

Test za (1→3)-β-D-glukan u serumu



Posjetite stranicu www.accusia.com za upute za upotrebu na svojem jeziku.

Ovaj je proizvod namijenjen samo za in vitro dijagnostičku upotrebu i profesionalnu primjenu.

1. Namjena

Test Fungitell STAT® kolorimetrijski je test proteaze koji se temelji na zimogenu za kvalitativno otkrivanje (1→3)-β-D-glukana u serumu bolesnika sa simptomima ili medicinskim stanjima koja bolesnika čine sklonim invazivnoj gljivičnoj infekciji. Koncentracija (1→3)-β-D-glukana u serumu, glavna komponenta stanične stijenke kod raznih medicinski značajnih gljivica¹, može se upotrijebiti kao pomoć u dijagnozi duboko ukorijenjenih mikroza i fungemija². Pozitivan rezultat ne označava koji rod gljivica možda uzrokuje infekciju.

Vrijednosti indeksa (1→3)-β-D-glukana treba upotrijebiti zajedno s drugim dijagnostičkim postupcima, kao što je mikrobiološka kultura, histološki pregled uzoraka biopsije i radiološki pregled.

2. Sažetak i objašnjenje

U porastu je incidencija gljivičnih infekcija izazvanih oportunističkim patogenima, posebice u imunokompromitiranih bolesnika^{3,4,5}. Invazivne gljivične bolesti, kao oportunističke infekcije, česte su među bolesnicima s hematološkim malignim bolestima i AIDS-om i odgovorne su za sve veći broj bolničkih infekcija, posebice među primateljima organa za transplantaciju i ostalim bolesnicima koji primaju imunosupresivno liječenje^{6,7}. Velik broj gljivičnih bolesti dobiva se udisanjem gljivičnih spora koje potječu iz tla, biljnih otpadaka, sustava za obradu zraka i/ili izloženih površina. Neki su oportunistički patogeni prisutni u/na ljudskoj koži, u probavnom traktu i membranama sluznica^{8,9}. Dijagnoza invazivnih mikroza i fungemija obično se temelji na nespecifičnim dijagnostičkim ili radiološkim tehnikama. U posljednje su vrijeme biološki markeri gljivične infekcije dodani dostupnim dijagnostičkim metodama².

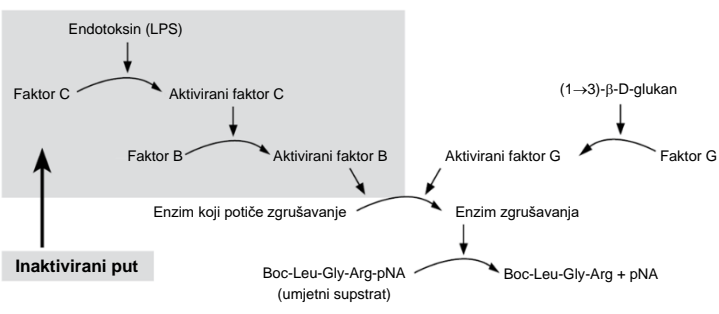
Oportunistički gljivični patogeni uključuju sojeve Candida spp., Aspergillus spp., Fusarium spp., Trichosporon spp., Saccharomyces cerevisiae, Acremonium spp., Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Sporothrix schenckii, Exserohilum rostratum i Pneumocystis jirovecii. (1→3)-β-D-glukan koji proizvode ti i ostali

organizmi može se otkriti testom Fungitell STAT®1,2,10,11.

3. Načelo postupka

Test Fungitell STAT® (kat. br. FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) izmjena je dizajna formata testa Fungitell® (kat. br. FT001, Associates of Cape Cod, Inc. ili ACC). Test Fungitell STAT® (proizvod s oznakom CE iz 2019.) razvijen je kao odgovor na potrebu za formatom testa za jednokratnu upotrebu i manjom veličinom kompleta u odnosu na format ploče s 96 jažica testa Fungitell® (smije se stavljati na tržište u SAD-u i proizvod s oznakom CE iz 2008.).

Test Fungitell STAT® omogućuje kvalitativno mjerenje (1→3)-β-D-glukana. Test se temelji na izmjeni puta *limulus* amebocit lizata (LAL)^{2,1,3,14,15}, **Slika 1.** Reagens Fungitell STAT® izmijenjen je kako bi se eliminirala reaktivnost bakterijskih endotoksina te kako bi, posljedično, reagirao samo na (1→3)-β-D-glukan, putem strane puta posredovane faktorom G. (1→3)-β-D-glukan aktivira Faktor G, zimogen serinske proteaze. Aktivirani Faktor G pretvara inaktivan enzim koji potiče zgrušavanje u aktivan enzim zgrušavanja, koji zauzvrat cijepa para-nitroanilid Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, stvarajući kromofor para-nitroanilin (pNA), koji se apsorbira na 405 nm. Kinetički test Fungitell STAT®, opisan u nastavku, temelji se na određivanju brzine povećanja optičke gustoće koju proizvodi uzorak seruma bolesnika. Ta se brzina uspoređuje s brzinom povećanja optičke gustoće standarda Fungitell STAT® kako bi se proizveo indeks. Standard Fungitell STAT® kalibrira se na 80 +/- 8 pg/ml, što je pozitivna granična vrijednost testa Fungitell®. Vrijednost indeksa u uzorku seruma bolesnika kvalitativno se tumači kao negativan, neodređen ili pozitivan rezultat u skladu s rasponima vrijednosti indeksa navedenima u **Tablici 1** u nastavku.



Slika 1. Put limulus amebocit lizata

Tablica 1. Rasponi indeksa Fungitell STAT®	
Rezultat	Vrijednost indeksa
Negativan	≤ 0,74
Neodređen	0,75 – 1,1
Pozitivan	≥ 1,2

4. Materijali isporučeni s proizvodom Fungitell STAT®

Proizvod Fungitell STAT® namijenjen je za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

Sljedeći materijali koji su isporučeni sa svakim proizvodom dostatni su za ukupno 10 reakcija (na temelju 10 epruveta reagensa Fungitell STAT®). Svaki proizvod sadrži i 5 standardnih epruveta Fungitell STAT®.

- Reagens Fungitell STAT®, liofiliziran LAL specifičan za (1→3)-β-D-glukan (10 epruveta) *Reagens Fungitell STAT® sastoji se od limulus (tj., potkovičasti rak) amebocit lizata, kolorimetrijskog supstrata Boc-Leu-Gly-Arg-pNA i Tris pufera. Ne sadržava proteine ljudi ili sisavaca. Reagens Fungitell STAT® ne sadrži ometajuće razine (1→3)-β-D-glukana.*
- Standard glukana Fungitell STAT® (5 epruveta) liofiliziran (1→3)-β-D-glukan. *Standard glukana Fungitell STAT® sastoji se od D-laktoze i (1→3)-β-D-glukana dobivenog od ekstrakta kvasca Saccharomyces cerevisiae. Unutarnja kontrola: koncentracija (1→3) β-D-glukana u standardu Fungitell STAT® kalibrirana je na pozitivnu graničnu vrijednost proizvoda Fungitell® (smije se stavljati na tržište u SAD-u, s oznakom CE iz 2008.) te prema unutarnjem referentnom standardu. Standard Fungitell STAT® sadrži poznatu količinu glukana. Dobivene vrijednosti opisane su u odjeljku Kontrola kvalitete i služe kao unutarnja kontrola za test Fungitell STAT®.*
- Upute za upotrebu
- Brzi vizualni vodič

5. Potrebni materijali koji nisu isporučeni

Svi materijali ne smiju sadržavati ometajući glukan.

- Voda za reagens LAL* (bočica od 5,5 ml, kataloški broj W0051-10)
- Otopina za predobradu lužinom 0,125 M KOH i 0,6 M KCl* (bočica od 2,5 ml, kataloški broj APS51-5)
- Pipete koje mogu prenijeti volumen od 20 – 200 µl i 100 – 1000 µl
- Vrhovi pipeta* (250 µl, kataloški broj PPT25 i 1000 µl, kataloški broj PPT10)
- Dugački vrhovi pipeta* (20 – 200 µl, kataloški broj TPT50)
- Epruvete* za pripremu uzorka bolesnika i sjedinjenje s otopinom za predobradu seruma. (12 x 75 mm, kataloški broj TB240-5)
- Softver za očitavanje epruveta i kinetički test
 - Čitač epruveta za inkubaciju 8 jažica PKF08 (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)** sa softverom Beta Glucan Analytics (softver BG Analytics® ili BG Analytics®), priručnik za softver BG Analytics® i protokol za potvrdu sustava BG Analytics®** (BG A007, Associates of Cape Cod, Inc.). Uređaj PKF08 i softver BG Analytics® isporučuje društvo Associates of Cape Cod, Inc. (kataloški broj PKF08-PK G**). PKF08-PKG potvrđen je za upotrebu s testom Fungitell STAT®. **iii**
 - Čitač epruveta za inkubaciju (37 °C) koji može očitavati na 405 nm i 495 nm uz raspon od najmanje 0 – 1,0 jedinica apsorcije, zajedno s odgovarajućim računalnim softverom za kinetički test koji može analizirati reakcijsku kinetiku kao i poduprijeti pregled kriterija navedenih u odjeljku Kontrola kvalitete u uputama za upotrebu.
- Sterilne epruvete bez glukana za alikvotiranje uzoraka. Mogu se upotrebljavati epruvete za koje je potvrđeno da ne sadrže RNAzu, DNAzu i pirogen.
- Parafilim®

** Za te proizvode, koje isporučuje društvo Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), potvrđeno da ne sadrže ometajuće glukane.*

***Korisnički priručnici mogu se preuzeti s internetske stranice društva ACC: www.accusia.com.*

6. Skladištenje reagensa

- Čuvajte komplet u stanju u kojem se isporučuje, na 2 – 8 °C na tamnom mjestu.
- Reagens Fungitell STAT® i standard Fungitell STAT® predviđeni su za upotrebu u roku od sat vremena nakon rekonstitucije.
- ⚠ Upozorenja i mjere opreza**
- Nemojte pipetirati nijedan materijal ustima. Nemojte pušiti, piti ili jesti na mjestima na kojima se ruke uzorcima ili reagensima iz kompleta.
- Pridržavajte se propisa vezanih iz rukovanje i lokalnih sigurnosnih propisa.
- Nosite zaštitne rukavice pri rukovanju biološkim uzorcima koji mogu biti zarazni ili opasni. Ruke u rukavicama treba cijelo vrijeme smatrati kontaminiranim; držite ruke u rukavicama podalje od očiju, usta i nosa. Nosite zaštitu za oči i kiruršku masku ako postoji mogućnost kontaminacije aerosolom.
- Ne smiju se upotrebljavati proizvodi čiji je sadržaj oštećen.
- Zbrinjavanje: ostaci kemikalija i pripravaka općenito se smatraju opasnim otpadom. Zbrinjavanje takve vrste otpada regulirano je nacionalnim i regionalnim zakonima i propisima. Obratite se svojim lokalnim tijelima ili poduzećima za gospodarenje otpadom za savjet o odlaganju opasnog otpada.
- Sigurnosno-tehnički listovi** za reagens Fungitell STAT®, standard Fungitell STAT®, vodu za reagens LAL i otopinu za predobradu lužinom mogu se preuzeti s internetske stranice društva ACC: www.accusia.com.

7.1 Proceduralne mjere opreza

Test Fungitell STAT® zahtijeva strogo pridržavanje tehnike i testnog okruženja. Temeljita obuka tehničara o metodi testiranja te izbjegavanju kontaminacije od ključne je važnosti za učinkovitost testa.

- Uspostavite čisto okruženje u kojem ćete provesti test.
- Imajte na umu da kontaminacija glukanom, kao i gljivičnim česticama s ljudskog tijela, odjeće, spremnika, vode i prašine u zraku mogu ometati test Fungitell STAT®.
- Mogući izvori kontaminacije uključuju materijale koji sadržavaju celulozu, kao što su gaza, papirmate maramice i karton, staklene pipete s pamučnim čepovima i vrhovi pipeta s filtrima od celuloze. Povezi od kirurške gaze i spužve također mogu izlučivati ​​velike količine (1→3)-β-D-glukana^{21,22}. Za ostale izvore kontaminacije povezane s bolesnikom pogledajte odjeljak testa Ograničenja.
- Odmah upotrijebite otvorene bočice s otopinom za predobradu lužinom i vodom za reagens LAL te, ako postoji zabrinutost zbog potencijalne kontaminacije, nemojte ponovno upotrebljavati te materijale.
- Reagens Fungitell STAT® i standard Fungitell STAT® izdaju se kao uparena serija. Iz tog se razloga ne smiju upotrebljavati komponente reagensa Fungitell STAT® i standarda Fungitell STAT® iz drugih proizvodnih serija. Stoga se preporučuje odložiti preostale standarde Fungitell STAT® u otpad čim se upotrijebe sve epruvete za reagens Fungitell STAT® koje se nalaze u pakiranju.
- Nemojte upotrebljavati materijale nakon isteka njegova roka valjanosti.

7.2 Rukovanje uzorkom

- Prikupljanje krvi i priprema seruma treba se provoditi u skladu s primjenjivim lokalnim propisima. Prikupljanje uzorka: uzorci krvi mogu se prikupiti u sterilne epruvete za pripremu seruma ili epruvete za odvajanje seruma (SST) radi pripreme seruma.
- Čuvanje uzorka: uzorci seruma mogu se čuvati na 2 – 8 °C do 15 dana, ili zamrznuti na -20 °C do 27 dana ili na -80 °C do 4 godine.
- Označivanje uzoraka: uzorci se moraju jasno označiti u skladu s odobrenim postupcima zdravstvene ustanove (laboratorija).

7.3 Napomena o testiranju:

- Koristite se dobrim laboratorijskim praksama u skladu sa svojim lokalnim propisima. Ovaj je test osjetljiv na kontaminaciju i neprecizno pipetiranje.
- Kako biste osigurali sigurnost rukovatelja pri radu s uzorcima seruma te kako biste smanjili mogućnost kontaminacije (1→3)-β-D-glukanom iz okruženja tijekom procesa, preporučuje se raditi u kabinetu za biološku sigurnost.
- Kako bi se smanjilo nepotrebno pomicanje staklenih bočica u kabinet za biološku sigurnost i iz njega, preporučuje se unijeti vrtložni uređaj u kabinet za biološku sigurnost (sve dok se održava ključni protok zraka).
- Preporučuje se upotrebljavati dugačke vrhove pipeta kao pomoć u sprječavanju križne kontaminacije bočica.
- Epruveta standarda Fungitell STAT® (crveni čep i oznaka crvene crte) uvijek se treba obrađivati pod istim uvjetima i u isto vrijeme kao i uzorak (uzorci) bolesnika unutar pokretanja testa. To je od ključne važnosti budući da je rezultat testa indeks (uzorak/standard) brzine kinetičke reakcije (ili nagiba, OD/s) uzorka bolesnika i standarda Fungitell STAT®.
- Preporučuje se upotrebljavati odvojene stalke s epruvetama tijekom postupka, jedan za epruvete za pripremu uzorka, a drugi za epruvete za reagens, kako bi se izbjegla zabuna i križna kontaminacija.
- Preporučuje se postaviti standard Fungitell STAT® na definiran i dosljedan položaj u stalku za epruvete, inkubatoru i čitaču. U čitaču PKF08 Reader upotrijebite prvu jažicu s lijeve strane označenu kao „Standard“.
- Na kraju svakog koraka miješanja vizualno potvrdite da je otopina homogeno izmiješana.

8. Postupak

Proizvod Fungitell STAT STAT® sadržava brzi vizualni vodič s ilustracijama i sažetkom značajki instrumenta PKF08 i softvera BG Analytics®.

Slijedeći postupci već su unaprijed postavljeni prilikom upotrebe uređaja PKF08 i softvera BG Analytics®: postavke uređaja, procjena rezultata i kontrola kvalitete. Za više informacija pogledajte korisnički priručnik za softver BG Analytics® ili se obratite proizvođaču.

8.1 Postavke instrumenta i programiranje testa

8.1.1 **Prilikom upotrebe uređaja PKF08 sa softverom BG Analytics®:** uključite uređaj i slijedite upute softvera BG Analytics®. Za detaljne informacije pogledajte priručnik BG Analytics®.

- 8.1.2 **Kad upotrebljavate neki drugi instrument i softver,** potrebno je ispuniti sljedeće uvjete:
 - Instrument treba moći postići i zadržati temperaturu od 37 °C ± 1 °C.
 - Instrument i softver moraju biti sposobni očitati optičku gustoću tijekom vremena (kinetički način rada) na dvije valne duljine. Konkretno, te valne duljine treba postaviti na 405 nm i 495 nm.
 - Postavite kinetički način rada za očitavanje duljine od 40 minuta (2400 sekundi). Postavite interval kinetičkog očitavanja na minimum koji dopušta softver/instrument.
 - Mjerenje treba pokrenuti odmah nakon umetanja uzorka.
 - Proučite priručnik za softver kako biste utvrdili kako izračunati mjerenje brzine (nagiba) iz skupa podataka. Za potrebe ovog testa, to se općenito postiže izvođenjem linearne regresije na kinetičkim podacima u predloženom vremenskom okviru. Postavite provedbu izračuna linearne regresije u rasponu od 1900 do 2400 sekundi pomoću funkcije „odsjeka“ u softveru.

8.2 Označavanje epruveta

- Označite jednu praznu epruvetu za svaki uzorak seruma bolesnika koji će se testirati.
- Označite jednu epruvetu za reagens Fungitell STAT® za svaki uzorak seruma bolesnika koji će se testirati.
- Označite jednu epruvetu za reagens Fungitell STAT® za standard Fungitell STAT®.

8.3 Pripremite uzorak seruma bolesnika

- Promiješajte uzorke seruma bolesnika u vrtložnoj miješalici u trajanju od najmanje 20 sekundi da biste osigurali homogenost.

***Napomena:** postupak zamrzavanja može proizvesti heterogenost uzorka zbog izdvajanja vode na rastućem kristalu leda, čime se izbacuju otopljene tvari.*
- Dodajte uzorak seruma bolesnika i otopinu za predobradu lužinom u omjeru od 1:4 u odgovarajuće označenu praznu epruvetu. Preporučeni volumeni iznose 50 µl uzorka bolesnika i 200 µl otopine za predobradu lužinom.

***Napomena:** Otopina za predobradu lužinom pretvara glukane s trostrukom zavojnicom u jednolančane glukane^{14,15} koji su reaktivniji u testu. Osim toga, lužnati pH služi za inaktivaciju serumskih proteaza i inhibitora koji mogu ometati test⁴.*
- Promiješajte 15 sekundi u vrtložnoj miješalici i prekrijte.

8.4 Priprema standarda Fungitell STAT®

***Napomena:** svaki proizvod (standard Fungitell STAT® i par reagensa Fungitell STAT®) testira se i izdaje zasebno. Stoga je važno upotrijebiti serijski broj volumena rekonstitucije i otopine za predobradu lužinom. Oni se mogu pronaći na etiketi na pakiranju standarda Fungitell STAT®, na potvrdi o analizi za proizvod Fungitell STAT® te su dostupni na internetskoj stranici društva ACC. Preporuka: prije pokretanja testa upišite te podatke u priloženi Brzi vizualni vodič.*

- Rekonstituirajte jednu bočicu standarda Fungitell STAT® s volumenom vode za reagens LAL specifičnim za serijski broj i promiješajte u vrtložnoj miješalici 15 sekundi.
- Dodajte volumen otopine za predobradu lužinom specifičan za serijski broj.
- Promiješajte 15 sekundi u vrtložnoj miješalici i prekrijte.

8.5 Inkubacija tijekom predobrade u čitaču epruveta

Inkubirajte epruvete s uzorkom seruma bolesnika (iz koraka 8.3) i bočicu sa standardom Fungitell STAT® (iz koraka 8.4) 10 minuta na 37 °C.

Napomena: kad upotrebljavate instrument PKF08, prilikom umetanja epruvete u jažicu indikator će prićići iz crvene u zelenu boju. Do kraja gurnite epruvetu dok pokazivač ne zasvijetli zeleno.

⚠ Oprez, epruvete su lomljive. U slučaju prodora krhotina stakla i tekućina u mjernu stanicu instrumenta PKF08 obratite se tehničkoj službi društva Associates of Cape Cod, Inc.

8.6 Pripremite epruvete za reagens Fungitell STAT®

- Rekonstituirajte svaku od bočica s reagensom Fungitell STAT® (označenih u koraku 8.2 u prethodnom tekstu) s 300 µl vode za reagens LAL.
- Pažljivo promiješajte u vrtložnoj miješalici **ne dulje od** pet sekundi.

***Napomena:** reagens Fungitell STAT® sadržava više aktivnih proteina potrebnih za test i preporučuje se pažljivo rukovati otopinom. Za svaki se vrtložni uređaj preporučuje maksimalna postavka od 2000 o/min. Nemojte pretjerano promiješati.*
- Na kraju pred-inkubacije:
 - Prenesite 75 µl otopine uzorka seruma svakog bolesnika u njezinu odgovarajuću epruvetu za reagens Fungitell STAT®.
 - Prenesite 75 µl standarda Fungitell STAT® u njegovu odgovarajuću epruvetu za reagens Fungitell STAT®.
 - Promiješajte sve epruvete u vrtložnoj miješalici **ne dulje od** pet sekundi i prekrijte.

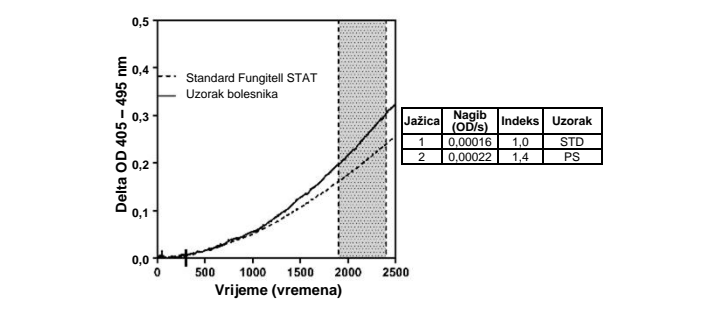
8.7 Pokretanje testa

- Umetnite epruvete u čitač epruveta, provjeravajući da je svaka od njih u predviđenoj jažici.
- Pokrenite kinetičko očitavanje u trajanju od 40 minuta na 37 °C.

9 Izračunajte rezultate

9.1 Načelo mjerenja

Rezultate testa Fungitell STAT® treba upotrebljavati kao pomoć u dijagnozi invazivne gljivične infekcije. Standardne brzine uzorka bolesnika i testa Fungitell STAT® dobivaju se izračunom nagiba (brzine) od 1900 do 2400 od rezultata delta apsorbancije (OD) 405 – 495 nm. Rezultati indeksa Fungitell STAT® dobivaju se podjelom nagiba uzorka bolesnika s nagibom standarda Fungitell STAT® (pogledajte Sliku 2).



Slika 2. **Primjer kinetičkih krivulja testa Fungitell STAT® i analize podataka**
Područje označeno sivom bojom područje je određivanja nagiba (1900 do 2400 sekundi), puna crta primjer je uzorka bolesnika (PS), a isprekidana je crta standard Fungitell STAT® (STD). Nagib uzorka (tj, 0,00022 OD/s) podijeljen s nagibom od 80 pg/ml standarda Fungitell STAT® (tj., 0,00016 OD/s) daje indeks 1,4 za uzorak.

9.2 Upotreba uređaja PKF08 sa softverom BG Analytics®:

- Softver automatski provodi pregled kriterija kvalitete. Rezultati se prikazuju u konačnom izvješću.
- Za valjana pokretanja testa softver BG Analytics® određuje vrijednost indeksa za svaki uzorak ili uzorku dodjeljuje jasan negativan ili pozitivan rezultat.
- Ako softver pokazuje neku naznaku Značajke nevažičih parametara u procjeni rezultata, slijedite upute u priručniku za softver BG Analytics®.

9.3 Kada upotrebljavate drugi softver:

Provjerite jesu li ispunjeni svi kriteriji kontrole kvalitete.

10. Kontrola kvalitete

U nastavku su navedeni kriteriji kontrole kvalitete za standard Fungitell STAT® i rezultati uzorka seruma bolesnika, uključujući primjere očekivanih oblika kinetičke krivulje. Ti su kriteriji kontrole kvalitete potvrđeni tijekom ispitivanja predstavljenih u odjeljku Značajke učinkovitosti.

- Za sve brojeve jažica** potvrdite dodjelu standarda Fungitell STAT® ili broja uzorka

• Za rezultate standarda Fungitell STAT®

- koeficijent korelacije (r) mora biti ≥ 0,980, te
 - nagib mora biti unutar očekivanog raspona nagiba 0,00010 – 0,00024 OD/sekunda.
- Ako rezultat za standard Fungitell STAT® ne ispunjava kriterij br. 1 i 2., pokretanje testa nevažeeće je i svi se uzorci moraju ponovno pripremiti i testirati.*

• Učinite sljedeće sa svim rezultatima uzoraka bolesnika:

A. Odredite je li rezultat možda izvan mjernog raspona testa

- Rezultat je vjerojatno izvan raspona na **pozitivnoj** strani ako:
 - sjecište Y pozitivno je, te
 - kinetička krivulja prolazi 0,4 OD ranije od 1000 sekundi.
- Rezultat je vjerojatno izvan raspona na **negativnoj** strani ako:
 - kinetička krivulja pozitivna je nakon 500 sekundi, te
 - lma OD ≥ 0,00 te < 0,07 na kraju testa.

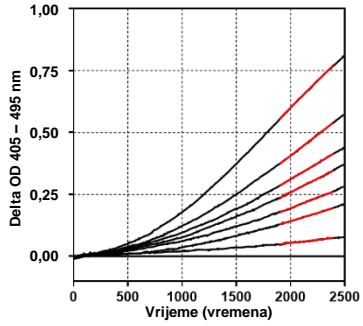
*Ako rezultat za uzorak ispunjava i kriterije za pozitivnu ili negativnu vrijednost izvan raspona, ne moraju se dovršiti opći kriteriji kontrole kvalitete, a vrijednost indeksa **ne smije** se izračunati. Svi rezultati izvan raspona na pozitivnoj strani trebaju se prijaviti kao „Pozitivni“, a svi rezultati izvan raspona na negativnoj strani trebaju se prijaviti kao „Negativni“.*

B. Ako se ne primjenjuju gore navedeni kriteriji, provjerite opću kontrolu kvalitete:

- kinetička krivulja mora biti pozitivna nakon 500 sekundi,
- kinetička krivulja mora imati OD ≥ 0,00 na kraju testa,
- nagib mora biti numerički pozitivan,
- koeficijent korelacije (r) mora biti ≥ 0,980, te
- kinetička krivulja mora imati oblik krivulje koja raste prema gore u skladu s primjerima predstavljenima na **Slici 3.**

Ako rezultat za uzorak ne ispunjava opće kriterije kontrole kvalitete br. 1, 3 – 5, rezultat za uzorak nevažeeći je te se uzorak mora ponovno testirati. Kao druga mogućnost, treba se upotrijebiti neka druga metoda.

Ako rezultat za uzorak ne ispunjava kriterij kontrole kvalitete br. 2, to označava da je signal uzorka nizak. U tom slučaju korisnik treba pažljivo pregledati priloženu krivulju u kontekstu i odrediti valjanost rezultata na temelju sustava unutarnje kvalitete u laboratoriju.



Slika 3. Primjeri odgovarajućih oblika kinetičke krivulje

Kinetičke krivulje trebaju imati oblik s krivuljom koja raste prema gore kao u primjerima u nastavku. Ovdje prikazani primjeri uzoraka potječu iz raspona indeksa testa Fungitell STAT®. Upotrijebite te primjere za pregled kriterija kvalitete.

Napomena:

- svaki korisnik testa treba uspostaviti program za kontrolu kvalitete kako bi osigurao stručnost u provedbi testa u skladu s propisima primjenjivima na svojoj lokaciji.
- Preporučuje se testirati uzorke kontrole seruma (negativne, u blizini granične vrijednosti ili snažno pozitivne) u kontekstu dodatnih laboratorijskih provjera i dobre laboratorijske prakse. Oni nisu uključeni u komplet Fungitell STAT®.

11. Tumačenje rezultata

- Negativan rezultat** Vrijednost indeksa ≤ 0,74 tumače se kao negativni rezultati. Laboratorij koji provodi test treba obavijestiti nadležnog liječnika da neke gljivične infekcije ne rezultiraju povišenim razinama (1→3)-β-D-glukana u serumu. Neke gljivice, kao što je rod *Cryptococcus*^{16,17} proizvode vrlo niske razine (1→3)-β-D-glukana. Za gljivice *Mucorales*, kao što su *Absidia*, *Mucor* i *Rhizopus*^{1,17} nije poznato da proizvode (1→3)-β-D-glukan. Slično tome, *Blastomyces dermatitidis*, u svojoj fazi kvasca, proizvodi malo (1→3)-β-D-glukana, a bolesnici s blastomikozom obično imaju razine (1→3)-β-D-glukana koje se ne mogu otkriti testom Fungitell STAT®¹⁸.
- Neodređeni rezultat** Vrijednosti indeksa od 0,75 do 1,1 smatraju se neodređenima (dvosmislenima). Preporučuje se dodatno uzorkovanje i testiranje seruma. Učestalo uzorkovanje i testiranje poboljšava korisnost dijagnoze.
- Pozitivan rezultat** Vrijednosti indeksa ≥ 1,2 tumače se kao pozitivan rezultat. Pozitivan rezultat znači da je otkriven (1→3)-β-D-glukan. Pozitivan rezultat ne određuje prisutnost bolesti i treba se koristiti zajedno s ostalim kliničkim nalazima kako bi se uspostavila dijagnoza.

12. Ograničenja testa

- Lokacije gljivične infekcije na tkivu⁷, enkapsulacija te količina (1→3)-β-D-glukana koja proizvode određene gljivice može utjecati na koncentraciju tog analita u serumu. Smanjena sposobnost doprinosi (1→3)-β-D-glukana krvotoku može smanjiti sposobnost otkrivanja određenih gljivičnih infekcija.
- Neki pojedinci imaju vrijednosti indeksa (1→3)-β-D-glukana koje pripadaju zoni neodređenih rezultata. U takvim slučajevima preporučuje se dodatno nadzorno testiranje.
- Učestalost testiranja bolesnika ovisit će o relativnom riziku gljivične infekcije. Za rizične bolesnike preporučuje se učestalost uzorkovanja najmanje dva do tri puta tjedno.
- Pozitivni rezultati pronađeni su u bolesnika na hemodijalizi^{19,20,39} i ispitanika liječenih određenim frakcioniranim krvnim proizvodima kao što su serumski albumin i imunoglobulini^{23,24} te u uzorcima ili ispitanicima izloženima gasi i kirurškim spužvama koje sadrže glukan. Bolesnicima je potrebno 3 – 4 dana za ponovnu uspostavu osnovnih razina (1→3)-β-D-glukana u serumu nakon kirurškog izlaganja spužvama i gasi koje sadrže (1→3)-β-D-glukan^{21,22}. Prema tome, odabir vremena uzorkovanja kirurških bolesnika treba to uzeti u obzir.

- Uzorci dobiveni metodama uboda u petu ili prst nisu prihvatljivi jer se pokazalo da gaza namočena u alkohol koja se upotrebljava za pripremu mjesta (te, potencijalno, skupljanje krvi na površini kože) kontaminira uzorke. U dosadašnjim ispitivanjima nije uočena razlika između uzoraka dobivenih vadenjem krvi iz arterije cjevčicom ili vadenjem krvi iz vene iglom^{25,26}.
- Testne razine utvrđene su u odraslih ispitanika. Trenutačno se istražuju normalne i granične vrijednosti kod dojenčadi i pedijatrijskih bolesnika^{27,28}.

13. Karakteristike učinkovitosti

13.1 Očekivane vrijednosti

- Dijagnostička osjetljivost i dijagnostička specifičnost referentne metode, test Fungitell®*** Multicentrično, prospektivno ispitivanje provedeno kako bi se utvrdila dijagnostička osjetljivost i dijagnostička specifičnost testa Fungitell® (smije se stavljati na tržište u SAD-u i proizvod s oznakom CE iz 2008.) pokazalo je da su vrijednosti (1→3) β-D-glukana povećane kod raznih gljivičnih infekcija. Kada su znakovi i simptomi prisutni na razini od 80 pg/ml ili većoj, prediktivna vrijednost da je ispitanik pozitivan na gljivičnu infekciju kreće se u rasponu od 74,4 do 91,7 %. U odsutnosti znakova i simptoma na manje od 60 pg/ml, negativne prediktivne vrijednosti kretale su se u rasponu od 65,1 % do 85,1 %²⁹.
- Određivanje graničnih vrijednosti testa Fungitell STAT®*** Anonimizirani, zamrznuti uzorci seruma bolesnika prikupljeni za rutinsku kliničku skrb predviđene populacije i primljeni u Beacon Diagnostics Laboratory, Inc radi testiranja testom Fungitell® upotrijebljeni su u svrhu ovog ispitivanja. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc licencirani je laboratorij standarda izmjena i dopuna kliničkih laboratorija (Laboratory Improvement Amendments (CLIA)) u sklopu društva Associates of Cape Cod (ACC). Populacija od 93 anonimiziranih uzoraka seruma bolesnika uključena je u ispitivanje uz koncentracije (1→3)-β-D-glukana raspodijeljene u cjelokupnom rasponu krivulje standarda Fungitell® od 31 do 500 pg/ml. Procjena granične vrijednosti testa Fungitell STAT® uslijedila je nakon analize krivulje ROC (krivulje operativne značajke prijemnika)³⁰. Rezultati su ukazivali na to da vrijednosti indeksa β-glukana za test Fungitell STAT ≥ 1,2 treba tumačiti kao pozitivan rezultat u skladu s graničnom vrijednosti proizvoda Fungitell® od 80 pg/ml, dok vrijednosti indeksa ≤ 0,74 treba tumačiti kao negativne rezultate u skladu s graničnom vrijednosti proizvoda Fungitell® od 60 pg/ml. Te su granične vrijednosti potvrđene u sklopu ispitivanja usporedbe metoda i izračuna negativnog postotnog slaganja te pozitivnog postotnog slaganja koje je predstavljeno u nastavku.

13.2. Usporedba metoda

Slično ispitivanju graničnih vrijednosti, no s upotrebom različitog kompleta uzoraka, 488 anonimiziranih, smrznutih uzoraka seruma bolesnika s koncentracijama (1→3)-β-D-glukana raspodijeljenima po cjelokupnom rasponu krivulje standarda Fungitell® od 31 do 500 pg/ml upotrijebljeno je u svrhu ispitivanja usporedbe metoda³⁰. Oni su uključivali 309 uzoraka koji su pripadali negativnoj zoni rezultata testa Fungitell®, 143 uzorka koji su pripadali pozitivnoj zoni testa Fungitell® i 36 uzoraka koji su pripadali neodređenoj zoni testa Fungitell® (**Tablica 2**). Tijekom tog ispitivanja svi su uzorci testirani i testom Fungitell STAT® i testom Fungitell®. Kad su iz analize isključeni uzorci koji su pripadali neodređenoj zoni testa Fungitell STAT®, preostalo je 290 uzoraka za analizu negativnog postotnog slaganja i 119 uzoraka za analizu pozitivnog postotnog slaganja.

Tablica 2. Učinkovitost testa Fungitell STAT® u usporedbi s testom Fungitell®					
		Fungitell®			Ukupno
		Negativan	Neodređen	Pozitivan	
Fungitell STAT®	Negativan	283	17	1	301 (61,7 %)
	Neodređen	19	17	24	60 (12,3 %)
	Pozitivan	7	2	118	127 (26,0 %)
Ukupno		309 (63,3 %)	36 (7,4 %)	143 (29,3 %)	488 (100 %)
		Negativno postotno slaganje: 97,6 %* (283/290) 95 %-tni CI: (95,4; 99,9)		Pozitivno postotno slaganje: 99,2 %* (118/119) 95 %-tni CI: (95,4; 99,9)	

**Neodređeni (tj., dvosmisleni) rezultati nisu uključeni u analizu; ako se svi neodređeni rezultati smatraju neusklađenim rezultatima (npr., lažno pozitivan ili lažno negativan rezultat), učinkovitost je sljedeća: PPA – 73,8 % (118/160), 95 %-mi CI: (66,4%, 80,0%); NPA – 91,0 % (283/311), 95 %-mi CI: (87,3 %; 93,7 %)*

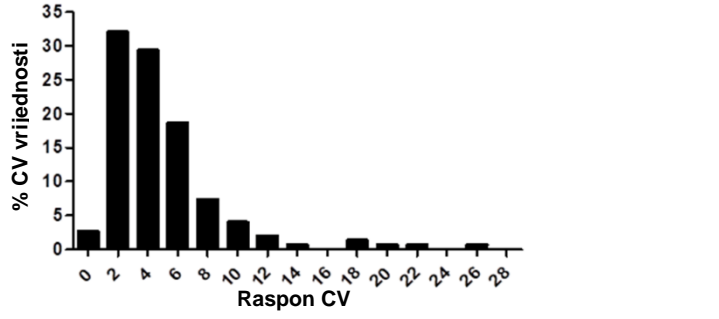
- Negativno postotno slaganje** Dvije stotine osamdeset i tri (283) od 290 uzoraka koji su bili negativni pri testiranju uređajem Fungitell® bili su negativni i na testu Fungitell STAT®. Izračunato negativno postotno slaganje (NPA) s metodom Fungitell® iznosilo je 97,6 % (95 %-tni interval pouzdanosti: 95,4 %; 99,9 %) (**Tablica 2**)
- Pozitivno postotno slaganje** Stotinu i osamnaest (118) od 119 uzoraka koji su bili pozitivni pri testiranju uređajem Fungitell® bili su pozitivni i na testu Fungitell STAT®. Izračunato poziitivno postotno slaganje (NPA) s metodom Fungitell® iznosilo je 99,2 % (95 %-tni interval pouzdanosti: 95,4 %; 99,9 %) (**Tablica 2**).
- Mjerni raspon, linearnost i preciznost** Rezultati indeksa kretali su se od otprilike 0,4 do 3,5 – obuhvaćajući cjelokupnu krivulju Standarda (31 – 500 pg/ml) testa Fungitell®. Linearna korelacija između koncentracije testa Fungitell® i rezultata indeksa testa Fungitell STAT® iznosila je 0,92 (95 %-tni interval pouzdanosti: 89,9 % i 93,6 %).

13.3 Analitičko međulaboratorijsko ispitivanje

Test Fungitell STAT® procijenjen je na preciznost (tj., ponovljivost i reproducibilnost), analitičku osjetljivost i analitičku specifičnost nabadanjem ljudskog seruma (1→3)-β-D-glukanom gljivice *Saccharomyces cerevisiae* kako bi se proizveo peteročlani panel koji se sastojao od nisko negativnog uzorka, visoko negativnog uzorka (neposredno ispod donje granične vrijednosti od 0,74), neodređenog (dvosmislenog) uzorka, nisko pozitivnog uzorka (neposredno iznad gornje granične vrijednosti od 1,2) i visoko pozitivnog uzorka (~2x iznad gornje granične vrijednosti od 1,2). Panel je podijeljen trima laboratorijima CLIA radi testiranja testom Fungitell STAT®. Svaki je laboratorij naveo 150 podatkovnih točaka (tj., 5 uzoraka x 3 primjerka po pokretanju testa x 2 rukovatelja koja provode pokretanje testova na dan x 5 dana) za ukupno 450 podatkovnih točaka i uključujući 30 pokretanja testova (tj., testova) te 90 podatkovnih točaka po uzorku (tj., članu panela). Srednje vrijednosti indeksa ispitivanja predstavljene u **Tablici 3** u nastavku dobivene su iz podataka koje su navela tri laboratorija. Stupac s postotkom pozitivnih rezultata predstavlja postotak uzoraka za dani član panela koji je pripadao pozitivnoj zoni. Među tri laboratorija postotak pozitivnih rezultata iznosio je 1,1 % za nisko negativan uzorak, 0 % za visoko negativan uzorak, 3,3 % za neodređeni uzorak, 96,7 % za nisko pozitivan uzorak i 100 % za visoko pozitivne uzorke.

Tablica 3. Analitičko međulaboratorijsko ispitivanje					
Član panela	Srednji indeks	Standardno odstupanje	% CV	Postotak pozitivnih rezultata (Broj poz. rezultata / Broj testiranih uzoraka)	Analitička specifičnost (stvarna negativna) i analitička osjetljivost (stvarna pozitivna)
Nisko negativan	0,55	0,10	20,4 %	1,1 % (1/90)	89/90 stvarno negativan
Visoko negativan	0,75	0,08	11,1 %	0 % (0/90)	90/90 stvarno negativan
Neodređen	0,94	0,10	11,1 %	3,3 % (3/90)	87/90 nije pozitivan
Nisko pozitivan	1,6	0,30	18,7 %	96,7 % (87/90)	87/90 stvarno pozitivan
Visoko pozitivan	2,6	0,40	15,4 %	100 % (90/90)	90/90 stvarno pozitivan

Kako je navedeno u Tablici 3, varijacija među testovima (tj., % CV) kretala se u rasponu od 11 do 20,4 % i služila je kao mjera reproducibilnosti. Varijacija među testovima kretala se u rasponu od 0,4 % do 26,8 % i služila je kao mjera ponovljivosti. Raspodjela % CV raspona među testovima predstavljena je u nastavku na **Slici 4**. Sveukupno, 94 % CV vrijednosti iznosilo je 10 % ili manje, a 75 % CV vrijednosti iznosilo je 6 % ili manje.



Slika 4. Raspodjela % CV vrijednosti među testovima

13.4 Istinost

Za svaku seriju proizvoda Fungitell STAT® koncentracija (1→3)-β-D-glukana u standardu Fungitell STAT® kalibrira se na 80 +/- 8 pg/ml pomoću referentne metode testa Fungitell® te prema unutarnjem referentnom standardu za (1→3)-β-D-glukan.

13.5 Ometajuće tvari

Sljedeća stanja uzorka mogu ometati precizan rezultat testa Fungitell STAT®:

- bljedi ili mutni uzorci kao što su oni koji su jako hemolizirani, lipemični ili koji sadrže previše bilirubina mogu uzrokovati optičku intererenciju s testom. Ako se takvi uzorci testiraju, rezultate testa treba ispitati radi dokaza optičke interefencije i/ili neobičajenih kinetičkih obrazaca.
- Povišene razine imunoglobulina G, kakve mogu postojati u serumu zbog višestrukih mijeloma, mogu rezultirati taloženjem u reakcijskoj mješavini nakon dodavanja testa Fungitell STAT® prethodno obrađenom serumu³¹.
- U vrijeme pisanja ovog teksta nije opisan aktivirajući faktor G (element za otkrivanje (1→3)-β-glukana) reagensa Fungitell® osim (1→3)-β-glukana. U nekim ispitivanjima u kojima su navedene tvrdnje o križnoj reaktivnosti, obradom navodno aktivirajućeg materijala pročišćenom (1→3)-β-glukanazom eliminiran je signal, čime je potvrđeno da je uočena aktivacija izazvana kontaminirajućim (1→3)-β-glukanom¹². Kontaminacija serinskom proteinomom može ujedno izazvati oslobađanje para-nitroanilina u reakcijskim mješavinama testa Fungitell®, no one su inaktivirane u sklopu procesa predobrade.

14. Meta-analize

Nadalje, brojna recenzirana ispitivanja objavljena su na temu potpore dijagnoze invazivne gljivične bolesti koja se temelji na (1→3)-β-D-glukanu u serumu, uključujući meta-analize dijagnostičke učinkovitosti^{32,33,34,35,36,37,38,39}.

15. Kazalo simbola

	Upotrijebiti do		Proučite upute za upotrebu
	Sadrži dovoljno za „N“ testova		Ovlašteni zastupnik za EU
	Oznaka serije		Oznaka CE
	In vitro dijagnostički medicinski proizvod		Samo za upotrebu na recept
	Kataloški br.		Oprez
	Ograničenje temperature		Držati podalje od sunčeve svjetlosti
	Proizvođač		Uvoznik
	Ovlašteni zastupnik za Švicarsku		

16. Ovlašteni zastupnici/Uvoznik

Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Nizozemska

	Ovlašteni zastupnik za Švicarsku MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Švicarska
	Uvoznik MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Nizozemska

Australski naručitelj:
Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park
201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australija

Napomena: ozbiljne štetne događaje do kojih je došlo vezano uz proizvod treba prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države članice u kojoj se korisnik i/ili bolesnik nalazi.

17. Podaci za kontakt

Sjedište tvrtke
Associates of Cape Cod, Inc.
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 SAD
Tel: (888) 395-2221 ili (508) 540-3444, Telefaks: (508) 540-8680
E-pošta: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

Ujedinjena Kraljevina / Europa
Associates of Cape Cod Int'l, Inc.
Unit 1 F/G/H Academy Business Park, Lees Road
Knowsley, Liverpool L33 7SA, Ujedinjena Kraljevina
Tel: (44) 151–547-7444, Telefaks: (44) 151–547-7400
E-pošta: info@acciuk.co.uk • www.acciuk.co.uk

18. Povijest revizija

Rev 1 – 3: Dodan kataloški broj PKF08-PKG i poveznice upute; pojedinosti o standardu Fungitell STAT® koji služi kao unutarnja kontrola, podaci za kontakt, pojašnjenja i formatiranje. Pojašnjeni opći kriteriji kontrole kvalitete br. 3. Dodani podaci o stabilnosti uzorka i određivanje granične vrijednosti, odjeljci Mjerni raspon – Linearnost –Preciznost i istinitost. Rev 4: Promijenjen predstavnik za EU, vrijednost 0,03 promijenjena u 0,00 u odjeljku Kontrola kvalitete i manje izmjene radi pojašnjenja. Rev 5: Uklonjen zastupnik za EZ Emergo Europe. Rev 6: AZurirani korišteni simboli. Dodan MedEnvoy kao uvoznik za EU i uklonjen ACC Europe GmbH iz odjeljka 17. AZurirani korišteni simboli. Dodani EC-REP, uvoznik za Švicarsku te naziv i adresa CH-REP.

19. Referencije

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
- De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Concensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
- Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.
- Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H. Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
- Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
- Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
- Lass-Florl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M. and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
- Litvinseva, 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.
- 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.
- Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in Limulus. Thrombosis Res. 68: 1-32.
- Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1→3)-β-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.
- Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-β-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus amoebocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
- Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
- 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.
- Binder, U., Maurer, E., and Lass-Florl, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
- 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.
- Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
- Kato, A., Takita, T., Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.
- Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameko, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Racil, Z., Kočmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timišlina, 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.
- Posteraro B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi,M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguineti, 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.
- 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.
- 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: 44-48.
- Ostrosky-Zeichner, L., Alexander, B.D., Kett, D.H., Vazquez, J., Pappas, P.G., Saeki, F., Ketchum, P.A., Wingard, J., Schiff, R., Tamura, H., Finkelman, M.A., Rex, J.H. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1→3)-β-D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. Clin. Inf. Dis. 41: 299-305.
- 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.
- 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 Waldenström’s macroglobulinemia. J.Clin. Microbiol. 50:1054-6.
- 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.
- 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.
- Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnaola 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 jirovecii* 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 \rightarrow 3)- β -D Glucan. *PLoS One*. 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.