Test na (1→3)-β-D-glukán v sére

FUNGITELL STAT®

Návod na použitie

℞only

Σ 10

CE

IVD

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

Telefón: +1 (508) 540-3444
Bezplatne: +1 (888) 395-2221
Fax: +1 (508) 540-8680
Technická podpora: +1 (800) 848-3248
Zákaznícky servis: +1 (800) 525-8378

PN002603-sk Rev5 REF FT007 2023-06-13

Návod na použitie vo svojom jazyku nájdete na stránke www.acciusa.com.

Tento produkt je určený len na diagnostické použitie in vitro a profesionálne použitie.

1. Určené použitie

Test Fungitell STAT® je kolorimetrický test na báze zymogénu proteázy na kvalitatívnu detekciu (1→3)-β-D-glukánu v sére pacientov s príznakmi alebo ochoreniami, v dôsledku ktorých má pacient predispozíciu na invazívnu plesňovú infekciu. Sérová koncentrácia (1→3)-β-D-glukánu, hlavnej zložky bunkovej steny rôznych medicínsky významných plesní[1], sa dá využiť ako pomôcka pri diagnostike hlbokých mykóz a fungémií[2]. Kladný výsledok neurčuje, ktorý rod plesní mohol infekciu vyvolať.

Je potrebné použiť hodnoty indexu (1→3)-β-D-glukánu v spojitosti s inými diagnostickými postupmi, napríklad mikrobiologickou kultiváciou, histologickým vyšetrením vzoriek z biopsie a rádiologickým vyšetrením.

2. Zhrnutie a vysvetlenie

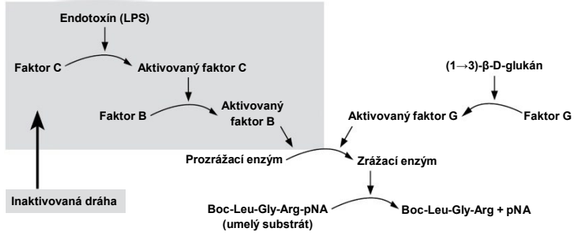
Je preukázaný stúpajúci výskyt plesňových infekcií spôsobených oportunistickými patogénmi, a to najmä u pacientov s oslabenou imunitou[3,4,5]. Invazívne plesňové ochorenia, ako napríklad oportunistické infekcie, sú bežné u pacientov s hematologickými malignitami a u pacientov s AIDS, a zodpovedajú za ľoraz väčší počet nozokomiálnych infekcií, a to najmä u príjemcov po transplantácii orgánov a u iných pacientov liečených imunosupresívnymi liečbami[6,7]. Mnohé plesňové ochorenia možno získať vdychovaním spór plesní z pôdy, organických 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 fungémií obvykle vychádza z nešpecifickej diagnózy alebo rádiologických techník. K dostupným diagnostickým metódam sa nedávno zaradili aj biologické markery plesňovej infekcie[2].

K oportunistickým plesňovým patogénom 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 produkujú tieto organizmy a iné, možno detegovať pomocou testu Fungitell STAT®[1,5,10,11].

3. Princíp postupu

Test Fungitell STAT® (kat. č. FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) je modifikáciou návrhu formátu testu Fungitell® (kat. č. FT001, Associates of Cape Cod, Inc. alebo ACC). Test Fungitell STAT® (pomôcka s označením CE 2019) bol vyvinutý ako odpoveď na potrebu formátu testu na jedno použitie a menšej veľkosti súpravy v porovnaní s formátom 96 jamiek testu Fungitell® (predikát USA a pomôcka s označením CE 2008).

Test Fungitell STAT® poskytuje kvalitatívne meranie (1→3)-β-D-glukánu. Test je založený na modifikácii dráhy metodiky LAL (lyzát amebocytov kraba *Limulus*)[12,13,14,15], **Obrázok 1**. Reagencia v teste Fungitell STAT® je modifikovaná tak, aby eliminovala reaktivitu bakteriálneho endotoxínu, čiže aby reagovala len na (1→3)-β-D-glukán prostredníctvom strany dráhy sprostredkovanej faktorom G. (1→3)-β-D-glukán aktivuje faktor G, zymogén serínovej proteázy. Aktivovaný faktor G mení 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 vyprodukovaného vzorkou séra pacienta. Táto rýchlosť sa porovná s rýchlosťou nárastu optickej hustoty roztoku Fungitell STAT® Standard, aby sa vytvoril index. Roztok Fungitell STAT® Standard je kalibrovaný na 80 +/– 8 pg/ml, čo je kladná hraničná hodnota pre test Fungitell®. Táto hodnota indexu vzorky séra pacienta sa kvalitatívne interpretuje ako záporný, neurčitý alebo kladný výsledok podľa rozsahov hodnôt indexu uvedených v **Tabuľke 1** nižšie.



Obrázok 1. Dráha *Limulus* Amebocyte Lysate

Tabuľka 1 Rozsahy indexu Fungitell STAT®

Výsledok	Hodnota indexu
Záporná	≤ 0,74
Neurčitá	0,75 – 1,1
Kladná	≥ 1,2

4. Materiály priložené k produktu Fungitell STAT®

Súprava Fungitell STAT® je určená na diagnostické použitie *in vitro*.

Nasledujúce materiály dodávané s každým produktom postačujú na celkovo 10 reakcií (na základe 10 skúmaviek s reagenciou Fungitell STAT®). Každý výrobok obsahuje aj 5 skúmaviek s roztokom Fungitell STAT® Standard.

1. Reagencia Fungitell STAT®, lyofilizovaný lyzát LAL špecifický pre (1→3)-β-D-glukán (10 skúmaviek)
   Reagencia Fungitell STAT® sa skladá z lyzát amebocytov kraba Limulus (t. j. kraba podkovára), Boc-Leu-Gly-Arg-pNA kolorimetrického substrátu a Tris pufra. Neobsahuje ľudské ani cicavčie proteíny. Reagencia Fungitell STAT® neobsahuje rušivé hladiny (1→3)-β-D-glukánu.
2. Roztok Fungitell STAT® Glucan Standard (5 skúmaviek) lyofilizovaný (1→3)-β-D-glukán.
   Roztok Fungitell STAT® Glucan Standard sa skladá z D-laktózy a (1→3)-β-D-glukánu získaného z *extraktu kvasiniek Saccharomyces cerevisiae.*
   Interná kontrola: Koncentrácia (1→3) β-D-glukánu roztoku Fungitell STAT® Standard je kalibrovaná podľa kladnej hraničnej hodnoty produktu Fungitell® (predikát USA a značka CE 2008) a podľa interného referenčného štandardu. Roztok Fungitell STAT® Standard obsahuje známe množstvo glukánu. Výsledné hodnoty sú opísané v časti Kontrola kvality a slúžia ako interná kontrola pre test Fungitell STAT®.
3. Návod na použitie
4. Stručný vizuálny návod

5. Potrebné, ale nepriložené materiály

Žiadny materiál nesmie mať interferujúci glukán.

1. Voda LAL reagenčnej kvality* (5,5 ml fľaštička, katalógové číslo W0051-10)
2. Alkalický roztok na predúpravu 0,125 M KOH a 0,6 M KCl* (2,5 ml fľaštička, katalógové číslo APS51-5)
3. Pipety na dávkovanie objemov 20 – 200 µL a 100 – 1 000 µL
4. Pipetové špičky* (250 µL – kat. č. PPT25, 1 000 µL – kat. č. PPT10)
5. Dlhé pipetové špičky* (20 – 200 µL, kat. č. TPT50)
6. Skúmavky* na prípravu vzorky pacienta a kombináciu roztoku na predúpravu séra. (12 x 75 mm, kat. č. TB240-5)
7. Čítačka skúmaviek a softvér na kinetický analýzu
   a) Čítačka PKF08 inkubačnej skúmavky s 8 jamkami (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)** so softvérom Beta Glucan Analytics (softvér BG Analytics®), príručka k softvéru BG Analytics® a overovací protokol systému BG Analytics®** (BGA007, Associates of Cape Cod, Inc.).
   Pomôcka PKF08 a softvér BG Analytics® dodáva spoločnosť Associates of Cape Cod, Inc. (katalógové číslo PKF08-PKG**). PKF08-PKG bol validovaný na použitie s testom Fungitell STAT®. **Alebo...**
   b) Čítačka inkubačných (37 °C) skúmaviek schopná čítať pri 405 nm a 495 nm s rozsahom aspoň 0 – 1,0 jednotiek absorbancie spojená s vhodným počítačovým kinetickým testovacím softvérom schopným analyzovať reakčnú kinetiku, ako aj podporovať kontrolu kritérií uvedených v časti o kontrole kvality návodu na použitie.
8. Sterilné skúmavky bez glukánu na alikvótne podávanie vzoriek. Môžu sa používať skúmavky, ktoré sú certifikované ako neobsahujúce RNAse, DNAse a pyrogén.
9. Parafilm®

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

*** Používateľské príručky si môžete stiahnuť z webovej stránky spoločnosti ACC: www.acciusa.com.*

6. Uchovávanie reagencií

- Dodanú súpravu uchovávajte v tme pri teplote 2 – 8 °C.
- Reagencia Fungitell STAT® a roztok Fungitell STAT® Standard sú určené na použitie do 1 hodiny po rekonštitúcii.

7. ⚠ Upozornenia a bezpečnostné opatrenia

- Žiadny materiál nepipetujte ústami. V miestnosti, kde sa manipuluje so vzorkami alebo reagenciami súpravy nefajčite, nejedzte a nepite.
- Dodržiavajte prevádzkové a miestne bezpečnostné predpisy.
- Pri manipulácii s biologickými vzorkami, ktoré môžu byť infekčné alebo nebezpečné, používajte ochranné rukavice. Ruky v rukaviciach by sa mali vždy považovať za kontaminované. Ruky v rukaviciach držte ďalej od očí, úst a nosa. Ak existuje možnosť kontaminácie aerosólom, noste chránič očí a chirurgickú masku.
- Nepoužívajte produkty s poškodeným obsahom.
- Likvidácia: Zvyšky chemických látok a prípravkov sa vo všeobecnosti považujú za nebezpečný odpad. Likvidácia tohto druhu odpadu sa riadi vnútroštátnymi a regionálnymi právnymi predpismi a nariadeniami. Ohľadom likvidácie nebezpečného odpadu sa obráťte na miestne úrady alebo spoločnosti zaoberajúce sa nakladaním s odpadom.
- **Karty bezpečnostných údajov** pre reagenciu Fungitell STAT®, roztok Fungitell STAT® Standard, vodu LAL reagenčnej kvality a zásaditý predpríravný roztok si môžete stiahnuť z webovej stránky spoločnosti ACC: www.acciusa.com.

7.1 Procedurálne opatrenia

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.

- Na vykonanie testu pripravte čisté prostredie.
- Upozorňujeme, že glukán aj kontaminácia plesňovými časticami z ľudského tela, odevu, nádob, vody a prachu vo vzduchu môžu ovplyvniť výsledky testu Fungitell STAT®.
- Možné zdroje kontaminácie: materiály obsahujúce celulózu, ako sú gáza, papierové utierky a kartón, sklenené pipety s bavlnenou zátkou a špičky pipiet s celulózovými filtrami. Chirurgické gázy a špongie môžu tiež vylučovať veľké množstvo (1→3)-β-D-glukánu[21,22]. Ďalšie zdroje kontaminácie súvisiace s pacientom nájdete v časti Obmedzenia testu.
- Otvorené fľaštičky s roztokom alkalickej predúpravy a reagenčnou vodou LAL okamžite použite a v prípade možnej kontaminácie tieto materiály opätovne nepoužívajte.
- Reagencia Fungitell STAT® a roztok Fungitell STAT® Standard sa vydávajú ako párová šarža. Z tohto dôvodu by sa nemali používať žiadne zložky reagencie Fungitell STAT® a roztoku Fungitell STAT® Standard z iných šarží produktu. Preto sa odporúča zlikvidovať všetky zvyšky roztoku Fungitell STAT® Standards hneď, ako sa spotrebujú všetky skúmavky s reagenciou Fungitell STAT® nachádzajúce sa v balení.
- Nepoužívajte materiály po dátume exspirácie.

7.2 Manipulácia so vzorkami

- Odber krvi a príprava séra sa vykonáva v súlade s platnými miestnymi predpismi. Odber vzorky: Vzorky krvi možno odobrať do sterilných skúmaviek na prípravu séra alebo do skúmaviek na separáciu séra (SST) na účely prípravy séra.
- Uchovávanie vzoriek: Vzorky séra sa môžu skladovať pri teplote 2 – 8 °C až 15 dní alebo zmrazené pri teplote –20 °C až 27 dní alebo pri teplote –80 °C až 4 roky.
- Označenie vzoriek: Vzorky sa musia jasne označiť v súlade s postupmi schválenými v danej zdravotníckej inštitúcii (laboratóriu).

7.3 Poznámky k testovaniu:

- Používajte správnu laboratórnu prax podľa miestnych predpisov. Tento test je citlivý na kontamináciu a nepresnosť pipetovania.
- Na zaistenie bezpečnosti obsluhy pri práci so vzorkami séra a na zníženie možnosti kontaminácie (1 → 3) β-D-glukánom z prostredia počas procesu sa odporúča pracovať v biologickom bezpečnostnom kabinete.
- Na zníženie zbytočných pohybov sklenených injekčných liekoviek do a z biologického bezpečnostného kabinetu sa odporúča umiestniť vortexovú pomôcku do biologickej bezpečnostnej skrine (pokiaľ je zachovaný kritický prietok vzduchu).
- Odporúča sa používať dlhé pipetovacie špičky, aby sa zabránilo krížovej kontaminácii medzi injekčnými liekovkami.
- Roztok Fungitell STAT® Standard (červený uzáver a červený štítok) by sa mal vždy spracovávať za rovnakých podmienok a v rovnakom čase ako vzorka (vzorky) pacienta v rámci série. Je to veľmi dôležité, pretože výsledkom testu je index (vzorka/štandard) kinetických reakčných rýchlostí (alebo sklonov, OD/s) zo vzorky pacienta a reagencie Fungitell STAT® Standard.
- Počas postupu sa odporúča používať samostatné stojany na skúmavky, jeden na skúmavky na prípravu vzoriek a druhý na skúmavky s reagenciami, aby sa zabránilo zámene a krížovej kontaminácii.
- Odporúča sa umiestniť roztok Fungitell STAT® Standard na definované a konzistentné miesto v stojane na skúmavky, v inkubátore a v čítačke. V čítačke PKF08 použite prvú jamku naľavo, ktorá je označená ako „Standard“.
- Na konci každého kroku miešania vizuálne skontrolujte, či je roztok homogénne premiešaný.

8. Postup

Produkt Fungitell STAT® obsahuje stručný vizuálny návod s ilustráciami a súhrnom funkcií prístroja PKF08 a softvéru BG Analytics®.

Pri používaní prístroja PKF08 a softvéru BG Analytics® sú už prednastavené nasledujúce postupy: Nastavenie zariadenia, hodnotenie výsledkov a kontrola kvality. Ďalšie informácie nájdete v používateľskej príručke softvéru BG Analytics® alebo sa obráťte na výrobcu.

8.1 Nastavenie prístroja a programovanie testov

8.1.1 Pri použití prístroja PKF08 so softvérom BG Analytics®:
Zapnite pomôcku a postupujte podľa pokynov softvéru BG Analytics®. Podrobné informácie nájdete v príručke BG Analytics®.

8.1.2 Pri použití iného prístroja a softvéru majú byť splnené nasledujúce podmienky:
a. Prístroj by mal byť schopný dosiahnuť a udržať teplotu 37 °C ± 1 °C.
b. Prístroj a softvér musia byť schopné odčítať optickú hustotu v čase (kinetický režim) pri dvoch vlnových dĺžkach. Konkrétne by sa tieto vlnové dĺžky mali nastaviť na 405 nm a 495 nm.
c. Nastavte kinetický režim na dĺžku čítania 40 minút (2 400 sekúnd). Nastavte interval kinetického čítania na minimum povolené softvérom/prístrojom.
d. Meranie by sa malo začať okamžite po vložení vzorky.
e. Spôsob výpočtu merania rýchlosti (sklonu) zo súboru údajov nájdete v príručke k softvéru. Na účely tohto testu sa to spravidla dosiahne vykonaním lineárnej regresie na kinetických údajoch v navrhovanom časovom rámci. Nastavte lineárny regresný výpočet tak, aby sa vykonal v rozsahu od 1 900 do 2 400 sekúnd pomocou funkcie „slice“ (rez) softvéru.

8.2 Označte rúrky

a. Označte jednu prázdnu skúmavku pre každú vzorku séra pacienta, ktorá sa má testovať.
b. Označte jednu skúmavku s reagenciou Fungitell STAT® pre každú vzorku séra pacienta, ktorá sa má testovať.
c. Označte jednu skúmavku s reagenciou Fungitell STAT® pre roztok Fungitell STAT® Standard.

8.3 Príprava vzorky séra pacienta

a. Vzorky séra pacienta vortexujte minimálne 20 sekúnd na zabezpečenie homogenity.
   Poznámka: *Proces zmrazovania môže spôsobiť heterogenitu vzorky v dôsledku absorpcie vody do rastúceho kryštálu ľadu, čím sa vylúčia rozpustené látky.*
b. Do príslušnej označenej prázdnej skúmavky pridajte vzorku séra pacienta a zásaditý predpríravný roztok v pomere 1:4. Odporúčané objemy sú 50 µL vzorky pacienta a 200 µL zásaditého predpríravného roztoku.
   Poznámka: *Zásaditý predpríravný roztok konvertuje trojzávitnicové glukány na jednovláknové glukány[14,15], ktoré sú reaktívnejšie pri použití testu. Okrem toho zásadité pH slúži na inaktiváciu sérových proteáz a inhibítorov, ktoré môžu interferovať s testom[24].*
c. Vortexujte 15 sekúnd a zakryte.

8.4 Príprava roztoku Fungitell STAT® Standard

Poznámka: *Každý výrobok (dvojica roztokov Fungitell STAT® Standard a reagencie Fungitell STAT®) sa testuje a vydáva nezávisle. Preto je dôležité, aby ste použili objemy č. šarže* rekonštitučného a alkalického predúpravného roztoku. *Tieto údaje sa nachádzajú na etikete balenia roztoku Fungitell STAT® Standard, na certifikáte analýzy výrobku Fungitell STAT® a na webovej stránke spoločnosti ACC. Odporúčanie: Pred začatím testu si tieto informácie zapíšte do priloženého stručného vizuálneho návodu.*

a. Rekonštituujte jednu liekovku roztoku Fungitell STAT® Standard s objemom vody LAL reagenčnej kvality špecifickým pre číslo šarže a vortexujte 15 sekúnd.
b. Pridajte objem zásaditého predpríravného roztoku špecifický pre dané číslo šarže.
c. Vortexujte 15 sekúnd a zakryte.

8.5 Predpríravná inkubácia v čítačke skúmaviek

Inkubujte skúmavky so vzorkou séra pacienta (z kroku 8.3) a liekovku roztoku Fungitell STAT® Standard (z kroku 8.4) 10 minút pri teplote 37 °C.

Poznámka: Pri používaní prístroja PKF08 sa po vložení skúmavky do jamky indikátor zmení z červenej na zelenú. Zatlačte hadičku úplne dovnútra, kým sa indikátor nezmení na zelený.

⚠ Pozor, skúmavky sú krehké. V prípade vniknutia úlomkov skla a kvapalín do meracej stanice PKF08 sa obráťte na oddelenie technického servisu spoločnosti Associates of Cape Cod, Inc.

8.6 Príprava skúmaviek s reagenciou Fungitell STAT®

a. Rekonštituujte každú fľaštičku s reagenciou Fungitell STAT® (označenú v kroku 8.2 vyššie) s 300 µL vody LAL reagenčnej kvality.
b. Jemne vortexujte maximálne 5 sekúnd.
   Poznámka: *Reagencia Fungitell STAT® obsahuje množstvo aktívnych proteínov potrebných pre test a odporúča sa s roztokom zaobchádzať opatrne. Pri každom vortexovom zariadení sa odporúča maximálne nastavenie 2 000 otáčok za minútu. Nemiešajte priveľa.*
c. Na konci predinkubácie:
   - Preneste 75 µL roztoku vzorky séra každého pacienta do príslušnej skúmavky s reagenciou Fungitell STAT®.
   - Preneste 75 µL roztoku Fungitell STAT® Standard do príslušnej skúmavky s reagenciou Fungitell STAT®.
   - Všetky skúmavky vortexujte maximálne 5 sekúnd a zakryte ich.

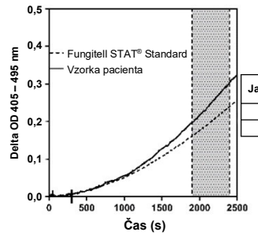
8.7 Spustenie série

a. Vložte skúmavky do čítačky skúmaviek a skontrolujte, či je každá skúmavka v určenej jamke.
b. Spustite kinetické meranie počas 40 minút pri teplote 37 °C.

9 Výpočet výsledkov

9.1 Princíp merania

Výsledky testu Fungitell STAT® sa majú používať ako pomôcka pri diagnostike invazívnej plesňovej infekcie. Štandardné rýchlosti vzoriek pacientov a reagencie Fungitell STAT® sú odvodené z výpočtu sklonu (rýchlosti) medzi 1 900 a 2 400 z výsledkov delta OD 405 – 495 nm. Výsledky indexu Fungitell STAT® sa získajú vydelením sklonu vzorky pacienta sklonom roztoku Fungitell STAT® Standard (pozrite si obrázok 2).



Jamka	Sklon (OD/s)	Index	Vzorka
1	0,00016	1,0	STD
2	0,00022	1,4	PS

Obrázok 2. Príklad kinetických kriviek reagencie Fungitell STAT® a analýza údajov
Oblasť zvýraznená sivou farbou je oblasť stanovenia sklonu (1 900 až 2 400 sekúnd), plná čiara predstavuje vzorku pacienta (PS) a prerušovaná čiara je roztok Fungitell STAT® Standard. Sklon vzorky (t. j. 0,00022 OD/s) vydelený sklonom roztoku Fungitell STAT® Standard (t. j. 0,00016 OD/s) vedie k indexu vzorky 1,4.

9.2 Pri použití PKF08 so softvérom BG Analytics®:

a. Kontrola kritérií kvality sa vykonáva automaticky pomocou softvéru. Výsledok sa zobrazí v záverečnej správe.
b. Pri platných testoch softvér BG Analytics® určí pre každú vzorku hodnotu indexu alebo priradí vzorke jednoznačne zápomý alebo kladný výsledok.
c. Ak softvér pri vyhodnocovaní výsledkov zobrazí akékoľvek indikácie neplatných parametrov, postupujte podľa pokynov v príručke k softvéru BG Analytics®.

9.3 Pri používaní iného softvéru:

Overte, či sú splnené všetky kritériá kvality.

10. Kontrola kvality

Nižšie sú uvedené kritériá kontroly kvality pre výsledky roztoku Fungitell STAT® Standard a vzorky séra pacienta vrátane príkladov očakávaných tvarov kinetických kriviek. Tieto kritériá kontroly kvality boli overené počas štúdií uvedených v časti Funkcie výkonu.

- **Pre všetky čísla jamiek** potvrďte priradenie roztoku Fungitell STAT® Standard alebo č. vzorky
- **Pre výsledok Fungitell STAT® Standard**
  1. korelačný koeficient (r) musí byť ≥ 0,980 a
  2. a sklon musí byť v očakávanom rozsahu sklonu 0,00010 – 0,00024 OD/s.

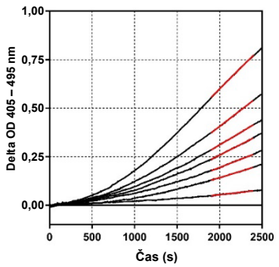
  Ak výsledok roztoku Fungitell STAT® Standard nespĺňa kritériá č. 1 a č. 2, test je neplatný a všetky vzorky sa musia pripraviť a otestovať znovu.
- **Pri všetkých výsledkoch vzoriek pacientov postupujte takto:**

  A. Určite, či výsledok môže byť mimo meracieho rozsahu testu
  - Výsledok je pravdepodobne mimo roztsahu na kladnej strane, ak:
    - priesečník Y je kladný a
    - kinetická krivka prechádza 0,4 OD pred 1 000 sekundami.
  - Výsledok je pravdepodobne mimo rozsahu na zápornej strane, ak:
    - kinetická krivka je po 500 sekundách kladná a
    - má OD ≥ 0,00 a < 0,07 na konci testu.

  Ak výsledok vzorky spĺňa obidve kritériá pre kladnú alebo zápornú hodnotu mimo rozsahu, nie je potrebné vyplniť nižšie uvedené všeobecné kritériá kontroly kvality a hodnota indexu by sa ***nemala*** *vypočítať. Všetky výsledky mimo rozsahu na kladnej strane by sa mali uvádzať ako kladné a všetky výsledky mimo rozsahu na zápornej strane by sa mali uvádzať ako záporné.*

  B. Ak sa uvedené kritériá neuplatňujú, overte všeobecnú kontrolu kvality:
  1. kinetická krivka musí byť po 500 sekundách kladná,
  2. kinetická krivka musí mať na konci testu OD ≥ 0,00,
  3. sklon musí byť číselne kladný,
  4. korelačný koeficient (r) musí byť ≥ 0,980 a
  5. kinetická krivka musí mať stúpajúci tvar v súlade s príkladmi uvedenými na **Obrázku 3**.

  Ak výsledok vzorky nespĺňa všeobecné kritériá QC č. 1, 3 – 5, výsledok vzorky je neplatný a vzorka sa musí testovať znova. Prípadne by sa mala použiť iná metóda.
  Ak výsledok vzorky nespĺňa kritériá kontroly kvality č. 2, znamená to, že signál vzorky je nízky. V takom prípade by mal používateľ starostlivo preskúmať poskytnutú krivku v kontexte a určiť platnosť výsledkov na základe interného systému kvality laboratória.



Obrázok 3. Príklady vhodných tvarov kinetických kriviek

Kinetické krivky by mali mať tvar vzostupnej krivky, ako je to v príkladoch vyššie. Uvedené príklady vzoriek pochádzajú z celého indexového rozsahu testu Fungitell STAT®. Použite tieto príklady na preskúmanie kritérií kvality.

Poznámka:

1. Každý používateľ testu si má vypracovať program kontroly kvality s cieľom zaistiť spôsobilosť výkonu testu v súlade s predpismi platnými na danom mieste.
2. V rámci ďalších laboratórnych kontrol a správnej laboratórnej praxe sa odporúča testovať kontrolné vzorky séra (záporné, blízko hraničnej hodnoty alebo silne kladné). Tieto nie sú súčasťou súpravy Fungitell STAT®.

11. Interpretácia výsledkov

- **Záporný výsledok**
  Hodnoty indexu ≤ 0,74 sa interpretujú ako záporné výsledky.
  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 dermatitída* 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].
- **Neurčitý výsledok**
  Hodnoty indexu od 0,75 do 1,1 sa považujú za nepresvedčivé (nejednoznačné). Odporúča sa odobratie ďalšej vzorky séra a testovanie. Časté odoberanie a testovanie vzoriek zlepšuje využiteľnosť na účely stanovenia diagnózy.
- **Kladný výsledok**
  Hodnoty indexu ≥ 1,2 sa interpretujú ako kladný výsledok. Kladný výsledok znamená, že sa zistil (1→3)-β-D-glukán. Kladný výsledok ešte nestanovuje prítomnosť choroby a musí sa použiť spolu s ďalšími klinickými nálezmi s cieľom stanoviť diagnózu.

12. Obmedzenia testu

- Tkanivo, kde je lokalizovaná plesňová infekcia[7], 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.
- Niektorí jedinci majú hodnoty indexu (1→3)-β-D-glukánu, ktoré patria do neurčitej zóny. V takom prípade sa odporúča ďalšie pozorovacie testovanie.
- Frekvencia testovania pacienta bude závisieť od relatívneho rizika plesňovej infekcie. U rizikových pacientov sa odporúča interval odberu vzoriek najmenej dva- až trikrát týždenne.
- Pozitívne výsledky sa zistili u hemodialyzovaných pacientov[19,20,39] pacientov liečených niektorými produktmi z frakcionovanej krvi, napríklad sérovým albumínom a imunoglobulínmi[23,24], 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.
- 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[25,26].
- Testovacie hladiny boli stanovené u dospelých účastníkov. Normálne a limitné hodnoty u dojčiat a detí sú predmetom výskumu[27,28].

13. Parametre výkonu

13.1 Očakávané hodnoty

- ***Diagnostická citlivosť a diagnostická špecifickosť referenčnej metódy, testu Fungitell®***
  Viaccentrová prospektívna štúdia vykonaná s cieľom určiť diagnostickú citlivosť a diagnostickú špecifickosť testu Fungitell® (predikát USA a označenie CE z roku 2008) ukázala, že hodnoty (1→3) β-D-glukánu sú zvýšené pri rôznych hubových 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 záporné prediktívne hodnoty pohybovali v rozmedzí 65,1 % až 85,1 %[29].
- ***Stanovenie hraničných hodnôt Fungitell STAT®***
  Na účely tejto štúdie sa použili deidentifikované, zmrazené vzorky séra pacientov odobraté na bežnú klinickú starostlivosť o určenú populáciu a prijaté v laboratóriu Beacon Diagnostics Laboratory, Inc. na testovanie pomocou testu Fungitell®. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc. je licencované klinické laboratórium, ktoré je súčasťou spoločnosti Associates of Cape Cod (ACC). Do štúdie bola zahrnutá populácia 93 deidentifikovaných vzoriek séra pacientov s koncentráciami (1→3)-β-D-glukánu rozloženými v celom rozsahu štandardnej krivky Fungitell® 31 – 500 pg/ml) Fungitell®. Lineárna korelácia medzi koncentráciou Fungitell® a výsledkami indexu Fungitell STAT® bola 0,92 (95 % interval spoľahlivosti: 89,9 % a 93,6 %).

13.3 Analytická medzilaboratórna štúdia

Test Fungitell STAT® sa hodnotil z hľadiska presnosti (t. j. opakovateľnosti a reprodukovateľnosti), analytickej citlivosti a analytickej špecifickosti pomocou špikovania ľudského séra *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)-β-D-glukánom, aby sa vytvoril päťčlenný panel pozostávajúci z nízko negatívnej vzorky, vysoko negatívnej vzorky (tesne pod dolnou hranicou 0,74), neurčitej (nejednoznačnej) vzorky, nízko pozitívnej vzorky (tesne nad hornou hranicou 1,2) a vysoko pozitívnej vzorky (~2 x nad homou hranicou 1,2). Panel bol distribuovaný do troch laboratórií CLIA na testovanie pomocou testu Fungitell STAT®. Každé laboratórium poskytlo 150 dátových bodov (t. j. 5 vzoriek x trikrát na sériu x dvaja operátori vykonávajúci sériu denne x 5 dní), čo predstavuje celkovo 450 dátových bodov vrátane 30 sérií (t. j. analýz) a 90 dátových bodov na vzorku (t. j. člena panelu). Priemerné hodnoty indexu štúdie uvedené v **Tabuľke 3** nižšie sú odvodené z údajov poskytnutých troma laboratóriami. Stĺpec Percento kladných vzoriek predstavuje percento vzoriek pre daného člena panelu, ktoré spadali do kladnej zóny. Vo všetkých troch laboratóriách boli percentuálne kladné výsledky 1,1 % pre nízko záporné vzorky, 0 % pre vysoko záporné vzorky, 3,3 % pre neurčité vzorky, 96,7 % pre nízko kladné vzorky a 100 % pre vysoko kladné vzorky.

Tabuľka 3 Analytická medzilaboratórna štúdia

Člen panelu	Priemerný index	Smerodajná odchýlka	% CV	Percento kladných (počet kladných/ počet testovaných)	Analytická špecifickosť (skutočná negativita) a analytická citlivosť (skutočná pozitivita)
Nízko zápomá	0,55	0,10	20,4 %	1,1 % (1/90)	89/90 Skutočne záporná
Vysoko záporná	0,75	0,08	11,1 %	0 % (0/90)	90/90 Skutočne záporná
Neurčitá	0,94	0,10	11,1 %	3,3 % (3/90)	87/90 Nie je kladná
Nízko kladná	1,6	0,30	18,7 %	96,7 % (87/90)	87/90 Skutočne kladná
Vysoko kladná	2,6	0,40	15,4 %	100 % (90/90)	90/90 Skutočne kladná

Ako je uvedené v Tabuľke 3, variabilita medzi testami (t. j. % CV) sa pohybovala od 11 do 20,4 % a slúžila ako miera reprodukovateľnosti. Variabilita v rámci testu sa pohybovala od 0,4 % do 26,8 % a slúžila ako miera opakovateľnosti. Rozdelenie rozsahu % CV v rámci testu je uvedené na **Obrázku 4**. Celkovo 94 % hodnôt CV bolo 10 % alebo menej a 75 % hodnôt CV bolo 6 % alebo menej.

13.2. Štúdia porovnania metód

Podobne ako pri štúdii hraničnej hodnoty, ale s použitím iného súboru vzoriek, sa na účely porovnávacej štúdie metódy použilo 488 deidentifikovaných zmrazených vzoriek séra pacientov s koncentráciami (1→3)-β-D-glukánu rozloženými v celom rozsahu štandardnej krivky testu Fungitell® 31 – 500 pg/ml[30]. Išlo o 309 vzoriek, ktoré patrili do zápornej zóny výsledkov testu Fungitell®, 143 vzoriek, ktoré patrili do kladnej zóny testu Fungitell®, a 36 vzoriek, ktoré patrili do neurčitej zóny testu Fungitell® (**Tabuľka 2**). Všetky vzorky boli počas tejto štúdie testované pomocou testov Fungitell STAT® aj Fungitell®. Keď sa z analýzy vylúčili vzorky spadajúce do neurčitej zóny Fungitell STAT®, zostalo 290 vzoriek na analýzu zápornej percentuálnej zhody a 119 vzoriek na analýzu kladnej percentuálnej zhody.

Tabuľka 2 Výkonnosť testu Fungitell STAT® v porovnaní s testom Fungitell®

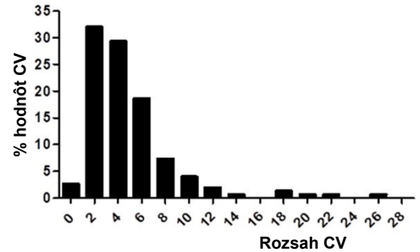
		Fungitell®			
		Záporná	Neurčitá	Kladná	Spolu
Fungitell STAT®	Záporná	283	17	1	301 (61,7 %)
	Neurčitá	19	17	24	60 (12,3 %)
	Kladná	7	2	118	127 (26,0 %)
	Spolu	309 (63,3 %)	36 (7,4 %)	143 (29,3 %)	488 (100 %)
		NPA: 97,6 %* (283/290) 95 % CI: (95,4; 99,9)		**PPA**: 99,2 %* (118/119) 95 % CI: (95,4; 99,9)	

**Neurčité (t. j. nejednoznačné) výsledky nie sú zahrnuté do analýzy. Ak sa všetky neurčité výsledky považujú za nesúhlasné výsledky (napr. falošne kladné alebo falošne záporné), výkonnosť je takáto: PPA – 73,8 % (118/160), 95 % CI: (66,4 %, 80,0 %); NPA – 91,0 % (283/311), 95 % CI: (87,3 %, 93,7 %)*

- **Záporná percentuálna dohoda**
  Dvestoosemdesiattri (283) z 290 vzoriek, ktoré boli negatívne pri testovaní pomocou prístroja Fungitell®, bolo negatívnych aj pri teste Fungitell STAT®. Vypočítaná negatívna percentuálna zhoda (NPA) s metódou Fungitell® bola 97,6 % (95 % interval spoľahlivosti: 95,4 %, 99,9 %) (**Tabuľka 2**)
- **Kladná percentuálna dohoda**
  Stoosemnásť (118) zo 119 vzoriek, ktoré boli kladné pri testovaní pomocou pomôcky Fungitell®, bolo kladných aj pri teste Fungitell STAT®. Vypočítaná kladná percentuálna zhoda (PPA) s metódou Fungitell® bola 99,2 % (95 % interval spoľahlivosti: 95,4 %, 99,9 %) (**Tabuľka 2**).
- **Rozsah merania, linearita a presnosť**
  Výsledky indexu sa pohybovali približne od 0,4 do 3,5, čo pokrýva celú štandardnú krivku (31 – 500 pg/ml) Fungitell®. Lineárna korelácia medzi koncentráciou Fungitell® a výsledkami indexu Fungitell STAT® bola 0,92 (95 % interval spoľahlivosti: 89,9 % a 93,6 %).

13.3 Analytická medzilaboratórna štúdia

Test Fungitell STAT® sa hodnotil z hľadiska presnosti (t. j. opakovateľnosti a reprodukovateľnosti), analytickej citlivosti a analytickej špecifickosti pomocou špikovania ľudského séra *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)-β-D-glukánom, aby sa vytvoril päťčlenný panel pozostávajúci z nízko negatívnej vzorky, vysoko negatívnej vzorky (tesne pod dolnou hranicou 0,74), neurčitej (nejednoznačnej) vzorky, nízko pozitívnej vzorky (tesne nad hornou hranicou 1,2) a vysoko pozitívnej vzorky (~2 x nad homou hranicou 1,2). Panel bol distribuovaný do troch laboratórií CLIA na testovanie pomocou testu Fungitell STAT®. Každé laboratórium poskytlo 150 dátových bodov (t. j. 5 vzoriek x trikrát na sériu x dvaja operátori vykonávajúci sériu denne x 5 dní), čo predstavuje celkovo 450 dátových bodov vrátane 30 sérií (t. j. analýz) a 90 dátových bodov na vzorku (t. j. člena panelu). Priemerné hodnoty indexu štúdie uvedené v **Tabuľke 3** nižšie sú odvodené z údajov poskytnutých troma laboratóriami. Stĺpec Percento kladných vzoriek predstavuje percento vzoriek pre daného člena panelu, ktoré spadali do kladnej zóny. Vo všetkých troch laboratóriách boli percentuálne kladné výsledky 1,1 % pre nízko záporné vzorky, 0 % pre vysoko záporné vzorky, 3,3 % pre neurčité vzorky, 96,7 % pre nízko kladné vzorky a 100 % pre vysoko kladné vzorky.



Obrázok 4. Rozdelenie hodnôt % CV v rámci testu

13.4 Pravdivosť

Pre každú šaržu produktu Fungitell STAT® je koncentrácia (1→3)-β-D-glukánu roztoku Fungitell STAT® Standard kalibrovaná na 80 +/– 8 pg/ml pomocou referenčnej metódy Fungitell® a na základe interného referenčného štandardu (1→3)-β-D-glukánu.

13.5 Rušivé látky

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

- 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 opticků interferenciu alebo neobvyklé kinetické vzory.
- 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[31].
- V čase písania tohto článku nebol opísaný žiadny iný aktivačný faktor G ((1→3)-β-D-glukánový detekčný prvok) činidla Fungitell® ako (1→3)-β-glukán. V niektorých štúdiách, v ktorých sa tvrdilo o skríženej reaktivite, sa pri ošetrení predpokladaného aktivačného materiálu purifikovanou (1→3)-β-glukanázou signál eliminoval, čím sa preukázalo, že pozorovaná aktivácia bola spôsobená kontaminujúcim (1→3)-β-glukánom[12]. Kontaminácia serínovými proteázami môže tiež viesť k uvoľňovaniu para-nitroanilínu v reakčných zmesiach Fungitell®, ale tieto sú inaktivované v rámci procesu predbežnej úpravy.

14. Metaanalýzy

Okrom toho boli publikované mnohé odbome recenzované štúdie na tému podpory diagnostiky invazívnych plesňových ochorení na základe (1→3)-β-D-glukánu v sére, vrátane meta-analýz diagnostickej výkonnosti[32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39].

15. Legenda k symbolom

	„Použiť do“		„Obmedzenie teploty“
Σ N	„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“
Rx only	„Len na lekársky predpis“		„Chráňte sa pred slnečným svetlom“
	„Upozornenie“		

16. Autorizovaný zástupca

Poznámka: Závažná udalosť, ktorá sa stala v súvislosti s pomôckou, sa oznámi výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom má používateľ a/alebo pacient sídlo alebo bydlisko.

17. Kontaktné informácie

Corporate Headquarters
Associates of Cape Cod, Inc., 124 Bernard E. Saint Jean Drive
East Falmouth, MA 02536-4445 USA
Tel.: (888) 395-2221 albo +1 (508) 540-3444, Fax: +1 (508) 540-8680
E-mail: custservice@acciusa.com, www.acciusa.com
Spojené kráľovstvo
Associates of Cape Cod Int'l., Inc., Deacon Park, Moorgate Road
Knowsley, Liverpool L33 7RX, Spojené kráľovstvo
Tel.: (44) 151–547–7444, Fax: (44) 151–547–7400
E-mail: info@acciuk.co.uk, www.acciuk.co.uk
Európa
Associates of Cape Cod Europe GmbH, Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Nemecko
Tel.: (49) 61 05–96 10 0, Fax: (49) 61 05–96 10 15, E-mail: service@acciusa.de, www.acciusa.de

18. História revízií

Rev. 1 – 3: Pridané katalógové číslo PKF08-PKG a súvisiace pokyny; podrobnosti o roztoku Fungitell STAT® Standard slúžiacom ako interná kontrola, kontaktné informácie, objasnenia a formátovanie. Objasnené všeobecné kritériá kontroly kvality č. 3. Pridané údaje o stabilite vzorky a určenie medznej hodnoty, časti Rozsah merania – Linearita – Presnosť a pravdivosť.

Rev. 4: Zmenený zástupca pre ES, zmenená hodnota 0,03 na 0,00 v časti Kontrola kvality a menšie zmeny na objasnenie.

Rev. 5: Odstránenie spoločnosti Emergo Europe ako zástupcu pre ES.

19. 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)-ß-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., Kantarijian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. ß-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)-ß-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)-ß-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)-ß-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)-ß-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)-ß-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)-ß-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)-ß-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)-ß-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 ß-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)-ß-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)-ß-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 Materernal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-48.
29. Ostrosky-Zeichner, L., Alexander, B.D., Kett, D.H., Vazquez, J., Pappas, P.G., Saeki, F., Ketchum, P.A., Wingard, J., Schiff, R., Tamura, H., Finkelman, M.A., Rex, J.H. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1→3)-ß-D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. Clin. Inf. Dis. 41: 299-305.
30. D'Ordine, R.L., Garcia, K.A., Roy, J., Zhang, Y., Markley, B. and Finkelman, M.A. 2021. Performance characteristics of Fungitell STAT™, a rapid (1→3)-β-D-glucan single patient sample in vitro diagnostic assay. Med Mycol .59(1):41-49.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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 jiroveci pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol. 2012; 50:7-15.
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. 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.
39. 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.