

## Test oceniający stężenie (1→3)-β-D-glukanu w surowicy

<b>FUNGITELL STAT®</b>	<b>RxOnly</b>	<b>Σ</b>
<b>Instrukcja stosowania</b>	<b>10</b>	<b>CE</b>
<b>ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <p>Telefon: (508) 540-3444</p> <p>Telefon bezpłatny: (888) 395-2221</p> <p>Faks: (508) 540-8680</p> <p>Obsługa techniczna: (800) 948-3248</p> <p>Obsługa klienta: (800) 525-8378</p> </div> <div> <p>124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA</p> </div> </div>	<b>IVD</b>
PN002603-pl wer. 6	<b>REF</b> FT007	2024-09-05

Aby pobrać instrukcję stosowania w innej wersji językowej, należy odwiedzić witrynę internetową www.accuisa.com.

*Niniejszy produkt jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro i profesjonalnego użytku.*

#### 1. Przeznaczenie

Test Fungitell STAT® to kolorymetryczny test na bazie zymogenowej proteazy używany do jakościowego wykrywania (1→3)-β-D-glukanu w surowicy pacjentów z objawami lub stanami medycznymi predysponującymi do wystąpienia inwazyjnej grzybicy. Wartości stężenia w surowicy (1→3)-β-D-glukanu, głównego komponentu ściany komórkowej różnych grzybów o istotnym znaczeniu medycznym<sup>1</sup>, można wykorzystywać do pomocy w diagnozowaniu grzybic głębokich i fungemii<sup>2</sup>. Wynik dodatni nie wskazuje rodzaju grzybów, które mogą być przyczyną infekcji.

Wartości stężenia (1→3)-β-D-glukanu należy wykorzystywać w skojarzeniu z innymi procedurami diagnostycznymi, jak na przykład posiew mikrobiologiczny, badanie histologiczne próbek biopsyjnych oraz badanie radiologiczne.

#### 2. Podsumowanie i objaśnienia

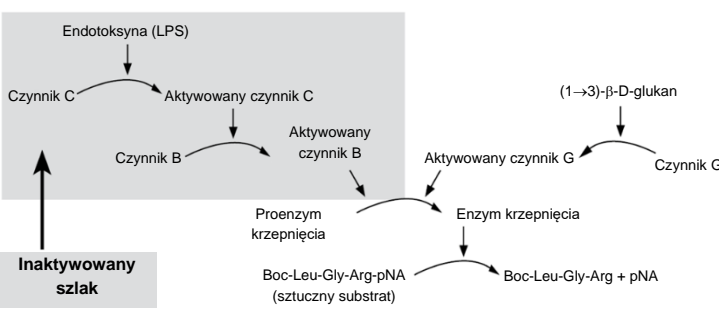
Mamy do czynienia z rosnącą częstością występowania infekcji grzybiczych powodowanych przez patogeny oportunistyczne, zwłaszcza u pacjentów z upośledzoną odpornością<sup>3,4,5</sup>. Inwazyjne grzybice, jako infekcje oportunistyczne, szczególnie często występują u pacjentów z hematologicznymi nowotworami złośliwymi i pacjentów z AIDS oraz stanowią rosnącą liczbę infekcji szpitalnych, zwłaszcza u pacjentów po przeszczepie narządu oraz u pacjentów przyjmujących leczenie immunosupresyjne<sup>6,7</sup>. Wiele chorób grzybiczych nabywa się poprzez wdychanie przetrwalników grzybiczych pochodzących z gleby, detrytus u roślinnego, systemów klimatyzacji i/lub odsłoniętych powierzchni. Niektóre grzyby oportunistyczne występują wewnątrz/na ludzkiej skórze, układzie pokarmowym i błonach śluzowych<sup>8,9</sup>. Rozpoznanie inwazyjnej grzybicy i fungemii na ogół opiera się o nieswoiste techniki diagnostyczne lub radiologiczne. Niedawno do dostępnych metod diagnostycznych dołożono markery biologiczne infekcji grzybiczej<sup>2</sup>.

Oportunistyczne patogeny grzybicze to m.in. *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 wytwarzany przez te i inne mikroorganizmy można wykrywać za pomocą testu Fungitell STAT®<sup>10,13,10,11</sup>.

#### 3. Zasady procedury

Test Fungitell STAT® (nr kat. FT007 Associates of Cape Cod, Inc.) to modyfikacja schematu formatu testu Fungitell® (nr kat. FT001, Associates of Cape Cod, Inc. lub ACC). Test Fungitell STAT® (wyrób oznaczony znakiem CE w 2019 r.) został opracowany w celu odpowiedzi na potrzebę zastosowania pojedynczego formatu testowego i mniejszego rozmiaru zestawu w stosunku do 96-studzienkowego formatu płytki testu Fungitell® (wyrób odniesienia w USA i oznaczony znakiem CE w 2008 r.).

Test Fungitell STAT® umożliwia pomiar jakościowy (1→3)-β-D-glukanu. Działa on na zasadzie modyfikacji szlaku LAL (ang. *Limulus* Amebocyte Lysate (LAL), lizat amebocytów skrzyploczy)<sup>12,13,14,15</sup>.
**Rys. 1.** Odczynnik Fungitell STAT® zmodyfikowano w celu wyeliminowania reaktywności z endotoksynami bakteryjnymi, dzięki czemu wchodzi w reakcję wyłącznie z (1→3)-β-D-glukanem za pośrednictwem strony szlaku mediowanej przez czynnik G. (1→3)-β-D-glukan aktywuje czynnik G, zymogenową proteazę seryny. Aktywowany czynnik G konwertuje nieaktywny proenzym krzepnięcia do aktywnego enzymu krzepnięcia, co z kolei rozszczepia para-nitroanilid (pNA) Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, tworząc chromofor, para-nitroanilinę (pNA), która pochłania fale o długości 405 nm. Opisany poniżej test kinetyczny Fungitell STAT® bazuje na określeniu prędkości wzrostu absorbancji w danej próbce surowicy pacjenta. Prędkość ta jest porównywana ze wzrostem absorbancji we wzorcu Fungitell STAT® w celu uzyskania indeksu. Wzorec Fungitell STAT® jest skalibrowany przy 80 +/- 8 pg/ml, który jest dodatkim punktem granicznym dla testu Fungitell®. Wartość indeksu próbki surowicy pacjenta jest interpretowana jakościowo jako wynik ujemny, nieokreślony lub dodatni zgodnie z zakresami wartości indeksu podanymi w **Tabełi 1** poniżej.



Rys 1. Szlak lizatu amebocytów skrzyploczy

Tabela 1. Zakresy indeksów Fungitell STAT®	
Wynik	Wartość indeksu
Ujemna	≤ 0,74
Nieokreślona	0,75 – 1,1
Dodatnia	≥ 1,2

#### 4. Materiały dostarczane z zestawem Fungitell STAT®

Zestaw Fungitell STAT® jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Następujące materiały dostarczane z każdym produktem są wystarczające do wykonania 10 reakcji (na podstawie 10 próbek z odczynnikiem Fungitell STAT®). Każdy produkt zawiera również 5 próbek wzorca Fungitell STAT®.

- Odczynnik Fungitell STAT®, liofilizowany LAL swoisty dla (1→3)-β-D-glukanu (10 próbek)

*Odczynnik Fungitell STAT® składa się z lizatu amebocytów Limulus (tj. kraba podkowiatego), substratu kolorymetrycznego Boc-Leu-Gly-Arg-pNA i buforu Tris. Test nie zawiera białek ludzkich ani ssaków. Odczynnik Fungitell STAT® nie zawiera zakłócających stężeń (1→3)-β-D-glukanu.*
- Wzorec glukanu Fungitell STAT® (5 próbek) liofilizowany (1→3)-β-D-glukan.

*W skład wzorca glukanu Fungitell STAT® wchodzi D-laktoza i (1→3)-β-D-glukanu pochodzący z ekstraktu drożdży Saccharomyces cerevisiae.*

*Kontrola wewnętrzna: Stężenie (1→3)-β-D-glukanu we wzorcu Fungitell STAT® jest skalibrowane do dodatniej wartości granicznej produktu Fungitell® (wyrób odniesienia w USA i oznaczony znakiem CE w 2008 r.) oraz do wewnętrznego wzorca referencyjnego. Wzorec Fungitell STAT® zawiera znaną ilość glukanu. Uzyskane wartości opisano w punkcie „Kontrola jakości” i służą jako kontrola wewnętrzna dla testu Fungitell STAT®.*
- Instrukcja stosowania
- Skrócona instrukcja

#### 5. Materiały wymagane, lecz nie dostarczane

Wszystkie materiały muszą być wolne od glukanu w stężeniu mogącym powodować interferencję.

- Woda odczynnikowa LAL\* (fiolka 5,5 ml, nr kat. W0051-10)
- Zasadowy roztwór obróbki wstępnej 0,125 M KOH i 0,6 M KCl\* (fiolka 2,5 ml, nr kat. APS51-5)
- Pipety o możliwości dozowania 20-200 µL oraz 100–1000 µL
- Końcówki pipet\* (250 µL — nr kat. PPT25, 1000 µL — nr kat. PPT10)
- Długie końcówki pipet\* (20-200 µL, nr kat. TPT50)
- Próbki\* testowe do przygotowania próbki pacjenta i łączenia roztworu obróbki wstępnej surowicy. (12 x 75 mm, nr kat. TB240-5)
- Czynnik próbek i oprogramowanie do oznaczania kinetycznego
  - PKF08 Inkubujący czynnik 8-studzienkowych próbek (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)\*\* z Beta Glucan Analytics (BG Analytics® lub oprogramowanie BG Analytics™), podręcznik oprogramowania BG Analytics® i protokół weryfikacji systemu BG Analytics®\*\* (BGA007, Associates of Cape Cod, Inc.). Urządzenie PKF08 i oprogramowanie BG Analytics® są dostarczane przez firmę Associates of Cape Cod, Inc. (Nr kat. PKF08-PKG\*\*). Urządzenie PKF08-PKG zostało zwalidowane do użytku z testem Fungitell STAT®. **Lab...**
  - Inkubującym czynnikiem próbek (37 °C) umożliwiającym odczyt przy długości fali 405 nm i 495 nm z zakresem co najmniej 0 – 1,0 jednostek absorpcji, w połączeniu z odpowiednim komputerowym oprogramowaniem do oznaczania kinetycznego, które może analizować kinetykę reakcji, a także obsługuje przegląd kryteriów wymienionych w punkcie kontroli jakości „Instrukcji używania”.
- Sterylnie, niezawierające glukanów, próbki do podzielenia próbek na jednakowe części. Można stosować próbki z atestem RNase, DNase i niezawierające pirogenów.
- Parafilm®

*\* Te produkty, dostarczane przez firmę Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), są certyfikowane na brak obecności glukanów w stężeniu powodującym interferencję.*  
*\*\* Instrukcje obsługi można pobrać ze strony internetowej ACC: www.accuisa.com.*

- Przechowywanie odczynników**
  - Zestaw przechowywać w dostarczonym opakowaniu, w ciemnym miejscu w temp. 2-8 °C.
  - Odczynnik Fungitell STAT® i wzorec Fungitell STAT® są przeznaczone do użytku w ciągu 1 godziny po odtworzeniu.
- ⚠ OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI**
  - Nie pipetować żadnych materiałów ustami. Nie palić, nie jeść i nie pić w obszarach, gdzie wykonywane są czynności na preparatach i odczynnikach zestawu.
  - Przestrzegać operacyjnych i lokalnych przepisów dotyczących bezpieczeństwa.
  - Podczas pracy z próbkami biologicznymi, które mogą być zakaźne lub niebezpieczne, należy nosić rękawice ochronne. Dłonie w rękawicach należy uważać za skażone przez cały czas; nie zbliżać ich do oczu, ust ani nosa. W przypadku wystąpienia ryzyka skażenia aerozolem należy nosić okulary ochronne i maskę chirurgiczną.
  - Nie należy używać produktów o uszkodzonej zawartości.
  - Utylizacja: Pozostałości substancji chemicznych i preparatów są zazwyczaj uważane za odpady niebezpieczne. Utylizacja tego typu odpadów jest regulowana przepisami krajowymi i lokalnymi. Aby uzyskać wskazówki dotyczące usuwania odpadów niebezpiecznych, należy skontaktować się z lokalnymi władzami lub przedsiębiorstwami gospodarki odpadami.
  - Karty Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej** odczynników **testu** Fungitell STAT®, wzorca Fungitell STAT®, wody odczynnikowej LAL i zasadowego roztworu obróbki wstępnej można pobrać ze strony internetowej ACC: www.accuisa.com.

#### 7.1 Środki ostrożności podczas postępowania

Test Fungitell STAT® wymaga przykładania dużej wagi do techniki oraz środowiska testowego. Ogromne znaczenie w skutecznym wykonywaniu testu ma dokładne przeszkolenie technika w zakresie tej metody oznaczania oraz unikania kontaminacji.

- Utworzyć czyste środowisko, gdzie będzie wykonywany test.
- Należy pamiętać, że glukan oraz zanieczyszczenie grzybami pochodzącymi z ludzkiego ciała, odzieży, pojemników, wody oraz pyłów unoszących się w powietrzu może zakłócać działanie testu Fungitell STAT®.
- Możliwe źródła zanieczyszczenia to materiały zawierające celulozę, takie jak gaza, papierowe ściereczki i karton, pipety szklane z bawelnianymi korkami i końcówki pipet z filtrami celulozowymi. Końcówki gazików chirurgicznych i gąbki mogą również wydzielać duże ilości (1→3)-β-D-glukanu<sup>21,22</sup>. Informacje na temat innych źródeł skażenia związanych z pacjentem można znaleźć w punkcie „Ograniczenia”.
- Zużyte otwarte fiołki z zasadowym roztworem do obróbki wstępnej i wodą odczynnikową LAL niezwłocznie po otwarciu, a w razie podejrzewania możliwego zanieczyszczenia, nie używać ponownie tych materiałów.
- Odczynnik Fungitell STAT® i wzorec Fungitell STAT® są dostarczane jako sparowana partia. Z tego powodu nie należy stosować odczynników Fungitell STAT® ani składników wzorca Fungitell STAT® pochodzących z innych partii produktów. Dlatego też zaleca się usuwanie wszelkich pozostałych standardów Fungitell STAT®, gdy tylko zostaną zużyte wszystkie próbki w odczynnikiem Fungitell STAT® znajdujące się w opakowaniu.
- Nie należy używać materiałów po upływieciu ich terminu ważności.

#### 7.2 Postępowanie z próbkami

- Pobieranie krwi i przygotowanie surowicy należy przeprowadzać zgodnie z obowiązującymi lokalnymi przepisami. Pobieranie próbek: Próbki krwi można pobierać do sterylnych próbek do przygotowywania surowicy lub próbek rozdzielania surowicy (SST) używanych do przygotowywania surowicy.
- Przechowywanie próbek: Próbki surowicy mogą być przechowywane w temperaturze 2–8 °C maksymalnie przez 15 dni lub zamrożone w temperaturze -20 °C maksymalnie przez 27 dni lub -80 °C przez okres do 4 lat.
- Oznakowanie próbek: Próbki należy wyraźnie oznakować zgodnie z zatwierdzonymi praktykami placówki opieki zdrowotnej (laboratorium).

#### 7.3 Uwagi dotyczące testu:

- Należy stosować dobre praktyki laboratoryjne zgodnie z lokalnymi przepisami. Ten test jest wrażliwy na zanieczyszczenie i niedokładność pipetowania.
- W celu zapewnienia bezpieczeństwa operatora podczas pracy z próbkami surowicy i zmniejszenia ryzyka skażenia (1→3)-β-D-glukanem ze środowiska podczas procesu zaleca się pracę w komorze zapewniającej bezpieczeństwo mikrobiologiczne.
- Aby ograniczyć niepotrzebne ruchy fiołki szklanej do i z komory zapewniającej bezpieczeństwo mikrobiologiczne, zaleca się umieszczenie urządzenia typu vortex w biologicznej szafce bezpieczeństwa (pod warunkiem zachowania krytycznego przepływu powietrza).
- Zaleca się stosowanie długich końcówek pipet, aby zapobiec zanieczyszczeniu krzyżowemu między fiołkami.
- Wzorec Fungitell STAT® (czerwona nasadka i nalepka z czerwoną linią) powinien być zawsze przetwarzany w tych samych warunkach i w tym samym czasie, co próbka(-i) pacjenta w ramach serii. Ma to krytyczne znaczenie, ponieważ wynik testu jest indeksem (próbka/wzorec) szybkości reakcji kinetycznej (lub nachylenia, Abs/s) z próbki pacjenta i wzorca Fungitell STAT®.

- W trakcie procedury zaleca się stosowanie oddzielnych statywów na próbki, jednego dla próbek do przygotowywania próbek i drugiego dla próbek z odczynnikiem, w celu uniknięcia pomyłek i zanieczyszczenia krzyżowego.
- Zaleca się umieszczenie wzorca Fungitell STAT® w określonej i jednakowej pozycji w statywie na próbki, w inkubatorze i czynniku. W czynniku PKF08 użyj pierwszej studzienki po lewej stronie, która jest oznaczona jako „Wzorec”.
- Na końcu każdego etapu mieszania wzrokowo sprawdź, czy roztwór jest jednorodnie wymieszany.

#### 8. Procedura

Produkt Fungitell STAT® zawiera skróconą instrukcję z rysunkami i podsumowaniem funkcji urządzenia PKF08 i oprogramowania BG Analytics®.

Następujące procedury są już wstępnie ustawione podczas korzystania z urządzenia PKF08 i oprogramowania BG Analytics®: Ustawienia urządzenia, ocena wyników i kontrola jakości. Więcej informacji można znaleźć w instrukcji obsługi oprogramowania BG Analytics® lub skontaktować się z producentem.

#### 8.1 Ustawianie urządzenia i programowanie testu

8.1.1 **W przypadku korzystania z urządzenia PKF08 z oprogramowaniem BG Analytics®:** Włączyc urządzenie i postępuj zgodnie z instrukcjami oprogramowania BG Analytics®. Szczegółowe informacje można znaleźć w podręczniku BG Analytics®.

- 8.1.2 **W przypadku korzystania z innego urządzenia i oprogramowania należy spełnić** następujące warunki:
  - Urządzenie powinno być w stanie osiągnąć i utrzymać temperaturę 37 °C±1 °C.
  - Urządzenie i oprogramowanie muszą być w stanie odczytywać absorbancję w czasie (tryb kinetyczny) przy dwóch długościach fal. W szczególności te długości fal powinny być ustawione na 405 nm i 495 nm.
  - Ustawić tryb kinetyczny na 40 minut odczytu (2400 sekund). Ustawić kinetyczny przedział odczytu na wartość minimalną dozwoloną przez oprogramowanie/urządzenie. Pomiar należy rozpocząć natychmiast po włożeniu próbki.
  - Skorzystać z instrukcji oprogramowania, aby określić sposób obliczania pomiaru prędkości (nachylenia) na podstawie zestawu danych. Dla potrzeb tego badania jest to zwykle osiągane poprzez wykonanie regresji liniowej danych kinetycznych w sugerowanym przedziale czasowym. Ustawić obliczenia regresji liniowej, aby wykonać w zakresie od 1900 do 2400 sekund przy użyciu funkcji „warstwa” oprogramowania.

#### 8.2 Oznaczyć próbki

- a. Oznaczyć jedną pustą próbkówkę dla każdej badanej próbki surowicy pacjenta.
- b. Oznaczyć jedną próbkówkę z odczynnikiem Fungitell STAT® dla każdej badanej próbki surowicy pacjenta.
- c. Oznaczyć jedną próbkówkę z odczynnikiem Fungitell STAT® dla wzorca Fungitell STAT®.

#### 8.3 Przygotować próbkę surowicy pacjenta

- a. Wytрусząc na urządzeniu typu vortex próbki pacjentów przez co najmniej 20 sekund w celu zapewnienia jednorodności.

*Uwaga: Proces zamrażania może powodować niejednorodność próbki ze względu na pobór wody do rosnącego kryształu lodu, wyłączając w ten sposób substancje rozpuszczone.*
- b. Do odpowiednio oznaczonej pustej próbki dodaj próbkę surowicy pacjenta i zasadowy roztwór obróbki wstępnej w stosunku 1:4. Zalecane objętości wynoszą 50 µL próbki pacjenta i 200 µL zasadowego roztworu obróbki wstępnej.

*Uwaga: Zasadowy roztwór obróbki wstępnej konwertuje glukany w formie potrojonej helisy w glukany jednoniciowe<sup>14,15</sup>, które wykazują większą reaktywność w teście. Ponadto zasadowe pH inaktywuje proteazy surowicy oraz inhibitory, które mogą zakłócać działanie testu<sup>24</sup>.*
- c. Wytрусząc na urządzeniu typu vortex przez 15 sekund i zakrój.

#### 8.4 Przygotować wzorec Fungitell STAT®

*Uwaga: Każdy produkt (para wzorca Fungitell STAT® i odczynnika Fungitell STAT®) jest testowany i dostarczany niezależnie. Dlatego ważne jest, aby użyć objętości nr partii rekonstrukcji i zasadowego roztworu obróbki wstępnej. Można je znaleźć na etykiecie opakowania wzorca Fungitell STAT®, na świadectwie analizy produktu Fungitell STAT® i na stronie internetowej ACC. Zalecenia: Przed rozpoczęciem testu należy zapisać te informacje w dostarczonej „Skróconej instrukcji”.*

- a. Przeprowadzić rekonstytucję jednej fiołki wzorca Fungitell STAT® przy pomocy właściwej dla numeru serii objętości wody odczynnikowej LAL i wytрусząc na urządzeniu typu vortex przez 15 sekund.
- b. Dodać właściwą dla numeru serii objętość zasadowego roztworu obróbki wstępnej.
- c. Wytрусząc na urządzeniu typu vortex przez 15 sekund i zakrój.

#### 8.5 Wstępna inkubacja w czynniku próbek

Inkubować próbki z próbkami surowicy pacjentów (z kroku 8.3) i próbkówkę wzorca Fungitell STAT® (z kroku 8.4) przez 10 minut w temperaturze 37 °C.

Uwaga: Podczas korzystania z urządzenia PKF08 po włożeniu próbki do studzienki wskaźnik zmienia kolor z czerwonego na zielony. Wcisnąć próbkówkę do oporu, aż wskaźnik zmieni kolor na zielony.

⚠ Uwaga, próbki są kruche. W przypadku przenikania odłamków szkła i płynów do stacji pomiarowej PKF08, należy skontaktować się z pracownikami obsługi technicznej firmy Associates of Cape Cod, Inc.

#### 8.6 Przygotować próbki z odczynnikiem Fungitell STAT®

- a. Przeprowadzić rekonstytucję każdej z fiołek z odczynnikiem Fungitell STAT® (oznaczonych w kroku 8.2 powyżej) z 300 µL wody odczynnikowej LAL.
- b. Delikatnie wytрусząc na urządzeniu typu vortex **nie dłużej** niż 5 sekund.

*Uwaga: Odczynnik Fungitell STAT® zawiera szereg aktywnych białek wymaganych do przeprowadzenia testu i zaleca się delikatną obsługę roztworu. Dla każdego urządzenia typu vortex zaleca się ustawienie prędkości maksymalnej 2000 obr./min. Nie mieszać nadmiernie.*
- c. Po zakończeniu wstępnej inkubacji:
  - Przenieść 75 µL każdego roztworu próbki surowicy pacjenta do odpowiedniej próbki z odczynnikiem Fungitell STAT®.
  - Przenieść 75 µL wzorca Fungitell STAT® do odpowiedniej próbki z odczynnikiem Fungitell STAT®.
  - Wytрусząc na urządzeniu typu vortex wszystkie próbki **nie dłużej** niż 5 sekund i przykryć je.

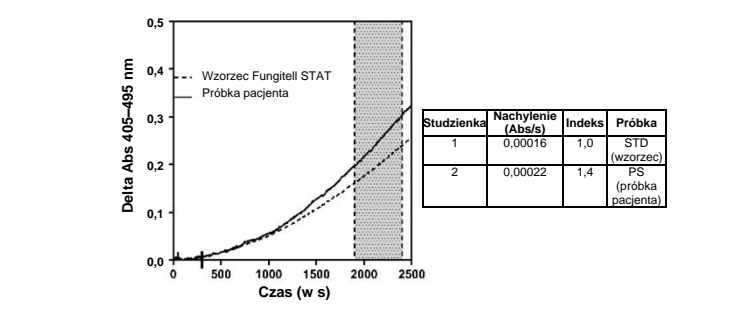
#### 8.7 Rozpocząć test

- a. Włożyć próbki do czytnika, upewniając się, że każda znajduje się one w przewidzianej do tego celu studzience.
- b. Rozpocząć odczyt kinetyczny przez 40 minut, w temperaturze 37 °C.

#### 9 Obliczyć wyniki

##### 9.1 Zasada pomiaru

Wyniki testu Fungitell STAT® należy wykorzystywać jako pomoc w stawianiu rozpoznania inwazyjnej grzybicy. Standardowe prędkości próbki pacjenta i Fungitell STAT® są uzyskiwane z obliczeń nachylenia (prędkoś) pomiędzy 1900 a 2400 na podstawie wyników absorbancji delta od 405 do 495 nm. Wyniki wskaźnika Fungitell STAT® są uzyskiwane z podziału nachylenia próbki pacjenta przez nachylenie wzorca Fungitell STAT® (patrz Rys. 2).



Rys 2. Przykład krzywych kinetycznych Fungitell STAT® i analiza danych
Obszar zaznaczony na szaro to obszar określenia nachylenia (od 1900 do 2400 sekund), linia ciągła stanowi przykładową próbkę pacjenta (PS), a linia przerywana jest wzorcem Fungitell STAT® (STD). Nachylenie próbki (tj. 0,00022 Abs/s) podzielone przez nachylenie wzorca 80 pg/ml Fungitell STAT® (tj. 0,00016 Abs/s) prowadzi do wskaźnika 1,4 dla próbki.

#### 9.2 W przypadku korzystania z urządzenia PKF08 z oprogramowaniem BG Analytics®:

- a. Przegląd kryteriów jakości jest przeprowadzany automatycznie przez oprogramowanie. Wynik wyświetlany jest w końcowym raporcie.
- b. W przypadku ważnych serii testowych oprogramowanie BG Analytics® określa wartość indeksu dla każdej próbki lub przypisze do próbki wyraźny wynik ujemny lub dodatni.
- c. Jeśli w ocenie wyników oprogramowanie pokazuje jakiegokolwiek oznaki nieprawidłowych parametrów, należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w podręczniku oprogramowania BG Analytics®.

#### 9.3 W przypadku korzystania z innego oprogramowania:

Sprawdzić, czy wszystkie kryteria jakości są spełnione.

#### 10. Kontrola jakości

Poniżej wymieniono kryteria kontroli jakości dla wyników krzywek wzorca Fungitell STAT® i surowicy pacjentów, w tym przykłady oczekiwanych kształtów krzywej kinetycznej. Te kryteria kontroli jakości zostały zatwierdzone podczas badań przedstawionych w punkcie „Charakterystyka”.

- W przypadku wszystkich numerów studzienek potwierdź** przypisanie numeru wzorca Fungitell STAT® lub próbki

- W przypadku wyniku wzorca Fungitell STAT®**,
  - współczynnik korelacji (r) musi wynosić ≥ 0,980 i
  - nachylenie musi mieścić się w oczekiwanym zakresie nachylenia od 0,00010 do 0,00024 Abs/s. Jeśli wynik testu wzorca Fungitell STAT® nie spełnia kryteriów nr 1 i nr 2, seria testu jest nieważna i wszystkie próbki muszą zostać ponownie przygotowane i przetestowane.

- W przypadku wszystkich wyników próbki pacjenta wykonaj następujące czynności:**
  - A. Określić, czy wynik może być poza zakresem pomiarowym testu**
    - Wynik jest prawdopodobnie poza zakresem **po stronie dodatniej**, jeśli:
      - Punkt przecięcia osi Y ma wartość dodatnią i
      - krzywa kinetyczna przechodzi przez 0,4 Abs przed upływem 1000 sekund.
    - Wynik jest prawdopodobnie poza zakresem **po stronie ujemnej**, jeśli:
      - Krzywa kinetyczna jest dodatnia po upływie 500 sekundach i ma Abs≥0,00 i <0,07 na koniec testu.

*Jeśli wynik próbki spełnia oba kryteria dla dodatniej lub ujemnej wartości poza zakresem, nie ma potrzeby spełniania poniższych ogólnych kryteriów kontroli jakości i nie należy obliczać wartości wskaźnika. Wszystkie wyniki poza zakresem po stronie dodatniej powinny być zgłaszane jako „dodatnie”, a wszystkie wyniki po stronie ujemnej powinny być zgłaszane jako „ujemne”.*



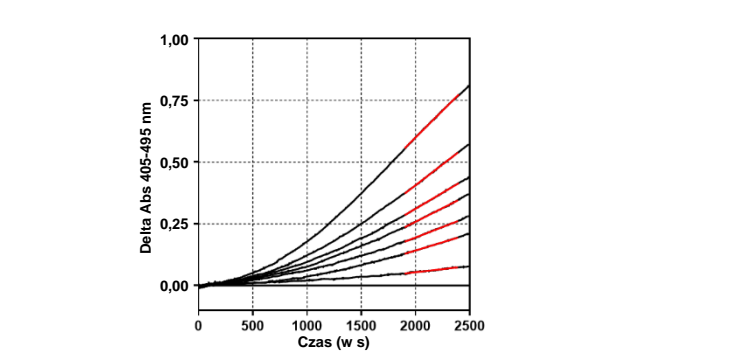
**B. Jeśli powyższe kryteria nie mają zastosowania, sprawdź wymagania ogólnej kontroli jakości:**

- krzywa kinetyczna musi być dodatnia po 500 sekundach,
- na koniec testu krzywa kinetyczna musi mieć Abs ≥ 0,00,
- nachylenie musi być numerycznie dodatnie,
- współczynnik korelacji (r) musi wynosić ≥ 0,980 i
- krzywa kinetyczna musi mieć rosnący w górę kształt krzywej zgodny z przykładami przedstawionymi na **Rys. 3**.

*Jeśli wynik próbki nie spełnia ogólnych kryteriów kontroli jakości nr 1, 3-5, wynik próbki jest nieprawidłowy i próbka musi zostać ponownie przetestowana. Można również zastosować inną metodę.*

*Jeśli wynik próbki nie spełnia kryteriów kontroli jakości nr 2, oznacza to, że sygnał próbki jest niski.*

*W takim przypadku użytkownik powinien dokładnie przeanalizować przedstawioną krzywą w kontekście i określić ważność wyników w oparciu o wewnętrzny laboratoryjny system jakości.*



Rys 3. Przykłady odpowiednich kształtów krzywej kinetycznej

Krzywe kinetyczne powinny mieć kształt z krzywą rosnącą w górę, jak w przykładach powyżej. Przedstawione tutaj przykłady próbek pochodzą z zakresu indeksów testu Fungitell STAT®. Użył tych przykładów, aby przejrzeć kryteria jakości.

**Uwaga:**

- Każdy użytkownik testu powinien wdrożyć program kontroli jakości mający na celu zapewnienie biegłości w wykonywaniu testu zgodnie z przepisami obowiązującymi w danej lokalizacji.
- Zaleca się badanie próbek kontrolnych surowicy (ujemnych, bliskich wartości dopuszczalnej lub silnie dodatnich) w kontekście dalszych kontroli laboratoryjnych i dobrej praktyki laboratoryjnej. Nie są one zawarte w zestawie testu Fungitell STAT®.

**11. Interpretacja wyników**

- Wynik ujemny** Indeks wartość ≤ 0,74 są interpretowane jako wyniki ujemny. Laboratorium wykonujące test powinno poinformować lekarza zlecającego, że nie wszystkie infekcje grzybicze powodują podwyższenie stężenia (1→3)-β-D-glukanu w surowicy. Niektóre grzyby, jak na przykład należące do rodzaju *Cryptococcus*<sup>16,17</sup>, wytwarzają bardzo niskie stężenia (1→3)-β-D-glukanu. Grzyby z rzędu *Mucorales* takie jak *Absidia*, *Mucor* i *Rhizopus*<sup>1,17</sup> zgodnie z bieżącą wiedzą nie wytwarzają (1→3)-β-D-glukanu. Podobnie *Blastomyces dermatitidis* w fazie drożdży wytwarza małe ilości (1→3)-β-D-glukanu, a w przypadku zastosowania testu Fungitell STAT®<sup>18</sup> u pacjentów z blastomykozą na ogół występuje nieoznaczalne stężenie (1→3)-β-D-glukanu.
- Wynik nieokreślony** Wartości indeksu od 0,75 do 1,1 są uważane za niejednoznaczne. Zalecane jest pobranie dodatkowych próbek surowicy i ich przetestowanie. Częste pobieranie i testowanie próbek zwiększają użyteczność testu w procesie stawiania rozpoznania.
- Wynik dodatni** Wartości indeksu ≥ 1,2 są interpretowane jako wynik dodatni. Wynik dodatni oznacza wykrycie (1→3)-β-D-glukanu. Wynik dodatni nie definiuje obecności choroby i należy go używać w skojarzeniu z wynikami innych ocen klinicznych w procesie stawiania rozpoznania.

**12. Ograniczenia testu**

- Lokalizacja tkanek objętych infekcją grzybiczą<sup>7</sup>, otorbienie oraz ilość (1→3)-β-D-glukanu wytwarzanego przez niektóre grzyby może wpływać na stężenie tego analitu w surowicy. Zmniejszona zdolność do przekazywania (1→3)-β-D-glukanu do krwiobiegu może zmniejszać zdolność do wykrywania niektórych infekcji grzybiczych.
- U niektórych osób występują wartości stężenia (1→3)-β-D-glukanu, które zawiera się w strefie wyniku nieokreślonego. W takich przypadkach zaleca się przeprowadzenie dodatkowych testów kontrolnych.
- Częstotliwość wykonywania testów u pacjenta będzie zależeć od względnego ryzyka infekcji grzybiczej. W przypadku pacjentów z grupy wysokiego ryzyka zaleca się pobieranie próbek co najmniej dwa-trzy razy na tydzień.
- Użytkano wyniki dodatnie u pacjentów poddawanych hemodializom<sup>19,20,39</sup>, pacjentów leczonych niektórymi produktami frakcjonowania krwi, jak albuminy surowicy i immunoglobuliny<sup>23,24</sup> oraz w próbkach lub u pacjentów narażonych na kontakt z gazą i gąbkami chirurgicznymi zawierającymi glikan. Po narażeniu pacjentów na kontakt z gąbkami i gazą zawierającą (1→3)-β-D-glukan wymagane są 3–4 dni, aby stężenie (1→3)-β-D-glukanu w surowicy powróciło do wartości wyjściowej<sup>21,22</sup>. W związku z tym należy wziąć pod uwagę moment pobrania próbek od pacjentów po zabiegach chirurgicznych.

- Próbki pozyskane metodą nakłucia palca lub pięty nie są dopuszczalne, gdyż wykazano, że zwiłzony alkoholem gazik używany do przygotowania miejsca pobrania próbki (oraz potencjalnie gromadzenie się krwi na powierzchni skóry) powoduje kontaminację próbek. W przeprowadzonych dotychczas badaniach nie zaobserwowano różnic pomiędzy próbkami uzyskanymi metodą nakłucia naczyńia żyłnego lub pobrania z dojsicia centralnego<sup>25,26</sup>.
- Poziomy testu określono w odniesieniu do dorosłych pacjentów. Poziom prawidłowy i odcięcia dla niemowląt i dzieci jest w dalszym ciągu przedmiotem badań<sup>27,28</sup>.

**13. Charakterystyka**

***13.1 Wartości oczekiwane***

- Czułość diagnostyczna i swoistość diagnostyczna metody referencyjnej, test Fungitell®** Wieloośrodkowe badanie prospektywne przeprowadzone w celu określenia czułości diagnostycznej i swoistości diagnostycznej testu Fungitell® (wyrób odniesienia w USA i oznaczony znakiem CE w 2008 r.) wykazało, że wartości (1→3) β-D-glukanu są zwiększone w różnych zakażeniach grzybiczych. Kiedy przy stężeniu wynoszącym co najmniej 80 pg/ml występują objawy przedmiotowe i podmiotowe, wartość predykcyjna występowania infekcji grzybiczej u pacjenta mieści się w zakresie od 74,4 do 91,7%. W przypadku braku objawów

przedmiotowych i podmiotowych przy stężeniu mniejszym niż 60 pg/ml, wartość predykcyjna ujemna sięgała od 65,1% do 85,1%<sup>29</sup>.

- Określenie wartości granicznych testu Fungitell STAT®** Do celów niniejszego badania wykorzystano pozbawione informacji umożliwiających identyfikację, zamrożone próbki surowicy krwi pacjentów pobrane w celu rutynowych badań klinicznych populacji i otrzymane w laboratorium diagnostycznym Beacon Diagnostics Laboratory, Inc. w celu przeprowadzenia testów Fungitell®. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc jest licencjonowanym laboratorium Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) wchodzącym w skład firmy Associates of Cape Cod (ACC). Do badania włączono 93 pozbawione informacji umożliwiających identyfikację próbki surowicy pacjentów ze stężeniem (1→3)-β-D-glukanu w pełnym zakresie krzywej wzorcowej Fungitell® wynoszącym 31–500 pg/ml. Ocena wartości granicznych testu Fungitell STAT® przeprowadzona po analizie krzywej ROC (ang. Receiver Operating Characteristic Curves, krzywe charakterystyki pracy odbiornika)<sup>30</sup>. Wyniki wskazują, że w wartości indeksu Fungitell STAT β-glukanu ≥ 1,2 należy interpretować jako wynik dodatni w zestawieniu z wartością graniczną 80 pg/ml produktu Fungitell®, podczas gdy wartości indeksu wynoszą ≤ 0,74 należy interpretować jako wynik ujemny w zestawieniu z wartością graniczną 60 pg/ml produktu Fungitell®. Te wartości graniczne zostały zwalidowane w ramach badania porównywania metod i obliczenia odsetka zgodności wyników ujemnych oraz odsetka zgodności wyników dodatnich przedstawionego poniżej.

***13.2. Porównanie metod***

Podobnie jak w przypadku badania wartości granicznych, jednak przy użyciu innego zestawu próbek, do celów badania porównania metod użyto 488 pozbawionych informacji umożliwiających identyfikację, zamrożonych próbek surowicy pacjentów ze stężeniami (1→3)-β-D-glukanu rozłożonymi w pełnym zakresie krzywej wzorcowej testu Fungitell® o stężeniu 31 – 500 pg/ml.<sup>30</sup> Obejmowały one 309 próbek, które mieściły się w strefie ujemnej wyników testu Fungitell®, 143 próbki, które mieściły się w strefie dodatniej Fungitell® i 36 próbek, które mieściły się w strefie nieokreślonej testu Fungitell® (**Tabela 2**). Podczas tego badania wszystkie próbki zostały przetestowane zarówno w testach Fungitell STAT®, jak i Fungitell®. W przypadku wyłączenia z analizy próbek wchodzących w zakres nieokreślonej strefy testu Fungitell STAT® pozostało 290 próbek do analizy odsetka zgodności wyników ujemnych oraz 119 próbek do analizy odsetka zgodności wyników dodatnich.

Tabela 2. Wyniki testu Fungitell STAT® w porównaniu z testem Fungitell®					
		Fungitell®			
		Ujemna	Nieokreślona	Dodatnia	Łącznie
Fungitell STAT®	Ujemna	283	17	1	301 (61,7%)
	Nieokreślona	19	17	24	60 (12,3%)
	Dodatnia	7	2	118	127 (26,0%)
	Łącznie	309 (63,3%)	36 (7,4%)	143 (29,3%)	488 (100%)
		<b>NPA:</b> 97,6%* (283/290) 95% przedział ufności: (95,4, 99,9)		<b>PPA:</b> 99,2%* (118/119) 95% przedział ufności: (95,4, 99,9)	

*\*Wyniki nieokreślone (tj. niejednoznaczne) nie są uwzględnione w analizie; jeśli wszystkie nieokreślone wyniki są uważane za niezgodne z wynikami (np. wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne), wynik jest następujący: PPA - 73,8% (118/160), 95% przedział ufności: (66,4%, 80,0%); NPA - 91,0% (283/311), 95% przedział ufności: (87,3%, 93,7%)*

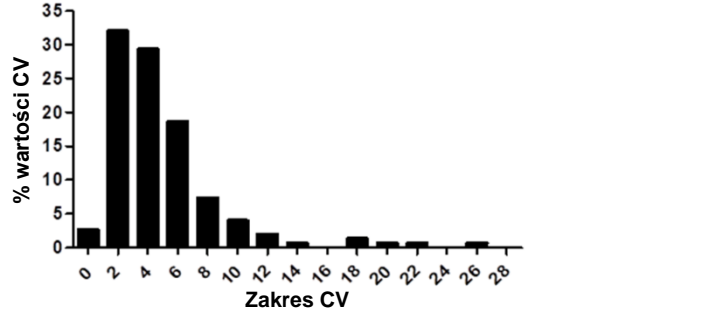
- Odsetek zgodności wyników ujemnych** Dwieście osiemdziesiąt trzy (283) z 290 próbek, które były ujemne podczas badania przy użyciu urządzenia Fungitell®, były również ujemne w teście Fungitell STAT®. Obliczony odsetek zgodności wyników ujemnych (NPA) przy użyciu metody Fungitell® wynosił 97,6% (95% przedział ufności: 95,4%, 99,9%) (**Tabela 2**)
- Odsetek zgodności wyników dodatnich** Sto osiemnaście (118) z 119 próbek, które były dodatnie podczas badania przy użyciu urządzenia Fungitell®, były również dodatnie w teście Fungitell STAT®. Obliczony odsetek zgodności wyników dodatnich (PPA) przy użyciu metody Fungitell® wynosił 99,2% (95% przedział ufności: 95,4%, 99,9%) (**Tabela 2**).
- Zakres pomiarowy, liniowość i dokładność** Wyniki indeksu wahają się od około 0,4 do 3,5, obejmując pełną krzywą wzorcową (31 – 500 pg/ml) testu Fungitell®. Zależność liniowa między stężeniem Fungitell® a indeksem wyników w teście Fungitell STAT® wynosiła 0,92 (95% przedział ufności: 89,9% i 93,6%).

**13.3 Analityczne badanie między-laboratoryjne**

Test Fungitell STAT® został oceniony pod kątem precyzji (tj., powtarzalności i odtwarzalności), czułości analitycznej i swoistości analitycznej poprzez dodanie do ludzkiej surowicy (1→3)-β-D-glukanu *Saccharomyces cerevisiae* w celu uzyskania pięcioelementowego panelu składającego się z próbki słabo ujemnej, próbki silnie ujemnej (tuż poniżej dolnej wartości granicznej 0,74), nieokreślonej (niejednoznacznej) próbki, próbki słabo dodatniej (tuż nad górną wartością graniczną 1,2) i próbki silnie dodatniej (~2x powyżej górnej wartości granicznej 1,2). Panel został przekazany do trzech laboratoriów CLIA w celu przeprowadzenia testów z użyciem testu Fungitell STAT®. Każde laboratorium dostarczyły 150 punktów danych (tj. 5 próbek x trzy powtórzenia w ciągu jednej serii x dwóch operatorów wykonujących serię dziennie x 5 dni) dla łącznie 450 punktów danych i obejmujących 30 serii (tj. testów) i 90 punktów danych na próbkę (tj. element panelu). Średnie wartości indeksu badań przedstawione w **Tabeli 3** poniżej pochodzą z danych dostarczonych przez trzy laboratoria. Kolumna „Odsetek wartości dodatnich” przedstawia odsetek próbek dla danego elementu panelu, który mieści się w strefie „Dodatniej”. Wśród wszystkich trzech laboratoriów odsetek dodatnich wyników wynosił 1,1% dla próbki słabo ujemnej, 0% dla próbki silnie ujemnej, 3,3% dla próbki o nieokreślonej wartości, 96,7% dla próbki słabo dodatniej i 100% dla próbek silnie dodatniej.

Tabela 3. Analityczne badanie między-laboratoryjne					
				<b>Odsetek wyników dodatnich (liczba wyników dodatnich / liczba badanych)</b>	<b>Swoistość analityczna (Rzeczywista próbka ujemna) i czułość analityczna (Rzeczywista próbka dodatnia)</b>
Element panelu	Średni indeks	Odchylenie standardowe	% CV		
Próbka słabo ujemna	0,55	0,10	20,4%	1,1% (1/90)	89/90 rzeczywistych próbek ujemnych
Próbka silnie ujemna	0,75	0,08	11,1%	0% (0/90)	90/90 rzeczywistej wartości ujemnej
Nieokreślona	0,94	0,10	11,1%	3,3% (3/90)	87/90 nie jest wartością dodatnią
Próbka słabo dodatnia	1,6	0,30	18,7%	96,7% (87/90)	87/90 rzeczywistych próbek dodatnich
Próbka silnie dodatnia	2,6	0,40	15,4%	100% (90/90)	90/90 rzeczywistych próbek dodatnich

Jak wskazano w Tabeli 3, zmienność między testami (tj. %CV) wahała się od 11 do 20,4% i służyła jako wskaźnik odtwarzalności. Zmienność w ramach tego samego testu wahała się od 0,4% do 26,8% i służyła jako wskaźnik powtarzalności. Rozkład zakresu CV % podczas tego samego badania przedstawiono poniżej na **Rys. 4**. Ogólnie rzecz biorąc, 94% wartości CV wynosiło 10% lub poniżej, a 75% wartości CV wynosiło 6% lub poniżej.



Rys. 4. Rozkład wartości % CV podczas jednego testu

**13.4 Poprawność**

W przypadku każdej partii produktu Fungitell STAT®, stężenie wzorca Fungitell STAT® (1→3)-β-D-glukanu jest kalibrowane do 80 +/- 8 pg/ml przy użyciu jako metody referencyjnej testu Fungitell® i w stosunku do wewnętrznej wzorca referencyjnego (1→3)-β-D-glukanu.

**13.5 Substancje zakłócające**

Poniższe stany dotyczące próbki mogą zakłócać uzyskiwanie dokładnego wyniku testu Fungitell STAT®:

- Próbki odbarwione lub mętne, co wynika m.in. z nadmiernej hemolizy, lipidem lub zbyt wysokiego stężenia bilirubiny, mogą powodować interferencje optyczną z testem. W razie testowania takich próbek należy sprawdzić wyniki testu pod kątem dowodów na interferencje optyczną i/lub niezwykle schematy kinetyczne.
- Podwyższone stężenie immunoglobuliny G, jakie może przykładowo występować w surowicy w przebiegu szpiczaka mnogiego, może skutkować wytrąceniem się osadu w obrębie mieszaniny reakcyjnej po dodaniu odczynnika Fungitell STAT® do surowicy poddanej wstępnej obróbce<sup>31</sup>.
- Do czasu przygotowania niniejszego dokumentu nie opisano żadnego aktywującego czynnika G (elementu wykrywającego (1→3)-β-glukan) odczynnika Fungitell® poza (1→3)-β-glukanem. W niektórych badaniach, w których stwierdzono reaktywność krzyżową, przygotowanie rzekomego materiału aktywującego za pomocą oczyszczonej (1→3)-β-glukanazy eliminowało sygnał, wykazujące, że obserwowana aktywacja była spowodowana zanieczyszczeniem (1→3)-β-glukanem<sup>12</sup>. Zanieczyszczenie proteazą serynową może również powodować uwalnianie para-nitroaniliny w mieszaninach reakcji testu Fungitell®, jednak jest ona neutralizowana podczas obróbki wstępnej.

**14. Metaanalizy**

Ponadto opublikowano liczne, poddawane przeglądowi branżowemu, badania w temacie wspierającego zastosowania stężenia (1→3)-β-D-glukanu w surowicy przy diagnozowaniu inwazyjnej grzybicy, łącznie z metaanalizą wydajności diagnostycznej<sup>32,33,34,35,36,37,38,39</sup>.

**15. Legenda symboli**

	Termin przydatności do użycia		Zapoznać się z instrukcją stosowania
	Zawiera ilość materiału wystarczającą do „N” badań		Upoważniony przedstawiciel w UE
	Kod partii		Oznaczenie CE
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki in vitro		Produkt dostępny wyłącznie na receptę
	Nr katalogowy		Przeostroga
	Ograniczenia dot. temperatury		Chronić przed światłem słonecznym
	Producent		Importer
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii		

**16. Autoryzowani przedstawiciele/importer**

	Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Holandia
	<b>Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii</b> MedEnvoy Switzerland Gothardstrasse 28, 6302 Zug, Szwajcaria
	<b>Importer</b> <b>MedEnvoy Global B.V.</b> Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Holandia

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

**Uwaga:** Wszelkie poważne zdarzenia związane z wyrobem należy zgłaszać do producenta oraz do właściwych organów na terenie kraju członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę.

**17. Dane kontaktowe**

**Centrala korporacji**  
**Associates of Cape Cod, Inc.**  
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 USA  
Tel.: (888) 395-2221 lub (508) 540-3444, Faks: (508) 540-8680  
E-mail: custservice@accusia.com • www.accusia.com

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

**18. Historia zmian**

Wer. 1-3: Dodano nr katalogowy PKF08-PKG i powiązane instrukcje; szczegóły dotyczące wzorca Fungitell STAT® służącego jako kontrola wewnętrzna, informacje kontaktowe, wyjaśnienia i formatowanie. Sprecyzowano ogólne kryterium kontroli jakości nr 3. Dodano dane dotyczące stabilności próbek oraz określenie wartości granicznej, punkty „Zakres pomiarowy”, „Liniowość”, „Dokładność” i „Poprawność”. Wer. 4: Zmieniono przedstawiciela w WE, zmieniono wartość 0,03 na 0,00 w punkcie dotyczącym Kontroli Jakości oraz wprowadzono drobne zmiany w celu poprawienia czytelności. Wer. 5: Usunęto autoryzowanego przedstawiciela Emergo Europe na obszar WE. Wer. 6: Zaktualizowano symbole. Dodano MedEnvoy jako importera w UE i usunęto ACC Europe GmbH z punktu 17. Zaktualizowano symbole. Dodano nazwę i adres przedstawiciela na terenie Wspólnoty Europejskiej (EC-REP), importera szwajcarskiego oraz przedstawiciela na terenie Szwajcarii (CH-REP).

**19. Piśmiennictwo**

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-galcan 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.
- Litvinitseva, 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., 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 ameocyte 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., Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.

21. Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakat, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauze types. *Tohoku J. Exp. Med.* 217: 117-121.
22. Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cocanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.
23. Held J, Wagner D β-d-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:1118-22.
24. Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-β-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. *Int. J. Hematol.* 80: 97-98.
25. Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, L., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3-(beta)-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59:1016-22.
26. Posteraro B, De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi, M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguinetti, M., and Antonelli, M. 2011 Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1→3)-β-D-glucan assay, Candida score, and colonization index. *Crit Care.* 15: R249.
27. Smith, P.B., Benjamin, D.K., Alexander, B.D., Johnson, M.D., Finkelman, M.A., and Steinbach, W.J. 2007. (1→3)-β-D-Glucan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-glucan test in children. *Clin. Vaccine Immunol.* 14: 924-925.
28. Goudjil, S., Kongolo, G., Dusol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. *J. of Maternal-Fetal and Neonatal Med.* 26: 44-48.
29. Ostrosky-Zeichner, L., Alexander, B.D., Kett, D.H., Vazquez, J., Pappas, P.G., Saeki, F., Ketchum, P.A., Wingard, J., Schiff, R., Tamura, H., Finkelman, M.A., Rex, J.H. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1→3)-β-D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin. Inf. Dis.* 41: 299-305.
30. D'Ordine, R.L., Garcia, K.A., Roy, J., Zhang, Y., Markley, B. and Finkelman, M.A. 2021. Performance characteristics of Fungitell STAT™, a rapid (1→3)-β-D-glucan single patient sample in vitro diagnostic assay. *Med Mycol.* 59(1):41-49.
31. Issa, N.C., Koo, S., Lynch, R.C., Gay, C., Hammond, S.P., Baden, L.R., Ghobrial, I.M., Finkelman, M.A., and Marty, F.M.. 2012 Serum galactomannan and (1→3)-β-D-glucan assays for patients with multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia. *J.Clin. Microbiol.* 50:1054-6.
32. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011; 52:750-70.
33. Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS One.* 2015 Jul 6;10:e0131602.
34. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis.* 2012; 54:633-43.
35. Onishi A1, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for Pneumocystis 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→3)-β-D Glucan. *PLoS One.* 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.