- Liuta jokainen pullollinen Fungitell STAT® -reagenssia (merkitty edellä vaiheessa 8.2) 300 µL:aan LAL-reagenssivettä.
- Vorteksoi varovasti **enintään** 5 sekuntia. ***Huomautus:** Fungitell STAT® -reagenssi sisältää useita aktiivisia proteiineja, joita tarvitaan määrittäykseen, ja suosittelemme käsittelemään liuosta varoen. Kaikkien vorteksilaitteiden suositeltu maksimiasetus on 2 000 rpm. Älä sekoita liikaa.*
- Esi-inkubaation jälkeen:
 - Siirrä 75 µL kunkin potilaan seeruminäyteliuosta sitä vastaavaan Fungitell STAT® -reagenssiputkeen.
 - Siirrä 75 µL Fungitell STAT® -standardia sitä vastaavaan Fungitell STAT® -reagenssiputkeen.
 - Vorteksoi kaikki putkia **enintään** 5 sekuntia ja sulje putki.

8.7

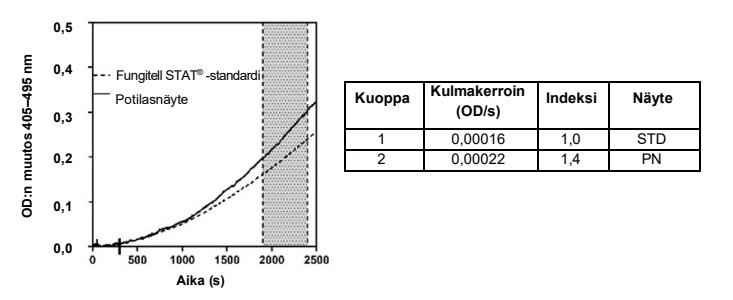
- Aseta putket putkiliukijaan. Varmista, että kukin putki on sille tarkoitettussa kuopassa.
- Aloita kineettinen lukeminen 40 minuutin aikajakson ajan 37 °C:ssa.

9

9.1 Laske tulosk

9.1 Mittausperiaate

Fungitell STAT® -määrittäksen tuloksia käytetään apuna invasiivisen sieni-infektion diagnosoinnissa. Potilasnäytteen ja Fungitell STAT®:n standardinopeudet saadaan laskemalla kulmakerroin (nopeus) välillä 1 900–2 400 OD:n muutoksen 405–495 nm tuloksista. Fungitell STAT®-indeksin tulokset saadaan jakamalla potilasnäytteen kulmakerroin Fungitell STAT®-standardin kulmakertoimella (katso kuva 2).



Kuva 2. Esimerkki Fungitell STAT® -kineettisistä käyristä ja data-analyysistä

 Harmaalla korostettu alue on kulmakertoimen määrittämisen alue (1 900–2 400 sekuntia), yhtenäinen viiva on esimerkki potilasnäytteestä ja katkoviiva on Fungitell STAT® -standardin näytteen kulmakerroin (ts. 0,00022 OD/s) jaetaan Fungitell STAT® -standardin kulmakertoimella (ts. 0,00016 OD/s), josta saadaan näytteelle indeksi 1,4.

Fungitell STAT® -standardin kulmakertoimella

9.2 Kun käytetään PKF08-laitetta ja BG Analytics® -ohjelmistoa:

- Ohjelmisto tekee automaattisesti laadunvalvontakriteerien arvioinnin. Tulos näytetään loppuraportissa.
- BG Analytics® -ohjelmisto määrittää valideja määrittysajoja varten indeksiarvon kullekin näytteelle eli nimeää näytteelle selkeän negatiivisen tai positiivisen tuloksen.
- Jos ohjelmisto näyttää mitään osoituksia kelpaamattomista parametreista tulosten arvioinnissa, noudata BG Analytics® -ohjelmiston oppaan ohjeita.

9.3

Kun käytetään muuta ohjelmistoa:

Varmista, että kaikki laadunvalvontakriteerit täytetään.

10.

- Laadunvalvonta**
Seuraavassa luetaan Fungitell STAT® -standardin ja potilaan seeruminäytteiden tulosten laadunvalvontakriteerit ja myös esimerkkejä odotetuista kineettisten käyrien muodoista. Nämä laadunvalvontakriteerit valdaitoitiin Suorituskykyominaisuudet-osiossa esitettyjen tutkimusten aikana.
 - Varmista kaikkien kuoppanumeroiden kohdalla Fungitell STAT® -standardin tai näytenumeron nimeäminen.**

10.

- Fungitell STAT® -standardin tuloksissa:**
 - korrelaatiokertoimen (r) on oltava ≥ 0,980 ja
 - kulmakertoimen on oltava kulmakertoimen odotetulla alueella 0,00010–0,00024 OD/sekunti.*Jos Fungitell STAT® -standardin tulos ei täyty kriiteerejä 1 ja 2, ajo on mitätön ja kaikki näytteet täytyy valmistaa uudelleen ja määrittää uudelleen.*

10.

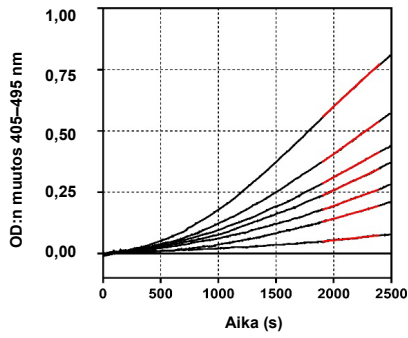
- Toimi kaikkien potilasnäytetulosten kohdalla seuraavasti:**
 - Määritä, voiko tulos olla määrittäksen mittausalueen ulkopuolella**
 - Tulos on todennäköisesti alueen ulkopuolella **positiivisella** puolella, jos:
 - Y-akselin leikkauspiste on positiivinen ja
 - kineettinen käyrä ohittaa OD:n 0,4 ennen 1 000 sekunnin kohtaaa.
 - Tulos on todennäköisesti alueen ulkopuolella **negatiivisella** puolella, jos:
 - kineettinen käyrä on positiivinen 500 sekunnin jälkeen ja
 - OD on > 0,00 ja < 0,07 määrittäksen lopussa.

Jos näytteen tulos täyttää kummatkin kriiteerit alueen ulkopuolella olemissen joko positiivisella tai negatiivisella puolella, alla olevien laadunvalvontakriteereiden ei tarvitse täytyä ja indeksiarvo ei pidä laskea. Kaikki positiivisella puolella olevat alueen ulkopuoliset tulokset on raportoitava "positiivisiksi" ja kaikki negatiivisella puolella olevat alueen ulkopuoliset tulokset on raportoitava "negatiivisiksi".

- Jos edellä olevat kriteerit eivät sovellu, varmista yleinen laadunvalvonta:**
 - kineettisen käyrän on oltava positiivinen 500 sekunnin jälkeen
 - kineettisen käyrän OD:n on oltava ≥ 0,00 määrittäksen lopussa
 - kulmakertoimen on oltava numeerisesti positiivinen
 - korrelaatiokertoimen (r) on oltava ≥ 0,980 ja
 - kineettisen käyrän on oltava ylöspäin nousevan käyrän muotoinen yhteneväisesti **kuvassa 3** esitettyjen esimerkkin kanssa.

Jos näytetulos ei täytä yleisiä laadunvalvontakriteerejä nro 1 ja 3–5, näytetulos on mitätön ja näyte on määritettävä uudelleen. Vaihtoehtoisesti on käytettävä toista menetelmää.

Jos näytetulos ei täytä laadunvalvontakriteeriä nro 2, tämä viittaa siihen, että näytteen signaali on heikko. Siinä tapauksessa käyttäjän on huolella arvioitava laadittua käyrää kyseisessä asiayhteydessä ja määrittävä tulosen validiteetti laboratorion sisäiseen laajjärjestelmään perustuen.



Kuva 3. Esimerkkejä asianmukaista kineettisten käyrien muodoista

Kineettisten käyrien muodon on ottava ylöspäin kasvava käyrä, kuten yllä olevissa esimerkeissä. Tässä näytetyt näyte-esimerkit ovat koko Fungitell STAT® -määrityksen indeksialueelta. Käytä näitä esimerkkejä laadunvalvontakriteerien tarkastelun.

Huomautus:

- Jokaisen testin käyttäjän tulee ottaa käyttöön laadunvalvontahojelma analyysin suorittamistekniikan osaamisen varmistamiseksi laitoksen soveltuvien määrysten mukaisesti.
- Suosittelme seerumin kontrollinäytteiden (negatiivinen, lähellä raja-arvoa tai voimakkaan positiivinen) määrittämistä laboratorion lisätkarkistusten ja hyvän laboratorikiäytännön yhteydessä. Näitä ei sisälly Fungitell STAT® -pakkaukseen.

11. Tulosten tulkitta

- Negatiivinen tulos**

Indeksiarvot ≤ 0,74 tulkitaan negatiivisiksi tuloksiksi.

Testin suorittaman laboratorion on tiedotettava testin määräävälle lääkärille, että kaikki sieni-infektiot eivät aiheuta seerumin (1→3)-β-D-glukaanitason kohoamista. Jotkin sienet, kuten suku *Cryptococcus*^{6,17}, tuottavat erittäin matalia (1→3)-β-D-glukaanitasoja. *Mucorales*-sienet, kuten *Absidia*,*Mucor* ja *Rhizopus*¹⁷, eivät tietojen mukaan tuota (1→3)-β-D-glukaania. Samoin *Blastomyces dermatitidis*, hiivavaheessaan, tuottaa vähän (1→3)-β-D-glukaania, ja blastomykoosipotilaille ei tavallisesti ole havaittavia (1→3)-β-D-glukaanitasoja Fungitell STAT® -analysissä¹⁸.

- Määrittelämätön tulos**

Indeksiarvot 0,75–1,1 katsotaan määrittelämättömiksi (epäselvä). Tällöin suositellaan lisänäytteiden ottamista ja seerumin lisätestauksia. Toistuva näyteenotto ja testaaminen parantavat hyödyllisyyttä diagnoosin apuna.

- Positiivinen tulos**

Indeksiarvot ≥ 1,2 tulkitaan positiiviseksi tulokseksi. Positiivinen tulos tarkoittaa, että on havaittu (1→3)-β-D-glukaania. Positiivinen tulos ei määritä sairauden esiintymistä, ja sitä tulee käyttää yhdessä muiden kliinisten löydösten kanssa diagnoosin tekemiseen.

12. Määrityksen rajoitukset

- Sieni-infektion kudossijainnit⁷, kapseloituminen ja tiettyjen sienten tuottaman (1→3)-β-D-glukaenin määrä voivat vaikuttaa tämän analyysin pitoisuuteen seerumissa. Heikentynyt kyky tuoda (1→3)-β-D-glukaania verenkiertoon voi heikentää kykyä havaita tiettyjä sieni-infektioita.
- Joidenkin henkilöiden (1→3)-β-D-glukaaniin indeksiarvot sijoittuvat määrittelämättömälle alueelle. Tällaisissa tapauksissa suositellaan seurantausta.
- Potilaan testauksen toistuvus riippuu sieni-infektion suhteellisesta riskistä. Riskipotilaille suositellaan näyteenottoa vähintään kahdesta kolmeen kertaa viikossa.
- Positiivisia tuloksia on löytnyt hemodialyysipotilaita^{19,20,39}, potilaita, joita on hoidettu tietyillä fraktioiduilla verivalmisteilla, kuten seerumin albumiinilla ja immunoglobuliinilla^{23,24}, ja näytteistä tai potilailta, jotka ovat ahdistuneet glukaania sisältäville sideharsolle ja kirurgisille sienille. Potilaiden seerumin (1→3)-β-D-glukaanitason palaaminen perustasolle kestää 3–4 vuorokautta leikkauksen aikana (1→3)-β-D-glukaania sisältäville sienille ja sideharsolle altistumisen jälkeen^{21,22}. Tämä on otettava huomioon leikkauspotilaiden näytteiden ottamisen ajoituksessa.
- Kantapäästä tai somesta otettavat pistosnäytteet eivät kelpaa, koska pistopaikan valmisteluun käytenyi, alkoholilla kostutetun sideharon (ja mahdollisesti myös veren ihon pinnalle kertymisen) on osoitettu kontaminoivan näytteet. Tähän mennessä ei tutkimuksissa ole havaittu eroja keskuskalsiumyhteyden ja injektioikänyilin kautta saatujen näytteiden välillä^{25,26}.
- Testitaset on laadittu aikuispotilailla. Imeväisten ja lasten normaalitasoja ja raja-arvoja tulkitaan edelleen^{27,28}.

13. Suorituskykyominaisuudet

13.1 Odotetut arvot

- Viitemenetelmän, Fungitell®-määrityksen, diagnostinen herkkyys ja diagnostinen spesifisyys** Fungitell®-määrityksen (edeltävä Mh1 Yhdysvalloissa ja tuotena 2008 CE-merkitty laite) diagnostisen herkkyyden ja diagnostisen spesifisyyden määrittämiseksi toteutetussa prospektiivisessä monikeskustutkimuksessa on osoitettu, että (1→3)-β-D-glukaaniarvot kohoavat useissa erilaisissa sieni-infektioissa. Kun merkkejä ja oireita esiintyy tason ollessa vähintään 80 pg/ml, on positiivinen ennusteervo potilaan sieni-infektiolle 74,4–91,7 %. Jos merkkejä ja oireita ei ole tason ollessa alle 60 pg/ml, ovat negatiiviset ennustearvot 65,1–85,1 %²⁹.

- Fungitell STAT® -raja-arvojen määrittäminen**

Tämän tutkimuksen tarkoituksena käytettiin anonymisoituja, pakastettuja potilaiden seeruminäytteitä, joita oli otettu rutiininomaisista kliinistä hoitoa varten käyttötarkoituksen mukaisesta väestöstä ja jotka Beacon Diagnostics Laboratory, Inc. -laboratorio vastaanotti Fungitell®-määrittystä varten. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc. on lisensoitu Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) -laboratorio, joka on osa Associates of Cape Cod (ACC) -yhtiötä. 93 anonymisoidun potilasseeruminäytteen ryhmä otettiin tutkimukseen, (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuksien jakautuessa koko Fungitell®-standardikäyrän alueelle 31–500 pg/ml. Fungitell STAT® -raja-arvon arviointi noudatti ROC-käyräanalysiä (Receiver Operating Characteristic Curves, toimintaominaiskäyrät)³⁰. Tulokset osoittivat, että Fungitell STAT® -β-glukaani-indeksiarvot ≥ 1,2 on tulkittava positiivisiksi tuloksiksi yhtenevästi Fungitell®-tuotteen raja-arvon 80 pg/ml kanssa, kun taas indeksiarvot ≤ 0,74 on tulkittava negatiivisiksi tuloksiksi yhtenevästi Fungitell®-tuotteen raja-arvon 60 pg/ml kanssa. Nämä raja-arvot validoitiin osana menetelmävertailun tutkimusta ja alla esitettyä negatiivisen prosentuaalisen yhtäpitävyyden ja positiivisen prosentuaalisen yhtäpitävyyden laskentaa.

13.2. Menetelmävertailututkimus

Samoin kuin raja-arvotutkimuksessa, mutta eri näytesarjaa käyttäen, käytettiin menetelmävertailututkimuksen tarkoitukseen 488:aa anonymisoitua, pakastettua potilaiden seeruminäytettä, joissa (1→3)-β-D-glukaanipitoisuudet myös jakautuivat koko Fungitell®-standardikäyrän alueelle 31–500 pg/ml³⁰. Näihin sisältyi 309 näytettä, jotka osuivat Fungitell®-

analyysin tulosten negatiiviselle alueelle, 143 näytettä, jotka osuivat Fungitell®-tulosten positiiviselle alueelle, ja 36 näytettä, jotka osuivat Fungitell®-tulosten määrittelämättömälle alueelle (**taulukko 2**). Kaikki näytteet määritettiin sekä Fungitell STAT®- että Fungitell®-analyysillä tämän tutkimuksen aikana. Kun suljettiin pois näytteet, jotka osuivat Fungitell STAT® -tulosten määrittelämättömälle alueelle, jäljelle jäi 290 näytettä negatiivisen prosentuaalisen yhtäpitävyyden analyysää varten ja 119 näytettä positiivisen prosentuaalisen yhtäpitävyyden analyysää varten.

Taulukko 2. Fungitell STAT® -analyysin suorituskyky vs. Fungitell®					
		Fungitell®			
		Negatiivinen	Määrittelämätön	Positiivinen	Yhteensä
Fungitell STAT®	Negatiivinen	283	17	1	301 (61,7 %)
	Määrittelämätön	19	17	24	60 (12,3 %)
	Positiivinen	7	2	118	127 (26,0 %)
	Yhteensä	309 (63,3 %)	36 (7,4 %)	143 (29,3 %)	488 (100 %)
		NPY: 97,6 %* (283/290) 95 %:n CI: (95,4, 99,9)		PPY: 99,2 %* (118/119) 95 %:n CI: (95,4, 99,9)	

 *Määrittelämättömiä (ts. epäselviä) tuloksia ei ole sisällytetty analyysiin; jos kaikkia määrittelämättömiä tuloksia pidetään ristiriitaisina tuloksina (esim. vääränä positiivisena tai vääränä negatiivisena), suorituskyky on seuraava: PPY - 73,8 % (118/160), 95 %:n CI: (66,4 %, 80,0 %); NPY - 91,0 % (283/311), 95 %:n CI: (87,3 %, 93,7 %)

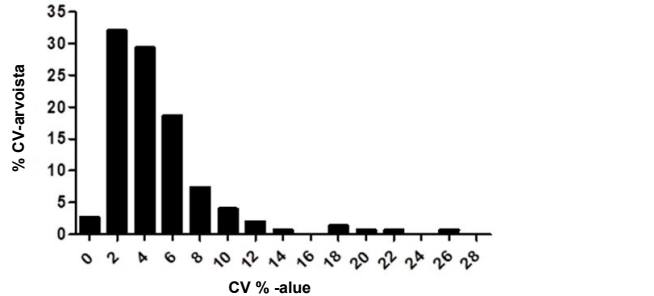
- Negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys** Kaksisaatakahdeksankymmentäkolme (283) 290 näytteestä, jotka olivat negatiivisia Fungitell®-laitteella testattuna, olivat negatiivisia myös Fungitell STAT® -analyysillä. Laskettu negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys (NPY) Fungitell®-menetelmän kanssa oli 97,6 % (95 %:n luottamusväli: 95,4 %, 99,9 %) (**taulukko 2**)
- Positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys** Satakahdeksantoista (118) 119 näytteestä, jotka olivat positiivisia Fungitell®-laitteella testattuna, olivat positiivisia myös Fungitell STAT® -analyysillä. Laskettu positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys (PPY) Fungitell®-menetelmän kanssa oli 99,2 % (95 %:n luottamusväli: 95,4 %, 99,9 %) (**taulukko 2**).
- Mittausalue, lineaarisuus ja tarkkuus** Indeksitulokset vaihtelivat noin välillä 0,4–3,5, mikä kattaa koko Fungitell®-standardikäyrän alueen (31–500 pg/ml). Lineaarinen korrelaatio Fungitell®-pitoisuuden ja Fungitell STAT® -indeksitulosten välillä oli 0,92 (95 %:n luottamusväli: 89,9 % ja 93,6 %).

13.3 Analytтынen laboratoroiden välinen tutkimus

Fungitell STAT® arvioitiin täsmällisyyden (ts. toistuvuus ja toistettavuus), analyttisen herkkyyden ja analyttisen spesifisyyden suhteen lisäämällä ihmisen seerumiin *Saccharomyces cerevisiae*n (1→3)-β-D-glukaania, niin että saatiin viisijäseninen näytepaneeli, joka koostui matalasta negatiivisesta näytteestä, korkeasta negatiivisesta näytteestä (juuri alemman raja-arvon 0,74 alapuolella), määrittelämättömästä (epäselvästä) näytteestä, matalasta positiivisesta näytteestä (juuri ylempään raja-arvon 1,2 yläpuolella) ja korkeasta positiivisesta näytteestä (noin 2 kertaa ylempi raja-arvo 1,2). Kyseinen näytepaneeli jaettiin kolmelle CLIA-laboratoriolle Fungitell STAT® -analyysillä testaamista varten. Jokainen laboratorio tuotti 150 datapistettä (ts. 5 näytettä x kolmekertainen rinnakkaisnäyte ajoa kohti x kaksi käyttäjää, jotka tekivät yhden ajon päivässä x 5 päivää), kaikkiaan 450 datapistettä ja sisältäen 30 ajoa (ts. analyysissä) ja 90 datapistettä näytettä (ts. näytepaneelin jäsentä) kohti. Alla **taulukossa 3** esitetyt keskimääräiset tutkimuksen indeksiarvot on saatu näiden kolmen laboratorion antamista tiedoista. Prosenttia positiivisia -sarake edustaa tietyin, näytepaneelin positiiviselle alueelle osuneen jäsenen näytteiden prosentiosuutta. Kaikkien kolmen laboratorion joutuessa Prosenttia positiivisia -tulokset olivat 1,1 % matalalle negatiiviselle näytteelle, 0 % korkealle negatiiviselle näytteelle, 3,3 % määrittelämättömälle näytteelle, 96,7 % matalalle positiiviselle näytteelle ja 100 % korkealle positiiviselle näytteelle.

Taulukko 3. Analyttinen laboratoroiden välinen tutkimus					
	Keskimääräinen indeksi	Keskiahajonta	% CV	Prosenttia positiivisia (posit.määrä / testattujen määrä)	Analyttinen spesifisyys (oikea negatiivinen) ja analyttinen herkkyys (oikea positiivinen)
Matala negatiivinen	0,55	0,10	20,4 %	1,1 % (1/90)	89/90 oikea negatiivinen
Korkea negatiivinen	0,75	0,08	11,1 %	0 % (0/90)	90/90 oikea negatiivinen
Määrittelämätön	0,94	0,10	11,1 %	3,3 % (3/90)	87/90 ei positiivinen
Matala positiivinen	1,6	0,30	18,7 %	96,7 % (87/90)	87/90 oikea positiivinen
Korkea positiivinen	2,6	0,40	15,4 %	100 % (90/90)	90/90 oikea positiivinen

Kuten taulukossa 3 osoitetaan, analyysien välinen variaatio (ts. CV %) vaihteli välillä 11–20,4 % ja toimi toistettavuuden mittana. Analyysien sisäinen vaihtelu vaihteli välillä 0,4–26,8 % ja toimi toistuvuuden mittana. Analyysin sisäinen CV % -alueen jakauma esitetään alla **kuvuissa 4**. Kaiken kaikkiaan 94 CV-arvoista oli 10 % tai sitä pienempi ja 75 CV-arvoista oli 6 % tai pienempi.


 Kuva 4. Analyysin sisäinen CV % -arvojen jakauma

13.4 Todenmukaisuus

Jokaisen Fungitell STAT® -tuote-erän Fungitell STAT® -standardin (1→3)-β-D-glukaanipitoisuudeksi kalibroidaan 80 +/- 8 pg/ml käyttämällä Fungitell®-viitemenetelmää ja kalibroimalla sisäistä (1→3)-β-D-glukaanin referenssistandardia vastaan.

13.5 Häiritsevät aineet














Seuraavat näyteolosuhteet voivat häiritä tarkan Fungitell STAT® -analyysituloksen saamista:

- Väärän väriset tai sameat, kuten erittäin hemolysoituneet, lipeemiset tai liikka bilirubiinia sisältävät näytteet, voivat häiritä analyysiä optisesti. Jos kyseisiä näytteitä testataan, on tarkistettava, näkyykö testituloksissa todisteita optisesta virheestä ja/tai epätavallisia kineettistä malleista.
- Kohonneet immunoglobuliini G -tasot, joita esimerkiksi multipeli myeloma voi aiheuttaa seerumiin, voivat saostaa reaktioseoksen, kun esikäsiteltyyn seerumiin lisätään Fungitell STAT® -valmistettä³¹.
- Tämän kirjoittamisen hetkellä ei ole kuvattu muita Fungitell®-reagenssin tekijä G:tä ((1→3)-β-glukaaniin detektio-osa) aktivoivia aineita kuin (1→3)-β-glukaani. Joissakin tutkimuksissa, joissa on tehty väitteitä ristireagoivuudesta, oletun aktivoivan materiaalin käsittely puhdistetulla (1→3)-β-glukaanasilla on poistanut kyseisen signaalin, mikä osoittaa, että havaittu aktivaatio on johtunut kontaminovasta (1→3)-β-glukaanista¹². Myös seriniiproteaasikontaminaatio voi johtaa para-nitroaniiliinin vapautumiseen Fungitell®-reaktioseoksissa, mutta nämä proteaasit inaktivoituvat esikäsitelyprosessissa.

14. Meta-analyysit

Lisäksi seerumiin (1→3)-β-D-glukaaniin pohjautuvasta tuesta invasiivisten sienisairauksien diagnostiikassa on julkaistu lukuisia vertaisarvioituja tutkimuksia, mukaan lukien diagnostisen suorituskyvyn meta-analyysit^{22,33,34,35,36,37,38,39}.

15. Symbolien selitykset

	”Viimeinen käyttöpäivä”		”Lämpötilarajoitus”
	”Sisältää ”N” testiiä varten riittävän määrän”		”Valmistaja”
	”Eräkoodi”		”Katso käyttöohjeet”
	”In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite”		”Valtuutettu edustaja”
	”Luettelonumero”		”CE-merkintä”
	”Vain hoitomääräyskäyttöön”		”Suojattava auringonvalolta”
	”Huomio”		

REF

LOT

IVD

EC REP

CE

Rx only

⚠

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

10.Litvitnseva, 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 multi-state outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:61-82.

11.Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarijan, 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 ameocyte 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 Hshida, 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 (BcG) 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.Posteroaro 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, WJ. 2007. (1→3)-β-D-Glucan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-glucan test in children. Clin. Vaccine Immunol. 14: 924-925.

28.Goudjil, S., Kongolo, G., Dusol, L, Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. J of Maternal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-