

Saggio per il rilevamento del (1→3)-β-D-glucano nel siero

FUNGITELL STAT®			
<i>Istruzioni per l’uso</i>			
	<p>Telefono: (508) 540-3444</p> <p>Numero verde: (888) 395-2221</p> <p>Fax: (508) 540-8680</p> <p>Assistenza tecnica: (800) 848-3248</p> <p>Assistenza clienti: (800) 525-8378</p>	<p>Rx only</p> <p></p> <p>10</p> <p> </p>	
PN002603-it Rev6	 FT007		2024-09-05

Per ottenere le istruzioni per l’uso nella propria lingua, visitare il sito www.acciusa.com.

Questo prodotto è esclusivamente per uso diagnostico in vitro e per uso professionale.

1. Uso previsto

Fungitell STAT® è un saggio colorimetrico a base di zimogeno della proteasi formulato per la determinazione qualitativa del (1→3)-β-D-glucano nel siero di pazienti con sintomi di micosi invasive o condizioni mediche che li predispongano a tali infezioni. La concentrazione sierica del (1→3)-β-D-glucano, un importante componente della parete cellulare di vari miceti di rilievo dal punto di vista medico¹, può essere usata come ausilio nella diagnosi delle micosi e delle fungemie radicate.² Un risultato positivo non indica il genere di miceti responsabile dell’infezione.

I valori di indice del (1→3)-β-D-glucano devono essere usati contestualmente ad altre procedure diagnostiche quali colture microbiologiche, esame istologico di campioni bioptici ed esami radiologici.

2. Sommario e spiegazione

L’incidenza delle micosi causate da agenti patogeni opportunisti è in aumento, in particolare tra i pazienti immunocompromessi.³,4,5 Le micosi invasive, in qualità di infezioni opportunistiche, sono frequenti tra i pazienti affetti da neoplasie ematologiche maligne e da AIDS e sono responsabili di un numero sempre maggiore di infezioni nosocomiali, in particolare tra i soggetti sottoposti a trapianto di organi e altri pazienti in terapia immunosoppressiva⁶,7. Molte patologie micotiche vengono acquisite tramite inalazione di spore fungine provenienti da suolo, detriti vegetali, impianti di climatizzazione e/o superfici esposte. Alcuni miceti opportunisti sono presenti nella o sulla cute umana, nel tratto intestinale e nelle mucose⁸,9. La diagnosi delle micosi invasive e delle fungemie si basa generalmente su tecniche diagnostiche o radiologiche di natura non specifica. Di recente, ai metodi diagnostici disponibili si sono aggiunti dei marcatori biologici di micosi.²

I patogeni micotici opportunisti includono *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* e *Pneumocystis jirovecii*. Il (1→3)-β-D-glucano prodotto da questi e da altri organismi è rilevabile mediante il saggio Fungitell STAT®.¹,5,10,11

3. Principio della procedura

Fungitell STAT® (n. cat. FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) nasce da una modifica progettuale al formato del saggio Fungitell® (n. cat. FT001, Associates of Cape Cod, Inc. o ACC). Fungitell STAT® (dispositivo a marchio CE 2019) è stato sviluppato per rispondere all’esigenza di un test monouso di dimensioni ridotte rispetto al formato per piastra a 96 pozzetti del saggio Fungitell® (dispositivo a marchio CE 2008 e legalmente commercializzato negli Stati Uniti d’America).

Fungitell STAT® permette di effettuare una misurazione qualitativa del (1→3)-β-D-glucano ed è un saggio basato su una modifica del meccanismo a cascata del lisato di amebociti di *Limulus* (LAL)¹²,¹³,¹⁴,¹⁵. **Figura 1.** Il reagente Fungitell STAT® è stato modificato in modo da eliminare la reattività alle endotossine batteriche e da reagire, quindi, esclusivamente con il (1→3)-β-D-glucano, tramite la tappa del meccanismo a cascata mediata dal fattore G. Il (1→3)-β-D-glucano attiva il fattore G, uno zimogeno della serin proteasi. Il fattore G attivato converte l’enzima procoagulante inattivo in enzima coagulante attivo, che a sua volta separa la para-nitroanilide Boc-Leu-Gly-Arg-pNA liberando un cromoforo, la para-nitroanilina (pNA), che assorbe a 405 nm. Il saggio cinetico Fungitell STAT® descritto di seguito si basa sulla determinazione della velocità di aumento della densità ottica prodotto da un campione di siero del paziente. Questa velocità viene messa a confronto con quella dello standard Fungitell STAT® (reagente a concentrazione nota) allo scopo di generare un indice. Lo standard Fungitell STAT® è calibrato a una concentrazione di 80 ± 8 pg/ml, che rappresenta il cutoff positivo per il saggio Fungitell®. Questo valore di indice del campione di siero del paziente viene interpretato, dal punto di vista qualitativo, come risultato negativo, indeterminato o positivo in base all’intervallo di valori di indice presentato nella **Tabella 1** qui sotto.

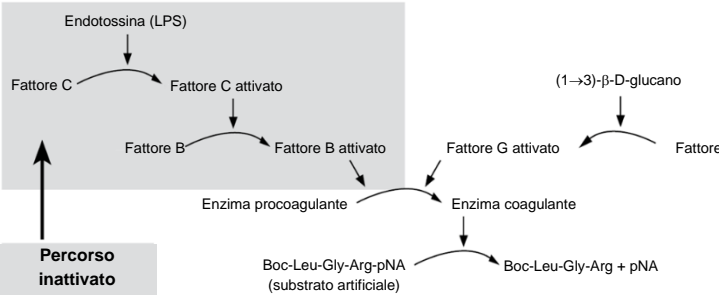


Figura 1. Meccanismo a cascata del lisato di amebociti di Limulus

Tabella 1. Intervalli di indice per Fungitell STAT®	
Risultato	Valore dell’indice
Negativo	≤0,74
Indeterminati	0,75-1,1
Positivo	≥1,2

4. Materiali forniti in dotazione al prodotto Fungitell STAT®

Fungitell STAT® è un prodotto per uso diagnostico *in vitro*.

I seguenti materiali forniti in dotazione con ciascun prodotto sono sufficienti per un totale di 10 reazioni (basate sulle 10 provette di reagente Fungitell STAT®). Ciascun prodotto contiene anche 5 provette di standard Fungitell STAT®.

- Reagente Fungitell STAT®, LAL liofilizzato specifico per il (1→3)-β-D-glucano (10 provette)

Il reagente Fungitell STAT® è costituito dal lisato di amebociti di Limulus (ossia, Limulus polyphemus), dal substrato colorimetrico Boc-Leu-Gly-Arg-pNA e da un tampone Tris. Non contiene proteine umane o di mammifero. Il reagente Fungitell STAT® non presenta livelli interferenti di (1→3)-β-D-glucano.
- Standard glucano Fungitell STAT® (5 provette) (1→3)-β-D-glucano liofilizzato.

Lo standard glucano Fungitell STAT® è costituito da D-lattosio e (1→3)-β-D-glucano derivati dall’estratto di lievito Saccharomyces cerevisiae. Controllo interno: la concentrazione di (1→3) β-D-glucano nello standard Fungitell STAT® è calibrata sul valore del limite positivo del prodotto Fungitell® (dispositivo a marchio CE 2008 e legalmente commercializzato negli Stati Uniti d’America) e rispetto a uno standard di riferimento interno. Lo standard Fungitell STAT® contiene una quantità nota di glucano. I valori risultanti sono descritti nella sezione Controllo qualità e fungono da controllo interno per il saggio Fungitell STAT®.
- Istruzioni per l’uso
- Guida visiva rapida

5. Materiali necessari ma non forniti

Tutti i materiali devono essere privi di glucano interferente.

- Acqua per reagente LAL* (fiala da 5,5 ml, n. di catalogo W0051-10)
- Soluzione alcalina di pre-trattamento KOH 0,125 M e KCl 0,6 M* (fiala da 2,5 ml, n. di catalogo APS51-5)
- Pipette con volumi di erogazione di 20-200 µL e 100-1000 µL
- Puntali per pipetta* (250 µL, n. di catalogo PPT25; 1000 µL, n. di catalogo PPT10)
- Puntali per pipetta lunghi* (20-200 µL, n. di catalogo TPT50)
- Provette* per la preparazione del campione del paziente e successiva miscelazione con la soluzione di pretrattamento del siero (12 x 75 mm, n. di catalogo TB240-5)
- Lettore per provette e software per il saggio cinetico
 - PKF08 Lettore di provette in incubazione a 8 pozzetti (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)** con Beta Glucan Analytics (BG Analytics® o software BG Analytics®), manuale del software BG Analytics® e protocollo di verifica del sistema BG Analytics®** (BG A007, Associates of Cape Cod, Inc.). Il dispositivo PKF08 e il software BG Analytics® sono forniti da Associates of Cape Cod, Inc. (n. di catalogo PKF08-PKG**). PKF08-PKG è stato convalidato per l’uso con il saggio Fungitell STAT®. **Oppure**
 - Lettore di provette in incubazione (37 °C) in grado di effettuare letture a 405 nm e 495 nm con un intervallo di almeno 0-1,0 unità di assorbanza, associato a un software per saggi cinetici computerizzati in grado di analizzare la cinetica di reazione e di consentire la valutazione dei criteri elencati nella sezione Controllo qualità delle Istruzioni per l’uso.
- Provette sterili, senza glucano, per il frazionamento dei campioni. È possibile utilizzare provette che siano certificate per l’assenza di RNAsi, DNAsi e pirogenicità.
- Parafilm®

** Questi prodotti forniti da Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) sono certificati per l’assenza di glucani interferenti.*

***I manuali d’uso sono scaricabili dal sito Web di ACC: www.acciusa.com.*

6. Conservazione dei reagenti

- Conservare tutti i kit, nelle condizioni in cui sono forniti, in ambiente buio a 2-8 °C.
- Il reagente Fungitell STAT® e lo standard Fungitell STAT® sono progettati per essere utilizzati fino a 1 ora dopo la ricostituzione.

7. Avvertenze e precauzioni

- Non pipettare alcun materiale con la bocca. Non fumare né consumare cibi o bevande nelle aree destinate al trattamento dei campioni o dei reagenti del kit.
- Attenersi ai regolamenti in materia di sicurezza vigenti a livello locale e adottati dal laboratorio.
- Indossare guanti protettivi durante la manipolazione dei campioni biologici che potrebbero essere pericolosi o infettivi. Le mani guantate devono essere considerate sempre contaminate; tenerle lontano da occhi, bocca e naso. Indossare occhiali protettivi e mascherina chirurgica se esiste una possibilità di contaminazione da aerosol.
- I prodotti contenenti componenti danneggiati non devono essere usati.
- Smaltimento: i residui chimici e dei preparati sono generalmente considerati rifiuti pericolosi. Lo smaltimento di questa tipologia di rifiuti è normato dalle leggi e dai regolamenti nazionali e regionali. Per informazioni sullo smaltimento dei rifiuti pericolosi, contattare le autorità locali o le società che si occupano della gestione dei rifiuti.
- Le schede dati di sicurezza** del reagente Fungitell STAT®, dello standard Fungitell STAT®, dell’acqua per reagente LAL e della soluzione alcalina di pre-trattamento sono scaricabili dal sito Web di ACC: www.acciusa.com.

7.1 Precauzioni procedurali

L’esecuzione del saggio Fungitell STAT® prevede una rigorosa attenzione alla tecnica utilizzata e all’ambiente di analisi. Un accurato addestramento del tecnico alla metodologia di esecuzione del saggio e alla prevenzione della contaminazione è essenziale ai fini dell’efficacia del saggio.

- Predisporre un ambiente pulito in cui eseguire il saggio.
- Tenere presente che sia la contaminazione da glucani sia la contaminazione da particelle fungine derivanti da corpo umano, indumenti, contenitori, acqua e polveri presenti nell’aria possono interferire con il saggio Fungitell STAT®.
- Tra le possibili fonti di contaminazione sono inclusi i materiali contenenti cellulosa come le garze, le salviette di carta e le scatole di cartone, le pipette di vetro con tappi in cotone e i puntali per pipetta con filtri in cellulosa. Anche le medicazioni in garza chirurgica e le spugne possono secemere grosse quantità di (1→3)-β-D-glucano.²¹,²² Per informazioni sulle altre fonti di contaminazione correlate al paziente, consultare la sezione Limitazioni del saggio.
- Utilizzare immediatamente le fiale aperte con soluzione alcalina di pre-trattamento e acqua per reagente LAL; non riutilizzare questi materiali in caso di rischio di contaminazione.
- Il reagente Fungitell STAT® e lo standard Fungitell STAT® sono forniti in un unico lotto. Per questo motivo, non è possibile utilizzare alcun componente del reagente Fungitell STAT® e dello standard Fungitell STAT® proveniente da altri lotti. Si consiglia, pertanto, di smaltire eventuali residui di standard Fungitell STAT® subito dopo aver utilizzato tutte le provette di reagente Fungitell STAT® presenti in una confezione.
- Non usare i materiali dopo la data di scadenza indicata.

7.2 Trattamento dei campioni

- Il prelievo del sangue e la preparazione del siero devono essere effettuati conformemente ai regolamenti locali applicabili. Raccolta dei campioni: per la preparazione del siero, i campioni ematici possono essere prelevati in provette sterili per la preparazione del siero o in provette sterili per la separazione del siero.
- Conservazione dei campioni: i campioni di siero possono essere conservati a 2-8 °C fino a 15 giorni oppure congelati a -20 °C fino a 27 giorni o a -80 °C fino a 4 anni.
- Etichettatura dei campioni: i campioni devono essere etichettati in modo chiaro in base alla prassi approvata dell’istituto medico (laboratorio).

7.3 Note sull’analisi:

- Utilizzare la buona prassi di laboratorio in base ai regolamenti locali in vigore. Questo saggio è sensibile alla contaminazione e alla scarsa accuratezza di pipettaggio.
- Per garantire la sicurezza dell’operatore che utilizza i campioni di siero e ridurre il rischio di contaminazione da (1→3)-β-D-glucano presente nell’ambiente durante la procedura, si consiglia di lavorare in cabina di sicurezza biologica.
- Per ridurre allo stretto necessario gli spostamenti delle fiale di vetro dall’interno all’esterno della cabina di sicurezza biologica e viceversa, si consiglia di tenere il vortex al suo interno (mantenendo il flusso d’aria appropriato).
- Per contribuire ad evitare la contaminazione crociata tra fiale, è consigliabile utilizzare puntali per pipetta lunghi.
- La provetta dello standard Fungitell STAT® (tappo rosso ed etichetta con striscia rossa) deve essere processata sempre nelle stesse condizioni e contemporaneamente ai campioni dei pazienti nell’ambito di una sessione analitica. Ciò è fondamentale in quanto il saggio genera un indice (campione/standard) dei tassi di reazione cinetica (o pendenze, DO/s) provenienti dal campione del paziente e dallo standard Fungitell STAT®.
- Per evitare confusione e contaminazione crociata, durante la procedura è consigliabile utilizzare rastrelliere di provette separate, una per le provette di preparazione dei campioni e una per le provette di reagente.
- Quando si colloca il Fungitell STAT® Standard all’interno della rastrelliera, dell’incubatore e del lettore, è consigliabile scegliere una posizione e mantenerla invariata. Nel lettore PKF08, utilizzare il primo pozzetto a sinistra contrassegnato dall’etichetta “Standard”.
- Al termine di ogni passaggio della miscelazione, osservare la soluzione per verificare che sia stata miscelata in maniera omogenea.

8. Procedura

Il prodotto Fungitell STAT® è corredato da una guida visiva rapida contenente illustrazioni e un riepilogo delle caratteristiche dello strumento PKF08 e del software BG Analytics®.

Quando si utilizza il dispositivo PKF08 insieme al software BG Analytics®, sono già preimpostate le seguenti procedure: impostazione del dispositivo, valutazione dei risultati e controllo qualità. Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d’uso del software BG Analytics® o contattare il fabbricante.

8.1 Impostazione dello strumento e programmazione del saggio

8.1.1 **Quando si utilizza PKF08 con il software BG Analytics®:** Accendere il dispositivo e seguire le istruzioni del software BG Analytics®. Per informazioni dettagliate, consultare il manuale BG Analytics®.

- Quando si utilizza un altro strumento con un altro software,** è necessario che siano soddisfatte le seguenti condizioni:
 - Lo strumento deve poter raggiungere e mantenere una temperatura di 37 °C ± 1 °C.
 - Lo strumento e il software devono poter leggere la densità ottica nel tempo (modalità cinetica) a due lunghezze d’onda. Nello specifico, queste lunghezze d’onda devono essere impostate su 405 nm e 495 nm.
 - Impostare la modalità cinetica su una durata di lettura di 40 minuti (2400 secondi). Impostare l’intervallo di lettura cinetica al minimo consentito dal software e dallo strumento.
 - La misurazione deve essere avviata subito dopo aver inserito i campioni.
 - Per stabilire come calcolare una misurazione del tasso di variazione (pendenza) dal set di dati, consultare il manuale del software. Per le finalità di questo saggio, ciò si ottiene generalmente eseguendo una regressione lineare sui dati cinetici nell’intervallo di tempo suggerito. Per impostare il calcolo della regressione lineare da eseguire nell’intervallo compreso tra 1900 e 2400 secondi, utilizzare la funzione “slice” del software.

8.2 Etichettatura delle provette

- Etichettare una provetta vuota per ogni campione di siero di paziente da analizzare.
- Etichettare una provetta di reagente Fungitell STAT® per ogni campione di siero di paziente da analizzare.
- Etichettare una provetta di reagente Fungitell STAT® per lo standard Fungitell STAT®.

8.3 Preparazione del campione di siero del paziente

- Vortexare i campioni di siero del paziente per almeno 20 secondi per garantirne l’omogeneità.

Nota: il processo di congelamento può generare eterogeneità nei campioni dovuta alla rimozione di acqua dal campione, con conseguente esclusione dei soluti, durante la formazione del cristallo di ghiaccio.
- Alla corrispondente provetta vuota etichettata aggiungere il campione di siero del paziente e la soluzione alcalina di pre-trattamento in rapporto 1:4. I volumi consigliati sono 50 µL di campione paziente e 200 µL di soluzione alcalina di pre-trattamento.

Nota: la soluzione alcalina di pre-trattamento converte i glucani a tripla elica in glucani a singolo filamento¹⁴¹⁵ che nel saggio risultano più reattivi. Inoltre, il suo pH alcalino inattiva le proteasi e gli inibitori presenti nel siero che potrebbero interferire con il saggio²⁴.
- Vortexare per 15 secondi e coprire.

8.4 Preparazione dello standard Fungitell STAT®


Nota: ciascun prodotto (lotto costituito da standard Fungitell STAT® e reagente Fungitell STAT®) viene testato e rilasciato in maniera indipendente. È importante, quindi, utilizzare i volumi specifici per il n. di lotto della soluzione di ricostituzione e della soluzione alcalina di pre-trattamento. Questi volumi sono indicati sull’etichetta della confezione dello standard Fungitell STAT®, sul certificato di analisi del prodotto Fungitell STAT® e sono disponibili anche sul sito Web di ACC. Suggerimento: prima di iniziare il saggio, annotare queste informazioni nella guida visiva rapida.

- Ricostituire una fiala di standard Fungitell STAT® con il volume specifico per il numero di lotto dell’acqua per reagente LAL e vortexare per 15 secondi.
- Aggiungere il volume specifico per il numero di lotto di soluzione alcalina di pre-trattamento.
- Vortexare per 15 secondi e coprire.

8.5 Incubazione di pretrattamento nel lettore di provette

Incubare le provette con i campioni di siero del paziente (preparate come descritto al punto 8.3) e la fiala dello standard Fungitell STAT®(preparata come al punto 8.4) per 10 minuti a 37 °C.

Nota: sullo strumento PKF08 è presente un indicatore rosso che diventa verde con l’inserimento di una provetta in un pozzetto. Inserire la provetta completamente fino a quando l’indicatore non diventa verde.

 **Attenzione,** le provette sono fragili. In caso di penetrazione di liquidi e schegge di vetro in una stazione di misurazione dello strumento PKF08, contattare il servizio tecnico di Associates of Cape Cod, Inc.

8.6 Preparazione delle provette di reagente Fungitell STAT®

- Ricostituire ciascuna fiala di reagente Fungitell STAT® (etichettata come precedentemente spiegato al punto 8.2) con 300 µL di acqua per reagente LAL.
- Vortexare delicatamente per **non più** di 5 secondi.

Nota: il reagente Fungitell STAT® contiene un certo numero di proteine attive necessarie per il saggio e per questo è consigliabile manipolare la soluzione con cura. Per i dispositivi vortex si consiglia di impostare un massimo di 2000 rpm. Non miscelare più del necessario.
- Al termine della pre-incubazione:
 - Trasferire 75 µL di soluzione per ciascun campione di siero del paziente nella corrispondente provetta contenente il reagente Fungitell STAT®.
 - Trasferire 75 µL di standard Fungitell STAT® nella provetta corrispondente contenente il reagente Fungitell STAT®.
- Vortexare tutte le provette per **non più** di 5 secondi e coprire.

8.7 Avvio della sessione

- Inserire le provette nel lettore verificando che ognuna di esse sia posizionata nell’apposito pozzetto.
- Avviare la lettura cinetica per un periodo di 40 minuti a 37 °C.

9 Calcolo dei risultati

9.1 Principio di misurazione

I risultati del saggio Fungitell STAT® devono essere usati come dati ausiliari nella diagnosi delle infezioni fungine invasive. I tassi di variazione standard del campione del paziente e di Fungitell STAT® vengono ricavati calcolando la pendenza (tasso di variazione) tra 1900 e 2400 dal delta dei risultati di DO a 405-495 nm. I risultati dell’indice Fungitell STAT® si ottengono dividendo la pendenza del campione del paziente per la pendenza dello standard Fungitell STAT® (si veda la Figura 2).

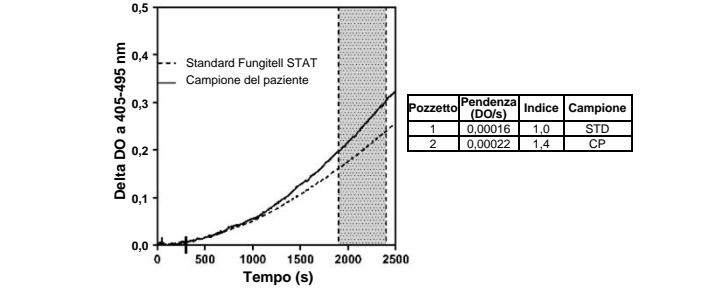


Figura 2. Esempio di curve cinetiche per Fungitell STAT® e analisi dei dati
La regione evidenziata in grigio è l’area di determinazione della pendenza (da 1900 a 2400 secondi), la linea continua è un esempio di campione del paziente (CP) e la linea tratteggiata rappresenta lo standard Fungitell STAT® (STD). La pendenza del campione (ossia 0,00022 DO/s) diviso la pendenza di 80 pg/ml dello standard Fungitell STAT® (ossia 0,00016 DO/s) genera un indice di 1,4 per il campione.

9.2 Quando si utilizza PKF08 con il software BG Analytics®:

- L’esame dei criteri di controllo qualità viene effettuato automaticamente dal software. Il risultato viene visualizzato nel referto finale.
- Per le sessioni analitiche valide, il software BG Analytics® genera un valore di indice per ciascun campione oppure assegna al campione un risultato nettamente positivo o negativo.
- Se nella valutazione dei risultati il software mostra indicazioni di parametri non validi, attenersi alle istruzioni riportate nel manuale del software BG Analytics®.

9.3 Quando si utilizza un altro software:

Verificare che siano soddisfatti tutti i criteri di controllo qualità.

10. Controllo qualità

Di seguito sono riportati i criteri di controllo qualità per lo standard Fungitell STAT® e i risultati dei campioni di siero del paziente, compresi degli esempi di forme delle curve cinetiche attese. Questi criteri di controllo qualità sono stati convalidati durante gli studi presentati nella sezione Caratteristiche delle prestazioni.

- Per tutti i pozzetti,** confermare la corretta assegnazione del numero di pozzetto allo standard Fungitell STAT® o al campione

- Per il risultato dello standard Fungitell STAT®,**
 - il coefficiente di correlazione (r) deve essere ≥ 0,980 e
 - la pendenza deve rientrare nell’intervallo di pendenza atteso pari a 0,00010-0,00024 DO/secondo.

Se lo standard Fungitell STAT® non soddisfa i criteri n. 1 e n. 2, la sessione analitica si considera non valida e tutti i campioni devono essere nuovamente preparati e analizzati.

- Per tutti i risultati dei campioni del paziente, procedere come segue:**
 - Stabilire se il risultato ricade al di fuori dell’intervallo di misurazione del saggio**
 - Il risultato potrebbe non rientrare nell’intervallo sul lato **positivo** se:
 - l’intercetta Y è positiva e
 - la curva cinetica supera 0,4 DO prima di 1000 secondi.
 - Il risultato potrebbe non rientrare nell’intervallo sul lato **negativo** se:
 - la curva cinetica è positiva dopo 500 secondi e
 - ha una DO ≥0,00 e <0,07 al termine del test.

*Se il risultato del campione soddisfa entrambi i criteri di esclusione dall’intervallo sia sul lato positivo sia sul lato negativo, non occorre completare la valutazione dei criteri generali di CQ descritti di seguito **né** calcolare il valore di indice. Tutti i risultati esterni all’intervallo sul lato positivo devono essere referatati come “Positivi” e tutti quelli esterni all’intervallo sul lato negativo come “Negativi”.*
- Se non sono soddisfatti i criteri sopra riportati, effettuare una verifica dei CQ generali:**
 - la curva cinetica deve essere positiva dopo 500 secondi,
 - la curva cinetica deve avere una DO ≥ 0,00 al termine del test,
 - la pendenza deve essere numericamente positiva,
 - il coefficiente di correlazione (r) deve essere ≥ 0,980 e

- la curva cinetica deve avere una pendenza con crescita verso l'alto coerente con gli esempi presentati nella **Figura 3**.

Se il risultato del campione non soddisfa i criteri generali di CQ n. 1, 3-5, si considera non valido e deve essere nuovamente analizzato. In alternativa, utilizzare un altro metodo.

Se il risultato del campione non soddisfa i criteri CQ n. 2, ciò suggerisce che il segnale del campione è basso. In tal caso, l'operatore deve esaminare attentamente la curva fornita nel contesto dell'analisi e stabilire la validità dei risultati in base al sistema di controllo qualità interno del laboratorio.

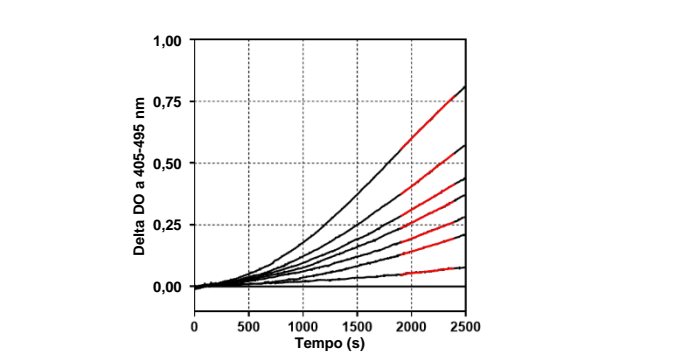


Figura 3. Esempi di forme di curve cinetiche appropriate

Le curve cinetiche devono avere una forma con crescita verso l'alto come mostrato negli esempi qui sopra. Gli esempi di campione mostrati in questa figura si riferiscono a tutto l'intervallo di indici del saggio Fungitell STAT®. Utilizzare questi esempi per esaminare i criteri di controllo qualità.

Nota:

- Ciascun utilizzatore del saggio deve stabilire un programma di controllo di qualità che garantisca la competenza dei tecnici nell'esecuzione del saggio in base alle norme applicabili presso il laboratorio.
- Si consiglia di analizzare i campioni di controllo del siero (negativi, vicini al valore limite o nettamente positivi) nel contesto di ulteriori controlli di laboratorio e della buona prassi di laboratorio. Questi ulteriori controlli non sono inclusi nel kit Fungitell STAT®.

11. Interpretazione dei risultati

- Risultato negativo**

I valori di indice ≤0,74 sono interpretati come risultati negativi.

Il laboratorio che esegue il test deve informare il medico richiedente del fatto che non tutte le infezioni fungine evidenziano livelli elevati di (1→3)-β-D-glucano nel siero. Alcune specie fungine, come il genere *Cryptococcus*^{16,17}, producono livelli esigui di (1→3)-β-D-glucano. I *Mucorales*, come *Absidia*, *Mucor* e *Rhizopus*¹⁷, in genere non producono (1→3)-β-D-glucano. Analogamente, *Blastomyces dermatitidis* allo stato di lievito produce bassi livelli di (1→3)-β-D-glucano e i pazienti affetti da blastomicosi evidenziano generalmente livelli non rilevabili di (1→3)-β-D-glucano con il saggio Fungitell STA™¹⁸.

- Risultato indeterminato**

I valori di indice compresi tra 0,75 e 1,1 sono considerati inconcludenti (equivoci). Si consiglia il prelievo e l'analisi di ulteriori campioni di siero. Una maggiore frequenza di prelievo e di analisi migliora l'utilità del saggio ai fini della diagnosi.

- Risultato positivo**

I valori di indice ≥ 1,2 sono interpretati come risultati positivi. Un esito positivo significa che il saggio ha rilevato la presenza di (1→3)-β-D-glucano. Un risultato positivo non definisce la presenza della malattia e deve essere utilizzato contestualmente ad altri esiti clinici per formulare la diagnosi.

12. Limitazioni del saggio

- Le sedi tissutali della micosi⁷, l'incapsulamento e la quantità di (1→3)-β-D-glucano prodotta da determinati miceti possono influire sulla concentrazione dell'analita nel siero. Una ridotta capacità di liberare (1→3)-β-D-glucano nel circolo ematico può compromettere il rilevamento di alcune micosi.
- Alcuni soggetti presentano valori di indice del (1→3)-β-D-glucano che rientrano nella zona indeterminata. In tali casi, si consiglia di procedere ad ulteriori test di sorveglianza.
- La frequenza dell'analisi dipenderà dal rischio relativo di micosi del paziente. Per i pazienti a rischio si consiglia il prelievo di campioni almeno due o tre volte alla settimana.
- Sono stati riscontrati risultati positivi nei pazienti emodializzati^{19,20,39}, in soggetti trattati con determinati prodotti del frazionamento ematico come albumina sierica e immunoglobuline^{23,24} e in campioni o soggetti esposti a garze e spugne chirurgiche contenenti glucano. Il ripristino dei livelli al basale di (1→3)-β-D-glucano nel siero richiede 3-4 giorni di tempo dopo l'esposizione a spugne e garze contenenti (1→3)-β-D-glucano in sede chirurgica.^{21,22} La tempistica di prelievo dei campioni dai pazienti chirurgici deve tener conto di questo fatto.

- Non sono accettabili campioni ottenuti con puntura del tallone o del polpastrello, in quanto la garza imbevuta di alcol usata sulla cute (e potenzialmente anche l'accumulo di sangue sull'epidermide) si è dimostrata essere fonte di contaminazione per i campioni. Gli studi condotti fino ad oggi non hanno evidenziato alcuna differenza tra i campioni prelevati attraverso una linea venosa o mediante puntura venosa.^{25,26}
- I livelli di analisi sono stati stabiliti su soggetti adulti. I livelli normali e di cutoff per la popolazione infantile e pediatrica sono in fase di studio.^{27,28}

13. Caratteristiche delle prestazioni

13.1 Valori attesi

- Sensibilità diagnostica e specificità diagnostica del metodo di riferimento, saggio Fungitell®* Uno studio prospettico multicentrico, condotto per stabilire la sensibilità diagnostica e la specificità diagnostica del saggio Fungitell® (dispositivo a marchio CE 2008 e legalmente commercializzato negli Stati Uniti d'America) ha dimostrato che i valori del (1→3) β-D-glucano sono elevati in svariate micosi. In presenza di segni e sintomi a un livello di 80 pg/ml o superiore, il valore predittivo di positività di un soggetto per la micosi va dal 74,4% al 91,7%. In assenza di segni e sintomi a un livello inferiore a 60 pg/ml, il valore predittivo di negatività va dal 65,1% all'85,1%.²⁹

- Determinazione dei valori di cutoff per Fungitell STAT®* Per le finalità di questo studio sono stati utilizzati campioni di siero di pazienti, congelati e deidentificati, prelevati durante le normali cure cliniche nella popolazione prevista e inviati al Beacon Diagnostics Laboratory, Inc. allo scopo di testare il saggio Fungitell®. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc. è un laboratorio conforme agli emendamenti per il miglioramento dei laboratori clinici (Clinical Laboratory Improvement Amendments, CLIA) facente parte di Associates of Cape

Cod (ACC). Nello studio è stata inclusa una popolazione di 93 campioni di siero di pazienti deidentificati con concentrazioni di (1→3)-β-D-glucano distribuite in tutto l'intervallo della curva standard di Fungitell® con valori di 31-500 pg/ml. L'analisi della curva ROC (Receiver Operating Characteristic Curves) è stata seguita dalla valutazione dei cutoff di Fungitell STAT®.³⁰ Dai risultati è emerso che i valori di indice ≥1,2 del β-glucano di Fungitell STAT devono essere interpretati come risultato positivo in allineamento al cutoff di 80 pg/ml del prodotto Fungitell® mentre i valori di indice ≤0,74 devono essere interpretati come risultati negativi in allineamento con il cutoff di 60 pg/ml del prodotto Fungitell®. Questi valori di cutoff sono stati convalidati nell'ambito dello studio di confronto tra metodi e del calcolo della concordanza percentuale negativa e della concordanza percentuale positiva presentati di seguito.

13.2. Confronto tra metodi

Analogamente allo studio del valore di cutoff, per lo studio di confronto tra metodi è stato utilizzato un altro set di campioni costituito da 488 campioni di siero dei pazienti, congelati e deidentificati, con concentrazioni di (1→3)-β-D-glucano distribuite su tutto l'intervallo della curva standard di Fungitell® con valori di 31-500 pg/ml.³⁰ Tra questi campioni, 309 ricadevano della zona negativa dei risultati del saggio Fungitell®, 143 ricadevano nella zona positiva di Fungitell® e 36 ricadevano della zona indeterminata di Fungitell® (**Tabella 2**). Durante lo studio, tutti i campioni sono stati analizzati sia con il saggio Fungitell STAT® sia con il saggio Fungitell®. Una volta esclusi dall'analisi i campioni che ricadevano nella zona indeterminata di Fungitell STAT®, ne sono rimasti 290 per l'analisi della concordanza percentuale negativa e 119 per l'analisi della concordanza percentuale positiva.

Tabella 2. Prestazioni di Fungitell STAT® rispetto a Fungitell®					
		Fungitell®			
		Negativo	Indeterminati	Positivo	Totale
Fungitell STAT®	Negativo	283	17	1	301 (61,7%)
	Indeterminati	19	17	24	60 (12,3%)
	Positivo	7	2	118	127 (26,0%)
	Totale	309 (63,3%)	36 (7,4%)	143 (29,3%)	488 (100%)
		NPA: 97,6%* (283/290) IC al 95%: (95,4; 99,9)		PPA: 99,2%* (118/119) IC al 95%: (95,4; 99,9)	

**Risultati indeterminati (ossia, equivoci) non inclusi nell'analisi; se tutti i risultati indeterminati sono considerati discordanti (ad es., falsi positivi o falsi negativi), le prestazioni sono le seguenti: PPA - 73,8% (118/160), IC al 95%: (66,4%, 80,0%); NPA - 91,0% (283/311), IC al 95%: (87,3%, 93,7%)*

- Concordanza percentuale negativa** Duecentottantatré (283) dei 290 campioni risultati negativi dal test con il dispositivo Fungitell® sono risultati negativi anche con il saggio Fungitell STAT®. La concordanza percentuale negativa (NPA) calcolata con il metodo Fungitell® è risultata del 97,6% (intervallo di confidenza al 95%: 95,4%, 99,9%) (**Tabella 2**).
- Concordanza percentuale positiva** Centodiciotto (118) dei 119 campioni risultati positivi dal test con il dispositivo Fungitell® sono risultati positivi anche con il saggio Fungitell STAT®. La concordanza percentuale positiva (PPA) calcolata con il metodo Fungitell® è risultata del 99,2% (intervallo di confidenza al 95%: 95,4%, 99,9%) (**Tabella 2**).
- Intervallo di misurazione, linearità e accuratezza** I risultati degli indici hanno mostrato variazioni all'incirca tra 0,4 e 3,5 e hanno coperto l'intera curva standard (31-500 pg/ml) di Fungitell®. La correlazione lineare tra la concentrazione di Fungitell® e i risultati degli indici di Fungitell STAT® è stata pari a 0,92 (intervallo di confidenza al 95%: 89,9% e 93,6%).

13.3 Studio analitico tra laboratori

Fungitell STAT® è stato valutato relativamente alla precisione (ossia, la ripetibilità e la riproducibilità), alla sensibilità analitica e alla specificità analitica inoculando siero umano con (1→3)-β-D-glucano di *Saccharomyces cerevisiae* per produrre un pannello di cinque elementi costituito da un campione a bassa negatività, un campione ad alta negatività (appena al di sotto del limite inferiore di cutoff 0,74), un campione indeterminato (equivoco), un campione a bassa positività (appena al di sopra del limite superiore di cutoff 1,2) e un campione ad alta positività (~ 2 volte al di sopra del limite superiore di cutoff 1,2). Il pannello è stato distribuito presso tre laboratori CLIA per effettuare un test con il saggio Fungitell STAT®. Ciascun laboratorio ha fornito 150 punti di dati (ossia, 5 campioni x triplicato per sessione analitica x due operatori che effettuavano una sessione al giorno x 5 giorni) per un totale di 450 punti di dati e includendo 30 sessioni (saggi) e 90 punti di dati per campione (elemento del pannello). I valori medi dell'indice dello studio presentati di seguito nella **Tabella 3** sono stati ricavati dai dati forniti dai tre laboratori. La colonna Percentuale positivi rappresenta la percentuale di campioni per un dato elemento del pannello che ricadeva nella zona positiva. Nell'ambito dei tre laboratori, i risultati ricadenti nella colonna Percentuale positivi sono stati 1,1% per il campione a bassa negatività, 0% per il campione ad alta negatività, 3,3% per il campione indeterminato, 96,7% per il campione a bassa positività e 100% per i campioni ad alta positività.

Tabella 3. Studio analitico tra laboratori					
Elemento del pannello	Media degli indici	Deviazione standard	% CV	Percentuale positivi (Numero pos./ Numero di test)	Specificità analitica (veri negativi) e sensibilità analitica (veri positivi)
Bassa negatività	0,55	0,10	20,4%	1,1% (1/90)	89/90 veri negativi
Alta negatività	0,75	0,08	11,1%	0% (0/90)	90/90 veri negativi
Indeterminati	0,94	0,10	11,1%	3,3% (3/90)	87/90 non positivi
Bassa positività	1,6	0,30	18,7%	96,7% (87/90)	87/90 veri positivi
Alta positività	2,6	0,40	15,4%	100% (90/90)	90/90 veri positivi

Come indicato nella Tabella 3, la variazione tra saggi (ossia, la CV%) era compresa tra l'11% e il 20,4% ed è stata utilizzata per misurare la riproducibilità. La variazione intra-saggio era compresa tra lo 0,4% e il 26,8% ed è stata utilizzata per misurare la ripetibilità. La distribuzione dell'intervallo di CV% intra-saggio è presentata di

seguito nella **Figura 4**. Complessivamente, il 94% dei valori di CV sono risultati pari o inferiori al 10% e il 75% dei valori di CV sono risultati pari o inferiori al 6%.

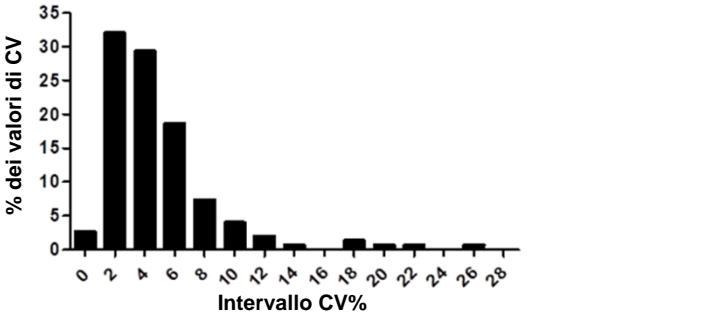


Figura 4. Distribuzione dei valori di CV% intra-saggio

13.4 Veridicità

Per ciascun lotto del prodotto Fungitell STAT®, la concentrazione di (1→3)-β-D-glucano dello standard Fungitell STAT® è calibrata a 80 +/-8 pg/ml utilizzando il metodo di riferimento Fungitell® e rispetto a uno standard di riferimento interno per il (1→3)-β-D-glucano.

13.5 Sostanze interferenti
















Le seguenti condizioni del campione possono interferire con l'accuratezza dei risultati del saggio Fungitell STAT®:

- Campioni scoloriti o torbidi, come quelli macroscopicamente emolizzati, lipemici o contenenti bilirubina in quantità eccessiva, possono causare interferenza ottica nel contesto del saggio. A seguito dell'analisi di campioni di questo tipo, i risultati devono essere esaminati per escludere interferenza ottica e/o andamenti cinetici insoliti.
- Livelli elevati di immunoglobulina G, come quelli riscontrati nel siero in presenza di melanomi multipli, possono provocare la formazione di precipitati nella miscela di reazione dopo l'aggiunta di Fungitell STAT® al siero pre-trattato.³¹
- Ad oggi, non sono stati descritti altri fattori G attivanti (elementi di rilevamento del (1→3)-β-glucano) del reagente Fungitell® oltre al (1→3)-β-glucano. In alcuni studi, in cui sono state fatte asserzioni di reattività crociata, il trattamento del presunto materiale attivante con (1→3)-β-glucanasi purificata ha eliminato il segnale, dimostrando che l'attivazione osservata era dovuta alla contaminazione da (1→3)-β-glucano.¹² In seguito al rilascio di para-nitroanilina nelle miscele di reazione Fungitell® può verificarsi anche una contaminazione da serin proteasi, ma queste vengono inattivate durante la procedura di pre-trattamento.


14. Meta-analisi




Inoltre, sull'utilità del (1→3)-β-D-glucano sierico nella diagnosi delle infezioni fungine invasive sono stati pubblicati numerosi studi "peer-reviewed", incluse meta-analisi delle prestazioni diagnostiche.^{32,33,34,35,36,37,38,39}

15. Legenda dei simboli

	Usare entro il		Consultare le istruzioni per l'uso
	Contenuto sufficiente per “N” test		Mandatario per l'UE
	Codice del lotto		Marchio CE
	Dispositivo medico per uso diagnostico in vitro		Esclusivamente per l'uso su prescrizione
	N. di catalogo		Attenzione
	Limiti di temperatura		Tenere lontano dalla luce solare
	Fabbricante		Importatore
	Mandatario svizzero		

16. Mandatari/importatore

 Emurgo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Paesi Bassi

		Mandatario svizzero MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Svizzera
		Importatore MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Paesi Bassi

Sponsor australiano:
Emurgo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park
201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australia

Nota: qualsiasi incidente grave verificatosi che sia riconducibile al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.

17. Informazioni di contatto

Sede centrale
Associates of Cape Cod, Inc.
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445, Stati Uniti
Tel.: (888) 395-2221 o (508) 540-3444, Fax: 508 540 8680
E-mail: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

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

18. Cronologia delle revisioni

Rev 1-3: Aggiunta del n. di catalogo PKF08-PKG e relative istruzioni; dettagli sullo standard Fungitell STAT® che funge da controllo interno, informazioni di contatto, chiarimenti e formattazione. Chiarimenti sui criteri generali di CQ n. 3. Aggiunta dei dati sulla stabilità dei campioni e determinazione del valore di cutoff, sezioni Intervallo di misurazione, linearità e accuratezza e Esattezza. Rev 4: modifica del rappresentante CE, modifica del valore da 0,03 a 0,00 nella sezione Controllo qualità e piccole modifiche per maggiore chiarezza. Rev 5: Rimozione di EC REP Emurgo Europe. Rev 6: Aggiornamento dei simboli utilizzati. Aggiunta di MedEnvoy come importatore UE e rimozione di ACC Europe GmbH dalla Sezione 17. Aggiornamento dei simboli utilizzati. Aggiunta del nome e dell'indirizzo del mandatario europeo, dell'importatore svizzero e del mandatario svizzero.

19. Bibliografia

- 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) Consensus 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-Flori, 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.
- Litvinsteva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgrulich, 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., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.
- 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-Flori, 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., Furushashi, 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., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakot, 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., 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.
- Posteroar 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.

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 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.