

Ensayo de (1→3)-β-D-glucano en suero

FUNGITELL STAT®

ASSOCIATES OF

CAPE COD

INCORPORATED

128 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA

Teléfono: (508) 540-3444

Línea Gratuita: (888) 395-2221

Fax: (508) 540-8680

Asistencia Técnica: (800) 848-3248

Servicio al Cliente: (800) 525-8378

℞ only

Σ

10

IVD

CE

PN002603-es Rev7

REF FT007

2025-04-11

Instrucciones de uso

Visite www.fungitell.com para obtener las instrucciones de uso en su idioma.

1. Indicaciones
El ensayo Fungitell STAT® es una prueba colorimétrica basada en zimógenos de proteasas para la detección cualitativa de (1→3)-β-D-glucano en el suero de pacientes con síntomas de infección fúngica invasiva o con enfermedades predisponentes a dicha infección. La concentración sérica de (1→3)-β-D-glucano, uno de los principales componentes de la pared celular de varios hongos médicamente relevantes¹, puede emplearse para facilitar el diagnóstico de las micosis profundas y fungemias². Un resultado positivo no indica qué género de hongos puede ser el causante de la infección.

Los valores índice de (1→3)-β-D-glucano deben utilizarse junto con otros procedimientos de diagnósticos, como el cultivo microbiológico, el examen histológico de muestras de biopsia y la exploración radiológica. *Este producto es para uso diagnóstico in vitro y uso profesional solamente.*

2. Resumen y explicación
Existe una creciente incidencia de infecciones fúngicas por patógenos oportunistas, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos^{3,4,5}. Las enfermedades fúngicas invasivas, como infecciones oportunistas, son habituales entre los pacientes de cáncer hematológico y de SIDA, y son responsables de un número cada vez mayor de infecciones nosocomiales sobre todo entre los receptores de trasplantes de órganos y entre otros pacientes que reciben tratamientos inmunosupresores^{6,7}. Muchas infecciones fúngicas se adquieren inhalando esporas fúngicas originadas en la tierra, en detritos de plantas, en sistemas de tratamiento de aire o en superficies al descubierto. Algunos hongos oportunistas están presentes en la piel humana, en el tubo digestivo y en las mucosas^{8,9}. El diagnóstico de las micosis y las fungemias invasivas suele basarse en un diagnóstico no específico o en técnicas radiológicas. Recientemente se han añadido marcadores biológicos de infección fúngica a los métodos diagnósticos disponibles².

Los patógenos fúngicos oportunistas incluyen *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* y *Pneumocystis jirovecii*. El (1→3)-β-D-glucano producido por estos y otros microorganismos puede detectarse mediante el ensayo Fungitell STAT®^{1,5,10,11}.

3. Principio del procedimiento
El ensayo Fungitell STAT® (n.º de cat. FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) es una modificación de diseño del formato del ensayo Fungitell® (n.º de cat. FT001, Associates of Cape Cod, Inc. o ACC). El ensayo Fungitell STAT® (dispositivo con marcado CE 2019) se desarrolló como respuesta a la necesidad de un formato de análisis de un solo uso y un kit de menor tamaño que el formato de placa de 96 pocillos del ensayo Fungitell® (dispositivo homologado por la FDA estadounidense y con marcado CE 2008).

El ensayo Fungitell STAT® proporciona una medida cualitativa del (1→3)-β-D-glucano. El ensayo se basa en una modificación de la ruta del lisado de amebocitos *Limulus* (LAL)^{12,13,14,15}, **figura 1**. El reactivo Fungitell STAT® se modifica para eliminar la reactividad a las endotoxinas bacterianas y, así, para reaccionar únicamente al (1→3)-β-D-glucano, a través del lado de la ruta mediado por el factor G. El (1→3)-β-D-glucano activa el factor G, un zimógeno de serina-proteasa. El factor G activado convierte la enzima procoagulante inactiva en la enzima coagulante activa que, a su vez, divide la para-nitroanilida Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, lo que crea un cromóforo, la para-nitroanilina (pNA), que se absorbe a 405 nm. El ensayo cinético Fungitell STAT®, descrito a continuación, se basa en la determinación de la tasa de aumento de la densidad óptica producida por una muestra de suero del paciente. Dicha tasa se compara con la tasa de aumento de la densidad óptica del patrón Fungitell STAT® para producir un índice. El patrón Fungitell STAT® se calibra a 80 ± 8 pg/ml, que es el umbral positivo del ensayo Fungitell®. Este valor índice de la muestra de suero del paciente se interpreta cualitativamente con un resultado Negativo, Indeterminado, o Positivo según los intervalos de valores índice que se muestran en la **tabla 1**.

El diagrama ilustra la ruta bioquímica del lisado de amebocitos de *Limulus*. En la parte superior izquierda, la Endotoxina (LPS) activa el Factor C, convirtiéndolo en Factor C activado. En la parte superior derecha, el (1→3)-β-D-glucano activa el Factor G, convirtiéndolo en Factor G activado. En el centro, el Factor B activado y el Factor G activado interactúan con la Enzima procoagulante, convirtiéndola en Enzima coagulante. Esta enzima coagulante actúa sobre el sustrato artificial Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, liberando pNA. Una flecha roja indica la 'Ruta inactivada' que involucra al Factor C activado.

Figura 1. Ruta del lisado de amebocitos de *Limulus*

Tabla 1. Intervalos de los índices del Fungitell STAT®	
Resultado	Valor índice
Negativo	≤0,74
Indeterminado	0,75-1,1
Positivo	≥1,2

4. Materiales suministrados con el producto Fungitell STAT®
El producto Fungitell STAT® es para uso diagnóstico *in vitro*.

Los materiales siguientes, que se incluyen con cada producto, son suficientes para un total de 10 reacciones (sobre la base de los 10 tubos de reactivo Fungitell STAT®). Cada producto contiene también 5 tubos de patrón Fungitell STAT®.

- Reactivo Fungitell STAT®, un LAL liofilizado específico de (1→3)-β-D-glucano (10 tubos)
El reactivo Fungitell STAT® se compone de lisado de amebocitos de Limulus (esto es, cangrejo herradura), sustrato colorimétrico Boc-Leu-Gly-Arg-pNA y amortiguador Tris. No contiene proteínas humanas ni de mamífero. El reactivo Fungitell STAT® no contiene niveles interferentes de (1→3)-β-D-glucano.
- El patrón de glucano Fungitell STAT® (5 tubos) liofilizado (1→3)-β-D-glucano.
El patrón de glucano Fungitell STAT® está compuesto de D-lactosa y (1→3)-β-D-glucano derivado de extracto de levadura Saccharomyces cerevisiae. Control interno: La concentración de (1→3) β-D-glucano del patrón Fungitell STAT® está calibrada al valor del límite positivo del producto Fungitell® (dispositivo homologado por la FDA estadounidense y con marcado CE 2008) y respecto a un patrón de referencia interna. El patrón Fungitell STAT® contiene una cantidad conocida de glucano. Los valores resultantes se describen en el apartado «Control de calidad» y sirven de control interno para el ensayo Fungitell STAT®.
- Instrucciones de uso
- Guía visual rápida

5. Materiales necesarios pero no suministrados
Todos los materiales deben estar libres de glucano interferente.

- Agua de calidad analítica para LAL* (frasco de 5,5 mL, n.º de catálogo W0051-10)
- Solución alcalina de pretratamiento KOH 0,125 M y KCl 0,6 M* (frasco de 2,5 mL, n.º de catálogo APS51-5)
- Pipetas capaces de administrar volúmenes de 20-200 µl y 100-1000 µl
- Puntas de pipeta* (de 250 µL, n.º de catálogo PPT25, y de 1000 µL, n.º de catálogo PPT10)
- Puntas de pipeta largas* (de 20-200 µL, n.º de catálogo TPT50)
- Tubos de ensayo* para la preparación de muestras de pacientes y su combinación con solución de pretratamiento del suero (12 x 75 mm, n.º de catálogo TB240-5)
- Lector de tubos y software de ensayo cinético
 - Lector de tubos de 8 pocillos de incubación PKF08 (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)** con Beta Glucan Analytics (BG Analytics® o software BG Analytics®), manual del software BG Analytics® y protocolo de verificación del sistema BG Analytics*** (BGA007, Associates of Cape Cod, Inc.). El dispositivo PKF08 y el software BG Analytics® los suministra Associates of Cape Cod, Inc. (n.º de catálogo PKF08-PKG**). El PKF08-PKG se ha validado para el uso con la prueba Fungitell STAT®. **Q**
 - Lector de tubos de incubación (37 °C) capaz de leer a 405 nm y 495 nm con un intervalo de al menos 0-1,0 unidades de absorbancia, junto con el software adecuado de ensayos cinéticos por ordenador capaz de analizar cinéticas de reacciones y permitir revisar los criterios indicados en el apartado «Control de calidad» de las instrucciones de uso.
- Tubos estériles libres de glucano para hacer alícuotas de las muestras. Pueden utilizarse tubos certificados como libres de ARNasas, ADNasas y pirógenos.
- Parafilm®

** Estos productos, suministrados por Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), están certificados como libres de glucanos interferentes.*

*** Los manuales del usuario pueden descargarse del sitio web de ACC: www.fungitell.com.*

- Conservación de los reactivos**
 - Conservar el kit tal como se suministra en el envase original, a una temperatura de 2-8 °C y alejado de la luz solar.
 - El reactivo Fungitell STAT® y el patrón Fungitell STAT® están diseñados para utilizarse hasta 1 hora después de la reconstitución.
- ⚠ Advertencias y precauciones**
 - No pipetee ningún material con la boca. No fume, coma ni beba en las zonas en las que se manipulen muestras o reactivos del kit.
 - Siga la normativa operativa y de seguridad local.
 - Utilice guantes protectores al manipular muestras biológicas que puedan ser infecciosas o peligrosas. Las manos enguantadas deberán considerarse contaminadas en todo momento; mantenga las manos enguantadas alejadas de los ojos, la boca y la nariz. Utilice protección ocular y una mascarilla quirúrgica si hay posibilidad de contaminación por aerosoles.
 - No deben utilizarse productos con el contenido dañado.
 - Tratamiento de Residuos: los residuos de productos químicos y preparaciones se consideran por lo general desechos peligrosos. La eliminación de este tipo de desechos está regulada por leyes y normativas nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o con empresas de gestión de residuos para obtener asesoramiento sobre la eliminación de desechos peligrosos.
 - Las fichas de datos de seguridad** del reactivo Fungitell STAT®, el patrón Fungitell STAT®, el agua de calidad analítica para LAL y la solución alcalina de pretratamiento pueden descargarse del sitio web de ACC: www.acciusa.com.

7.1 Precauciones procedimentales

El ensayo Fungitell STAT® requiere mucha atención a la técnica y al entorno de los análisis. Una formación técnica adecuada de los técnicos en el método de análisis y la evitación de la contaminación es esencial para la eficacia del ensayo.

- Realice la prueba en un entorno limpio.
- Tenga en cuenta que el glucano, así como la contaminación por partículas fúngicas del cuerpo humano, la ropa, los recipientes, el agua y el polvo en suspensión pueden interferir en la prueba Fungitell STAT®.
- Las posibles fuentes de contaminación incluyen los materiales que contengan celulosa, como gasas, pañuelos de papel, cartones, pipetas de vidrio con tapones de algodón y puntas de pipeta con filtros de celulosa. Las vendas de gasa y las esponjas quirúrgicas también pueden secretar altas cantidades de (1→3)-β-D-glucano^{21,22}. Para obtener información sobre otras fuentes de contaminación relacionadas con el paciente, consulte la sección «Limitaciones de la prueba».
- Use los viales de solución alcalina de pretratamiento y agua de calidad analítica para LAL inmediatamente después de abrirlos y, si tiene dudas sobre una posible contaminación, no reutilice esos materiales.
- El reactivo Fungitell STAT® y el patrón Fungitell STAT® se comercializan como lote emparejado, por lo que no deberán utilizarse componentes de reactivo Fungitell STAT® y patrón Fungitell STAT® de otros lotes de productos. Por lo tanto, se recomienda desechar todos los

- patrones Fungitell STAT® restantes tan pronto como se hayan utilizado todos los tubos de reactivo Fungitell STAT® contenidos en el kit.
- No utilice los materiales después de su fecha de caducidad.

7.2 Manipulación de las muestras

- La recogida de sangre y la preparación de suero deberán realizarse de acuerdo con la normativa local pertinente. Recogida de las muestras: Las muestras de sangre pueden recogerse en tubos estériles para preparación de suero o tubos separadores de suero (serum separator tubes, SST) para la preparación del suero.
- Conservación de las Muestras: Las muestras de suero pueden conservarse a 2-8 °C durante un máximo de 15 días, o congeladas a -20 °C durante un máximo de 27 días o a -80 °C durante un máximo de 4 años.
- Etiquetado de las Muestras: Las muestras deberán etiquetarse claramente según las prácticas aprobadas del centro médico (laboratorio).

7.3 Notas sobre los análisis:

- Utilice las prácticas correctas de laboratorio conforme a la normativa local. Este ensayo es sensible a la contaminación y a las inexactitudes en el pipeteo.
- Para garantizar la seguridad del operador mientras trabaje con muestras de suero y para reducir la posibilidad de contaminación por (1→3)-β-D-glucano ambiental durante el proceso, se recomienda trabajar en una cabina de seguridad biológica.
- Para reducir el número de veces en que se llevan los frascos de vidrio adentro y afuera de la cabina de seguridad biológica, se recomienda llevar el agitador vórtex al interior de la cabina (siempre que se mantenga el flujo de aire crítico).
- Se recomienda utilizar puntas de pipeta largas para ayudar a evitar la contaminación cruzada entre frascos.
- Siempre deberá procesarse un patrón Fungitell STAT® (tapa roja y etiqueta con línea roja) en las mismas condiciones y al mismo tiempo que la muestra o muestras de pacientes de una tanda analítica. Esto es fundamental, ya que el resultado del ensayo es un índice (muestra/patrón) de las tasas de reacción cinética (o pendientes, DO/s) de la muestra del paciente y el patrón Fungitell STAT®.
- Para evitar confusiones y una contaminación cruzada, se recomienda utilizar dos gradillas de tubos durante el procedimiento: una para los tubos de preparación de muestras y una para los tubos de reactivo.
- Se aconseja colocar el patrón Fungitell STAT® en una posición definida e invariable dentro de la gradilla de tubos, de la incubadora y del lector. En el lector PKF08, utilice el primer pocillo de la izquierda, etiquetado «Standard» (Patrón).
- Al final de cada paso de mezcla, confirme visualmente que la solución está mezclada homogéneamente.

8. Procedimiento

El producto Fungitell STAT® contiene una guía visual rápida con ilustraciones y un resumen de las características del instrumento PKF08 y del software BG Analytics®.

Los procedimientos siguientes ya están preestablecidos cuando se utiliza el dispositivo PKF08 y el software BG Analytics®: Ajuste del dispositivo, evaluación de resultados, y control de calidad. Para obtener más información, consulte el manual del usuario del software BG Analytics® o póngase en contacto con el fabricante.

8.1 Ajuste del instrumento y programación de análisis

8.1.1 Cuando utilice el PKF08 con el software BG Analytics®:
Encienda el dispositivo y siga las instrucciones del software BG Analytics®. Para obtener información más detallada, consulte el manual del BG Analytics®.

8.1.2 Cuando utilice otro instrumento y otro software, deberán cumplirse las siguientes condiciones:

- El instrumento deberá poder lograr y mantener una temperatura de 37 °C ± 1 °C.
- El instrumento y el software deben poder leer la densidad óptica a través del tiempo (modo cinético) a dos longitudes de onda. Concretamente, dichas longitudes de onda deberán ajustarse a 405 nm y 495 nm.
- Ajuste el modo cinético a una longitud de lectura de 40 minutos (2400 segundos). Ajuste el intervalo de lectura cinética al mínimo permitido por el software/instrumento.
- La medición se iniciará inmediatamente después de la inserción de la muestra.
- Consulte el manual del software para determinar cómo calcular una medición de tasa (pendiente) a partir del conjunto de datos. Para los propósitos de esta prueba, esto suele lograrse llevando a cabo una regresión lineal con los datos cinéticos durante el periodo de tiempo sugerido. Ajuste el cálculo de la regresión lineal para ejecutarse sobre el intervalo comprendido entre 1900 y 2400 segundos utilizando la función «slice» (corte) del software.

8.2 Etiquete los tubos

- Etiquete un tubo vacío para cada muestra de suero del paciente que se vaya a analizar.
- Etiquete un tubo de reactivo Fungitell STAT® para cada muestra de suero de paciente que se vaya a analizar.
- Etiquete un tubo de reactivo Fungitell STAT® para el patrón Fungitell STAT®.

8.3 Prepare la muestra de suero de paciente

- Mezcle las muestras de suero de pacientes en un agitador vórtex durante al menos 20 segundos para asegurar su homogeneidad.
Nota: El proceso de congelación puede producir heterogeneidad de las muestras debido a la abstracción del agua al cristal de hielo creciente, que provoca exclusión de solutos.
- Añada la muestra de suero de paciente y la solución alcalina de pretratamiento en una proporción de 1:4 al tubo vacío etiquetado correspondiente. Los volúmenes recomendados son 50 µl de muestra de paciente y 200 µl de solución alcalina de pretratamiento.
Nota: La solución alcalina de pretratamiento convierte los glucanos de triple hélice en glucanos monocatenarios^{4,15}, que son más reactivos en el ensayo. Además, el pH alcalino sirve para inactivar los inhibidores y las proteasas séricas que pueden interferir en la prueba²⁴.

Mezcle en un agitador vórtex durante 15 segundos y cubra.

8.4 Prepare patrón Fungitell STAT®

Nota: Cada producto (pareja de patrón Fungitell STAT® y reactivo Fungitell STAT®) se analiza y libera independientemente. Así, es importante utilizar los volúmenes de reconstitución y solución alcalina de pretratamiento del n.º de lote. Estos se encuentran en la etiqueta del envase del patrón Fungitell® STAT y en el certificado de análisis del producto Fungitell STAT®, y están disponibles en la página web de ACC. Recomendación: Antes de iniciar el análisis, anote esta información en la guía visual rápida suministrada.

- Reconstituya un vial del patrón Fungitell STAT® con el volumen de agua de calidad analítica para LAL específico del n.º de lote y mezcle en un agitador vórtex durante 15 segundos.
- Añada el volumen de solución alcalina de pretratamiento específico del n.º de lote.

- Mezcle en un agitador vórtex durante 15 segundos y cubra.

8.5 Incubación pretratamiento en lector de tubos

Incube los tubos de muestras de suero de pacientes (paso 8.3) y el vial de patrón Fungitell STAT® (paso 8.4) durante 10 minutos a 37 °C.

Nota: Cuando se utiliza el instrumento PKF08, al insertar un tubo en un pocillo, un indicador cambia de rojo a verde. Empuje el tubo para introducirlo por completo hasta que el indicador se ponga verde.

Tenga cuidado, los tubos son frágiles. Si entran fragmentos de vidrio y líquidos en una estación de medición del PKF08, póngase en contacto con el servicio técnico de Associates of Cape Cod, Inc.

8.6 Prepare los tubos de reactivo Fungitell STAT®

- Reconstituya cada uno de los frascos de reactivo Fungitell STAT® (etiquetados en el paso 8.2) con 300 µl de agua de calidad analítica para LAL.
- Mezcle suavemente en un agitador vórtex durante no más de 5 segundos.
Nota: El reactivo Fungitell STAT® contiene una serie de proteínas activas necesarias para el ensayo, y se recomienda manipular con cuidado la solución. Se recomienda un ajuste máximo de 2000 r.p.m. para todas los agitadores vórtex. No mezcle en exceso.
- Al final de la pre-incubación:
 - Transfiera 75 µl de cada solución de muestra de suero de paciente a su tubo de reactivo Fungitell STAT® correspondiente.
 - Transfiera 75 µl del patrón Fungitell STAT® a su tubo de reactivo Fungitell STAT® correspondiente.
 - Mezcle todos los tubos en un agitador vórtex durante no más de 5 segundos y cúbralos.

8.7 Iniciar la tanda analítica

- Inserte los tubos en el lector de tubos mientras confirma que cada uno de ellos está en el pocillo deseado.
- Inicie la lectura cinética durante un periodo de 40 minutos a 37 °C.

9 Calcule los resultados

9.1 Principio de medición

Los resultados de la prueba Fungitell STAT® deberán utilizarse para facilitar el diagnóstico de infección fúngica invasiva. Las tasas patrón de la muestra del paciente y Fungitell STAT® se derivan del cálculo de la pendiente (tasa) entre 1900 y 2400 de los resultados del incremento (delta) de la DO a 405-495 nm. Los resultados del índice Fungitell STAT® se obtienen dividiendo la pendiente de la muestra de paciente entre la pendiente del patrón Fungitell STAT® (vea la figura 2).

El gráfico muestra el incremento (delta) de la DO a 405-495 nm en el eje Y (rango 0,0 a 0,5) frente al tiempo en segundos en el eje X (rango 0 a 2500). Se trazan dos curvas: una para el Patrón Fungitell STAT (línea punteada) y otra para la Muestra de paciente (línea sólida). Ambas curvas muestran un aumento exponencial. Una región sombreada vertical indica el intervalo de tiempo de análisis entre 1900 y 2400 segundos. A la derecha del gráfico se incluye una tabla:

Pocillo	Pendiente (DO/s)	Índice	Muestra
1	0,00016	1,0	PAT
2	0,00022	1,4	MP

Figura 2. Ejemplo de curvas cinéticas y análisis de datos del Fungitell STAT®
La región resaltada en gris es el área de la determinación de la pendiente (de 1900 a 2400 segundos), la línea continua es una muestra de paciente (MP) de ejemplo y la línea discontinua es el patrón (PAT) Fungitell STAT®. La pendiente de la muestra (esto es, 0,00022 DO/s) dividida entre la pendiente del patrón Fungitell STAT® de 80 pg/ml (esto es, 0,00016 DO/s) arroja un índice de 1,4 para la muestra.

9.2 Cuando utilice el PKF08 con el software BG Analytics®:

- La revisión de los criterios de control de calidad la lleva a cabo automáticamente el software. El resultado se muestra en el informe final.
- Para obtener tandas analíticas válidas, el software BG Analytics® determina un valor índice para cada muestra, o asigna un resultado negativo o positivo claro a la muestra.
- Si el software muestra alguna indicación de parámetros no válidos en la evaluación de los resultados, siga las instrucciones del manual del software BG Analytics®.

9.3 Cuando se utilice otro software:

Asegúrese de que se cumplan todos los criterios de control calidad.

10. Control de calidad

A continuación se indican los criterios de control de calidad para los resultados del patrón Fungitell STAT® y de las muestras de suero de pacientes, y se incluyen también ejemplos de formas de curvas cinéticas esperadas. Estos criterios de control de calidad se validaron durante los estudios presentados en el apartado «Eficacia analítica».

- Para todos los números de pocillo,** confirme la asignación de patrón Fungitell STAT® o n.º de muestra.

- Para el resultado del patrón Fungitell STAT®,**
 - el coeficiente de correlación (r) debe ser ≥0,980 y
 - la pendiente debe estar dentro del intervalo de pendiente esperado de 0,00010-0,00024 DO/segundo.

Si el resultado del patrón Fungitell STAT® no cumple los criterios n.º 1 y n.º 2, la tanda analítica no es válida y todas las muestras deberán volverse a preparar y a analizar.

- Haga lo siguiente para todos los resultados de muestras de pacientes:**
 - Determine si el resultado puede estar fuera del intervalo de medición de la prueba**
 - Es probable que el resultado esté fuera de intervalo en el lado positivo si:
 - La intersección de Y es positiva y
 - La curva cinética pasa 0,4 DO antes de 1000 segundos.
 - Es probable que el resultado esté fuera de intervalo en el lado negativo si:
 - La curva cinética es positiva después de 500 segundos y
 - Tiene una DO ≥0,00 y <0,07 al final del análisis.

*Si el resultado de la muestra cumple los dos criterios de fuera de intervalo positivo y negativo, los criterios generales de CC indicados más abajo no tienen que revisarse, y el valor índice **no** deberá*

calcularse. Todos los resultados fuera de intervalo del lado positivo deberán notificarse como «Positivos», y todos los resultados fuera de intervalo del lado negativo deberán notificarse como «Negativos».

B. Si los criterios anteriores no son aplicables, verifique el control de calidad general:

- la curva cinética debe ser positiva después de 500 segundos,
- la curva cinética debe tener una DO ≥0,00 al final de la prueba,
- la pendiente debe ser numéricamente positiva,
- el coeficiente de correlación (r) debe ser ≥0,980 y
- la curva cinética debe tener una forma de curva creciente hacia arriba similar a los ejemplos presentados en la **figura 3**.

Si el resultado de la muestra no cumple los criterios generales de CC números 1, 3, 4 y 5, el resultado de la muestra no es válido y la muestra tendrá que volver a analizarse. Otra opción consiste en utilizar un método diferente.

Si el resultado de la muestra no cumple los criterios de Control de Calidad n.º 2, esto indica que la señal de la muestra es baja. En ese caso, el usuario deberá revisar atentamente la curva suministrada en contexto y determinar la validez de los resultados sobre la base del sistema de calidad interno del laboratorio.

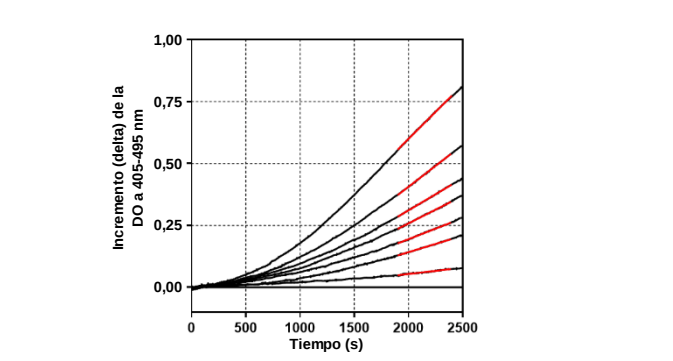


Figura 3. Ejemplos de formas de curva cinética adecuadas

Las curvas cinéticas deberán tener una forma de curva creciente hacia arriba como en los ejemplos anteriores. Los ejemplos de muestras indicados aquí son de todo el intervalo de índices del ensayo Fungitell STAT®. Utilice estos ejemplos para revisar los criterios de control calidad.

Nota:

- Cada usuario de la prueba deberá establecer un programa de control de calidad para garantizar la capacidad en la realización de la prueba conforme a la normativa vigente en su zona.
- Se recomienda analizar muestras de control de suero (negativas, cercanas al valor límite o muy positivas) en el contexto de comprobaciones adicionales en el laboratorio y de las prácticas correctas de laboratorio. Estas no se incluyen en el kit Fungitell STAT®.

11. Interpretación de los resultados

- Resultado negativo**

Los valores índice ≤0,74 se interpretan como resultados negativos. El laboratorio que realice la prueba, deberá informar al médico que ordenó la prueba que no todas las infecciones fúngicas dan lugar a altas concentraciones de (1→3)-β-D-glucano en suero. Algunos hongos, como el género *Cryptococcus*^{16,17} producen concentraciones muy bajas de (1→3)-β-D-glucano. No se tiene constancia de que los hongos del orden *Mucorales*, como *Absidia*, *Mucor* y *Rhizopus*^{1,17} produzcan (1→3)-β-D-glucano. De manera similar, *Blastomyces dermatitidis*, en su fase levaduriforme, produce poco (1→3)-β-D-glucano, y los pacientes de blastomycosis suelen tener concentraciones no detectables de (1→3)-β-D-glucano en el ensayo Fungitell STAT®¹⁸.

- Resultado indeterminado**

Los valores índice de 0,75 a 1,1 se consideran inconcluyentes (dudosos). Se recomienda realizar muestreos y análisis adicionales de los sueros. Los muestreos y los análisis frecuentes mejoran la utilidad para el diagnóstico.

- Resultado positivo**

Los valores índice ≥1,2 se interpretan como resultados positivos. Un resultado positivo indica que se detectó (1→3)-β-D-glucano. Un resultado positivo no indica la presencia de enfermedad y deberá usarse junto a otros indicios clínicos para establecer un diagnóstico.

12. Limitaciones de la prueba

- Las localizaciones tisulares de la infección fúngica⁷, la encapsulación y la cantidad de (1→3)-β-D-glucano producida por ciertos hongos pueden afectar a la concentración sérica de este analito. La disminución de la capacidad para transmitir (1→3)-β-D-glucano al torrente sanguíneo puede reducir la capacidad para detectar ciertas infecciones fúngicas.
- Algunos individuos tienen valores índice de (1→3)-β-D-glucano que caen dentro de la zona indeterminada. En esos casos, se recomienda realizar pruebas de vigilancia adicionales.
- La frecuencia de las pruebas de los pacientes dependerá del riesgo relativo de infección fúngica. En los pacientes de riesgo se recomienda obtener muestras al menos dos o tres veces por semana.
- Se han obtenido resultados positivos en pacientes de hemodiálisis^{19,20,39}, en personas tratadas con ciertos hemoderivados fraccionados, como la albúmina sérica y las inmunoglobulinas^{23,24} y en muestras o personas expuestas a gases y esponjas quirúrgicas que contenían glucanos. Tras la exposición quirúrgica a esponjas y gases con contenido de (1→3)-β-D-glucano, los pacientes necesitan 3–4 días para que se restablezcan las concentraciones iniciales de (1→3)-β-D-glucano en suero^{11,22}, por lo que esto debe tomarse en cuenta en la distribución temporal de la obtención de muestras en pacientes quirúrgicos. Para ver una revisión exhaustiva de los factores que contribuyen a los falsos positivos de (1→3)-β-D-glucano, consulte Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)⁴⁰.
- Las muestras obtenidas por métodos de punción en los talones o en los dedos no son aceptables, ya que se ha demostrado que la gasa empapada en alcohol usada para preparar la zona (y, potencialmente, la acumulación de sangre en la superficie de la piel) contaminan las muestras. En los estudios realizados hasta ahora no se han observado diferencias entre las muestras obtenidas mediante extracciones en vías y las obtenidas mediante venopunción^{5,20}.
- Las concentraciones de las pruebas se determinaron en adultos. Las concentraciones normales y umbral en poblaciones de lactantes y pediátricas se están investigando^{27,28}.

13. Eficacia analítica

13.1 Valores esperados

- Sensibilidad y especificidad diagnóstica del método de referencia, ensayo Fungitell®** Un estudio prospectivo multicéntrico realizado para determinar la sensibilidad y la especificidad diagnóstica del ensayo Fungitell® (dispositivo homologado por la FDA

estadounidense y con marcado CE 2008) ha mostrado que los valores de (1→3) β-D-glucano son elevados en varias infecciones fúngicas. Cuando hay signos y síntomas y el valor de la concentración es de 80 pg/ml o superior, el valor predictivo de que la persona es positiva en infección fúngica va del 74,4 al 91,7 %. En ausencia de signos y síntomas a menos de 60 pg/ml, los valores predictivos en negativos fueron del 65,1 al 85,1 %²⁹.

- Determinación de los valores umbral del Fungitell STAT®** Para el propósito de este estudio se utilizaron muestras de suero de pacientes congeladas anonimizadas recogidas para la atención clínica rutinaria de la población diana y recibidas en Beacon Diagnostics Laboratory, Inc., para el análisis con el ensayo Fungitell®. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc., es un laboratorio con licencia de las Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA), y es parte de Associates of Cape Cod (ACC). El estudio incluyó una población de 93 muestras anonimizadas de suero de pacientes con concentraciones de (1→3)-β-D-glucano distribuidas por todo el intervalo de la curva del patrón Fungitell® de 31-500 pg/ml. La evaluación del umbral del Fungitell STAT™ siguió el análisis de la curva de eficacia diagnóstica³⁰. Los resultados indicaron que los valores índices de β-glucano de Fungitell STAT ≥1,2 han de interpretarse como un resultado positivo de acuerdo con el umbral de 80 pg/ml del producto Fungitell®, mientras que los valores índices ≤0,74 han de interpretarse como resultados negativos de acuerdo con el umbral de 60 pg/ml del producto Fungitell®. Estos valores umbral se validaron como parte del estudio de comparación de métodos y cálculo del porcentaje de concordancia de negativos y el porcentaje de concordancia de positivos presentado más abajo.

13.2. Comparación de métodos

De manera similar al estudio del valor umbral, pero utilizando un conjunto de muestras diferentes, se utilizaron 488 muestras de suero de pacientes congeladas anonimizadas, también con concentraciones de (1→3)-β-D-glucano distribuidas por todo el intervalo de la curva patrón de Fungitell® de 31-500 pg/ml para el propósito del estudio de comparación de métodos³⁰. Dichas muestras incluyeron 309 que cayeron dentro de la zona negativa de los resultados de la prueba Fungitell®, 143 que cayeron dentro de la zona positiva de la prueba Fungitell® y 36 que cayeron dentro de la zona indeterminada de la prueba Fungitell® (**tabla 2**). Durante este estudio, todas las muestras se analizaron tanto con el ensayo Fungitell STAT™ como con el Fungitell®. Cuando las muestras que cayeron en la zona indeterminada de la prueba Fungitell STAT™ se excluyeron del análisis, hubo 290 muestras que permanecieron para el análisis del porcentaje de concordancia de negativos y 119 que permanecieron para el análisis del porcentaje de concordancia de positivos.

Tabla 2. Eficacia de la prueba Fungitell STAT® comparada con la prueba Fungitell®				
		Fungitell®		
		Negativo	Indeterminado	Positivo
		Total		
Fungitell STAT®	Negativo	283	17	1
	Indeterminado	19	17	24
	Positivo	7	2	118
		309 (63,3 %)	36 (7,4 %)	143 (29,3 %)
		PCN: 97,6 %* (283/290) IC del 95 %: (95,4, 99,9)		PCP: 99,2 %* (118/119) IC del 95 %: (95,4, 99,9)

**Los resultados indeterminados (esto es, dudosos) no se incluyeron en el análisis; si todos los resultados indeterminados se consideran resultados discordantes (p. ej., falsos positivos o falsos negativos), la eficacia es la siguiente: PCP: 73,8 % (118/160), IC del 95 %: (66,4 %, 80,0 %) ; PCN: 91,0 % (283/311), IC del 95 %: (87,3 %, 93,7 %)*

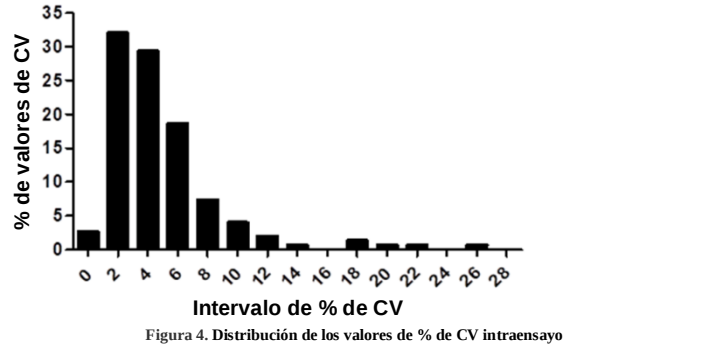
- Porcentaje de concordancia de negativos** Doscientas ochenta y tres (283) de las 290 muestras que fueron negativas cuando se analizaron con el dispositivo Fungitell® también fueron negativas cuando se analizaron con el ensayo Fungitell STAT®. El porcentaje de concordancia de negativos (PCN) calculado con el método Fungitell® fue del 97,6 % (intervalo de confianza del 95 %: 95,4 %, 99,9 %) (**tabla 2**)
- Porcentaje de concordancia de positivos** Ciento dieciocho (118) de las 119 muestras que fueron positivas cuando se analizaron con el dispositivo Fungitell® también fueron positivas cuando se analizaron con el ensayo Fungitell STAT®. El porcentaje de concordancia de positivos (PCP) calculado con el método Fungitell® fue del 99,2 % (intervalo de confianza del 95 %: 95,4 %, 99,9 %) (**tabla 2**).
- Intervalo de medición, linealidad y exactitud** Los resultados de índice fueron de aproximadamente 0,4 a 3,5, abarcando la curva patrón (31-500 pg/ml) del Fungitell®. La correlación lineal entre los resultados de concentración de Fungitell® y los de índice de Fungitell STAT® fue 0,92 (intervalo de confianza del 95 %: 89,9 % y 93,6 %). Nota: Cuando se utiliza PKF08 con el software BG Analytics®, el resultado del índice Fungitell STAT® se utiliza para determinar la categorización. Se proporciona un valor estimado de pg/ml solo como referencia.

13.3 Estudio analítico interlaboratorio

Se evaluó la precisión (esto es, la repetibilidad y la reproducibilidad), la sensibilidad analítica y la especificidad analítica del ensayo Fungitell STAT® anadiendo (1→3)-β-D-glucano de *Saccharomyces cerevisiae* a suero humano para producir un grupo de cinco miembros que consistía en una muestra negativa baja, una muestra negativa alta (justo por debajo del umbral inferior de 0,74), una muestra indeterminada (dudosa), una muestra positiva baja (justo por encima del umbral superior de 1,2) y una muestra positiva alta (~2x por encima del umbral superior de 1,2). El grupo se distribuyó a tres laboratorios CLIA para su análisis con el ensayo Fungitell STAT®. Cada laboratorio suministró 150 puntos de datos (esto es, 5 muestras x triplicado por tanda analítica x dos operadores que realizaron una tanda por día x 5 días), lo que arrojó un total de 450 puntos de datos e incluyó 30 tandas analíticas (eso es, ensayos) y 90 puntos de datos por muestra (esto es, por cada miembro del grupo). Los valores medios de índice del estudio que se presentan en la **tabla 3** siguiente se derivaron de los datos suministrados por los tres laboratorios. La columna de porcentaje de positivos representa el porcentaje de muestras de cada miembro del grupo que cayó dentro de la zona positiva. Entre los tres laboratorios, los resultados de porcentaje positivos fueron del 1,1 % para la muestra negativa baja, 0% para la muestra negativa alta, 3,3 % para la muestra indeterminada, 96,7 % para la muestra positiva baja y 100 % para la muestra positiva alta.

Tabla 3. Estudio analítico interlaboratorio					Especificidad analítica (verdaderos negativos) y sensibilidad analítica (verdaderos positivos)
Miembro del grupo	Media de índice	Desviación estándar	% de CV	Porcentaje de positivos (Número pos./número analizado)	
Negativo bajo	0,55	0,10	20,4 %	1,1 % (1/90)	89/90 verdaderos negativos
Negativo alto	0,75	0,08	11,1 %	0 % (0/90)	90/90 verdaderos negativos
Indeterminado	0,94	0,10	11,1 %	3,3 % (3/90)	87/90 no positivos
Positivo bajo	1,6	0,30	18,7 %	96,7 % (87/90)	87/90 verdaderos positivos
Positivo alto	2,6	0,40	15,4 %	100 % (90/90)	90/90 verdaderos positivos

Como se indica en la tabla 3, la variación interensayo (esto es, el % de CV) fue del 11 al 20,4 % y sirvió como medida de reproducibilidad. La variación intraensayo fue del 0,4 al 26,8 % y sirvió como medida de repetibilidad. La distribución del intervalo de % de CV intraensayo se presenta a continuación en la **figura 4**. En total, el 94 % de los valores de CV fueron del 10 % o menos y el 75 % de los valores de CV fueron del 6 % o menos.



13.4 Veracidad

Para cada lote del producto Fungitell STAT®, la concentración de (1→3)-β-D-glucano del patrón Fungitell STAT® está calibrada a 80 ± 8 pg/ml utilizando el método de referencia Fungitell® y respecto a un patrón de referencia interna de (1→3)-β-D-glucano.

13.5 Sustancias interferentes

Las siguientes condiciones de las muestras pueden interferir en la obtención de resultados fidedignos con el ensayo Fungitell STAT®:

- Las muestras turbias o de color anómalo, como las muy hemolizadas, las muy lipémicas o las que contengan un exceso de bilirrubina, pueden producir interferencias ópticas en el ensayo. Si se analizan dichas muestras, los resultados obtenidos deberán examinarse para comprobar si presentan indicios de interferencia óptica o patrones cinéticos inhabituales.
- Las alias concentraciones de inmunoglobulina G, como las que pueden haber en el suero debido a los mielomas múltiples, pueden producir precipitación en la mezcla de reacción tras la adición de Fungitell STAT® al suero pretratado³¹.
- En el momento de la escritura de este documento, no se ha descrito ningún factor G activador (elemento de detección de (1→3)-β-glucano) de reactivo Fungitell® aparte del (1→3)-β-glucano. En algunos estudios, donde se ha informado de reactividad cruzada, el tratamiento del material activador supuesto con (1→3)-β-glucanasa purificada ha eliminado la señal, lo que demuestra que la activación observada se había debido a (1→3)-β-glucano contaminante¹². La contaminación por serina proteasa también puede provocar la liberación de para-nitroanilina en las mezclas de reacción de Fungitell®, pero estas son inactivadas como parte del proceso de pretratamiento.

14. Metaanálisis

También se han publicado numerosos estudios revisados por expertos sobre el tema del uso de suero a base de (1→3)-β-D-glucano en el diagnóstico de enfermedades fúngicas invasivas; dichos estudios incluyen metaanálisis de la eficacia diagnóstica^{32,33,34,35,36,37,38,39}.

15. Leyenda de símbolos

	Fecha de Caducidad		Consulte las Instrucciones de Uso
	Contiene material suficiente para «N» pruebas		Representante autorizado de la UE
	Código de Lote		Marcado CE
	Producto Sanitario para Diagnóstico In Vitro		Solamente para uso por prescripción
	Número de Catálogo		Precaución
	Límites de Temperatura		Mantener alejado de la luz solar
	Fabricante		Importador
	Representante autorizado suizo		

16. Representantes autorizados/Importador

Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Países Bajos

	Representante autorizado suizo MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Suiza
	Importador MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Países Bajos

Patrocinador australiano:
Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park

201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australia

Nota: Los incidentes graves relacionados con el dispositivo deberán notificarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o el paciente.

17. Información de contacto

Oficinas Centrales
Associates of Cape Cod, Inc.
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 EE. UU.
Tel: (888) 395-2221 o (508) 540-3444, Fax: (508) 540-8680
Correo electrónico: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

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

18. Historial de revisiones

Rev 1-3: Se ha añadido el n.º de catálogo PKF08-PKG y sus instrucciones relacionadas; detalles sobre el patrón Fungitell STAT® que sirve de control interno, información de contacto, aclaraciones y formateo. Criterios generales de Control de Calidad aclarados n.º 3. Se han añadido apartados de datos de estabilidad de las muestras y de determinación del valor umbral, rango de medición-linealidad-exactitud y veracidad. Rev 4: Se ha cambiado el representante para la CE, se ha cambiado de 0,03 a 0,00 el valor en el apartado «Control de calidad» y pequeños cambios aclaratorios. Rev. 5: Se eliminó el representante para la CE de Emergo Europe. Rev. 6: Se han actualizado los símbolos utilizados. Se ha añadido MedEnvoy como importador de la UE y se ha eliminado ACC Europe GmbH del apartado 17. Se han actualizado los símbolos utilizados. Se ha añadido el nombre y la dirección del CE-REP, importador suizo y CH-REP. Rev. 7: Aclaración sobre el almacenamiento de reactivos. Se ha añadido que se proporciona un valor estimado de pg/ml de Fungitell con el informe PKF08-BGA; se ha actualizado el logotipo y la referencia al sitio web de ACC a www.fungitell.com para el acceso a la documentación.

19. Referencias

- 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-Flörl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M. and Anaisie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
- Ljivintseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgurich, D.E., Kerkerich, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.
- Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarijan, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.
- Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in Limulus. Thrombosis Res. 68: 1-32.
- Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1→3)-β-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.
- Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-β-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus amoebocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
- Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
- Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K-I, Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.
- Binder, U., Maurer, E., and Lass-Flörl, 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.
- Kanomori, 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.
- 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;71:118-22.
- 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., Weinbergrova, B., Buresova, L., Toskova, M., WINTEROVA, J., Timilsina, S., Rodríguez, I., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3-(beta)-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. J. Med. Microbiol. 2010; 59:1016-22.

26. Posteraro B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi, M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., 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.
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.
40. Finkelman M. Specificity Influences in (1→3)-β-d-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. *J. Fungi (Basel)* 2020 Dec 29;7(1):14