Seerumi (1→3)-β-D-glükaani sisalduse analüüs

FUNGITELL STAT®

Kasutusjuhend

℞only

Σ 10

IVD CE

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

Telefon: (508) 540-3444
Tasuta tel.: (888) 395-2221
Faks: (508) 540-8680
Tehniline tugi: (800) 848-3248
Klienditeenindus: (800) 525-8378

PN002603-et Rev7 REF FT007 2025-04-11

Kasutusjuhendi soovitud keeles leiate aadressilt www.fungitell.com.

1. Kasutusotstarve

Analüüs Fungitell STAT® on proteaasi sümogeenil põhinev kolorimeetriline analüüs (1→3)-β-D-glükaani kvalitatiivseks määramiseks seerumis patsientidel, kellel on invasiivse seeninfektsiooni sümptomid või selle eelsoodumust põhjustav tervislik seisund. Mitmesuguste meditsiiniliselt oluliste seente rakuseina tähtsa komponendi (1→3)-β-D-glükaani seerumikontsentratsiooni[1] saab kasutada abivahendina süvamükooside ja fungeemiate diagnoosimisel[2]. Selle positiivne tulemus ei näita, milline seente perekond võib infektsiooni põhjustada.

(1→3)-β-D-glükaani indeksi väärtusi peab kasutama koos teiste diagnostiliste meetodite, näiteks mikrobioloogilise külvi, biopsiaproovi histoloogilise uuringu ja radioloogilise uuringuga.
See toode on ette nähtud ainult in vitro diagnostiliseks kasutamiseks ja professionaalseks kasutamiseks.

2. Kokkuvõte ja selgitus

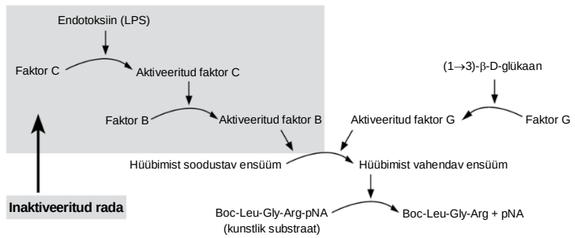
Oportunistlike patogeenide põhjustatud seeninfektsioonide esinemissagedus suureneb, eriti immuunpuudulikkusega patsientidel[3,4,5]. Invasiivseid seeninfektsioone kui oportunistlikke infektsioone esineb sageli pahaloomuliste hematoloogiliste kasvajate ja AIDS-iga patsientidel ning need moodustavad üha suurema osa haiglas saadud infektsioonidest, eriti elundi siirdamisega patsientidel ja teistel immuunsupressantravi saavatel patsientidel[6,7]. Paljusid seenhaigusi saadakse pinnasest, taimede jäätkidelt, õhukäitlussüsteemidelt ja/või lahtistelt pindadelt pärinevate seeneeoste sissehingamisel. Mõningaid oportunistlikke seeni esineb inimese nahal või nahas, seedetraktis ja limaskestadel[8,9]. Invasiivsete mükooside ja fungeemiate diagnoos põhineb tavaliselt mittespetsiifilistel diagnostilistel või radioloogilistel meetoditel. Hiljuti on olemasolevatele diagnoosimeetoditele lisandunud ka seeninfektsiooni kindlaksmääramine biomarkerite abil[2].

Oportunistlike seenpatogeenide hulka kuuluvad *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* ja *Pneumocystis jirovecii*. Analüüsiga Fungitell STAT® on võimalik tuvastada nende ja teiste organismide toodetud (1→3)-β-D-glükaani[1,5,10,11].

3. Protseduuri põhimõte

Analüüs Fungitell STAT® (kataloogi nr FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) on Fungitell® (kataloogi nr FT001, Associates of Cape Cod, Inc. või ACC) analüüsiformaadi ülesehituse modifikatsioon. Analüüs Fungitell STAT® (2019. aasta CE-märgisega seade) töötati välja selleks, et vastata ühekordselt kasutatava analüüsiformaadi ja väiksema komplekti suuruse vajadusele, võrreldes analüüsi Fungitell® 96 süvendiga plaadi formaadiga (USA predikaat ja 2008. aasta CE-märgisega seade).

Analüüs Fungitell STAT® võimaldab (1→3)-β-D-glükaani kvalitatiivset määramist. Analüüs põhineb *Limulus*'e amõbotsüüdi lüsaadi (LAL) raja modifikatsioonil[12,13,14,15], **joonis 1**. Analüüsi Fungitell STAT® reagent on modifitseeritud eemaldama bakterite endotoksiini reaktiivsust ja seega reageerima faktori G vahendatud kõrvalraja kaudu vaid (1→3)-β-D-glükaaniga. (1→3)-β-D-glükaan aktiveerib faktori G, mis on seriinproteaasi sümogeen. Aktiveeritud faktor G muundab inaktiivse hüübimist soodustava ensüümi aktiivseks hüübimist vahendavaks ensüümiks, mis omakorda eraldab paranitroaniliini Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, luues kromofoori paranitroaniliini (pNA), milles neeldub valgus lainepikkusega 405 nm. Järgnevalt kirjeldatud kineetiline analüüs Fungitell STAT® põhineb patsiendi seerumiproovis tekitatud optilise tiheduse suurenemise kiiruse määramisel. Indeksi saamiseks võrreldakse seda kiirust Fungitell STAT®-i standardi optilise tiheduse suurenemise kiirusega. Fungitell STAT®-i standard on kalibreeritud väärtusele 80 +/- 8 pg/ml, mis on analüüsi Fungitell® jaoks positiivne piirväärtus. Seda patsiendi seerumiproovi indeksi väärtust tõlgendatakse kvalitatiivselt negatiivse, ebamäärase või positiivse tulemusena vastavalt allolevas **tabelis 1** toodud indeksi väärtusvahemikele.



Joonis 1. ***Limulus*'e amõbotsüüdi lüsaadi rada**

Tabel 1. Fungitell STAT®-i indeksi vahemikud

Tulemus	Indeksi väärtus
Negatiivne	≤ 0,74
Ebamäärane	0,75–1,1
Positiivne	≥ 1,2

4. Tootega Fungitell STAT® kaasas olevad materjalid

Toode Fungitell STAT® on mõeldud *in vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.

Iga tootega kaasas olevatest järgmistest materjalidest piisab kokku 10 reaktsiooniks (põhineb 10 Fungitell STAT®-i reagendi katsutil). Iga toode sisaldab ka 5 Fungitell STAT®-i standardi katsutit.

1. Fungitell STAT®-i reagent, lüofiliseeritud (1→3)-β-D-glükaani spetsiifiline LAL (10 katsutit)
   Fungitell STAT®-i reagent koosneb Limulus'e (s.o odasaba) amebotsüüdi lüsaadist, Boc-Leu-Gly-Arg-pNA kolorimeetrilisest substraadist ja Tris-puhvrist. See ei sisalda inimese ega imetaja valke. Fungitell STAT®-i reagent ei sisalda segavaid (1→3)-β-D-glükaani tasemeid.
2. Fungitell STAT® glükaani standard (5 katsutit) lüofiliseeritud (1→3)-β-D-glükaan.
   Fungitell STAT®-i glükaani standard koosneb D-laktoosist ja (1→3)-β-D-glükaanist, mis on saadud *Saccharomyces cerevisiae pärmiekstraktist*.
   Sisemine kontroll: Fungitell STAT®-i standardi (1→3) β-D-glükaani kontsentratsioon on kalibreeritud Fungitell®-i toote positiivsele piirväärtusele (USA predikaat ja 2008. aasta CE-märgis) ja sisemise võrdlusstandardi suhtes. Fungitell STAT®-i standard sisaldab teatud kindlat kogust glükaani. Saadud väärtusi kirjeldatakse kvaliteedikontrolli jaotises ja need on analüüsi Fungitell STAT® sisemiseks kontrolliks.
3. Kasutusjuhend
4. Visuaalne lühijuhend

5. Vajalikud, kuid mittetarnitud materjalid

Kõik materjalid peavad olema vabad häirivast glükaanist.

1. LAL-i reagendivesi* (5,5 ml viaal, kataloogi nr W0051-10)
2. Aluseline eeltöötluslahus, 0,125 M KOH ja 0,6 M KCl* (2,5 ml viaal, kataloogi nr APS51-5)
3. Pipetid, millega saab mõõta 20–200 µL ja 100–1000 µL mahte
4. Pipetiotsikud* (250 µL – kataloogi nr PPT25, 1000 µL – kataloogi nr PPT10)
5. Pikad pipetiotsikud* (20–200 µL, kataloogi nr TPT50)
6. Analüüsikatsutid* patsiendi proovide ettevalmistamiseks ja seerumi eeltöötluslahuse segamiseks. (12 x 75 mm, kataloogi nr TB240-5)
7. Katsutilugeja ja kineetilise analüüsi tarkvara
   a) PKF08 inkubeeriv 8-süvendiline katsutilugeja (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)** koos tarkvaraga Beta Glucan Analytics (BG Analytics® või BG Analytics® tarkvara), BG Analytics® tarkvara juhendi ja BG Analytics® süsteemi verifitseerimisprotokolliga** (BGA007, Associates of Cape Cod, Inc.).
   Seadme PKF08 ja tarkvara BG Analytics® tarnib Associates of Cape Cod, Inc. (katalooginumber PKF08-PKG**). PKF08-PKG on valideeritud kasutamiseks koos analüüsiga Fungitell STAT®. **Või...**
   b) Inkubeeriv (37 °C) katsutilugeja, mis on võimeline lugema lainepikkustel 405 nm ja 495 nm vahemikus vähemalt 0–1,0 neeldumisühikut. See katsutilugeja peab olema ühendatud sobiva arvutipõhise kineetilise analüüsi tarkvaraga, mis on võimeline analüüsima reaktsiooni kineetikat ja toetama kasutusjuhendi kvaliteedikontrolli jaotises loetletud kriteeriumide ülevaatamist.
8. Steriilsed, gluekanivabad katsutid proovide alikvootimiseks. Kasutada võib katsuteid, mis on sertifitseeritud RNAaasi-, DNAaasi- ja pürogeenivabad.
9. Parafilm®

** Need ettevõtte Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) tarnitavad tooted ei sisalda sertifikaadi kohaselt häirivas koguses glükaane.*
***Kasutusjuhendid saab alla laadida ACC veebisaidilt: www.fungitell.com.*

6. Reagentide säilitamine

- Hoidke komplekti originaalpakendis, temperatuuril 2–8 °C ja päikesevalguse eest kaitstult.
- Fungitell STAT®-i reagent ja Fungitell STAT®-i standard on välja töötatud kasutamiseks kuni 1 tund pärast lahustamist.

7. ⚠ *Hoiatused ja ettevaatusabinõud*

- Ärge pipeteerige ühtegi materjali suuga. Ärge suitsetage, sööge ega jooge proovide või komplekti reagentide käitlemise piirkondades.
- Järgige töö- ja kohalikke ohutuseeskirju.
- Nakkusohtlike või ohtlike bioloogiliste proovide käsitsemisel kandke kaitsekindaid. Kinnastatud käsi tuleb igal hetkel pidada saastunuks; hoidke kinnastatud käsi eemal silmadest, suust ja ninast. Aerosooliga saastumise võimalusel kandke silmakaitset ja kirurgilist maski.
- Kahjustatud sisuga tooteid ei tohi kasutada.
- Kõrvaldamine. Kemikaalide ja preparaatide jääke peetakse üldiselt ohtlikeks jäätmeteks. Seda tüüpi jäätmete kõrvaldamine on reguleeritud riiklike ja piirkondlike seaduste ja määrustega. Ohtlike jäätmete kõrvaldamise kohta nõu saamiseks võtke ühendust kohalike ametiasutuste või jäätmekäitlusettevõtetega.
- Fungitell STAT®-i reagendi, Fungitell STAT®-i standardi, LAL-i reagendivee ja aluselise eeltöötluslahuse **ohutuskaardid** saab alla laadida ACC veebisaidilt: www.acciusa.com.

7.1 Protseduurilised ettevaatusabinõud

Analüüsi Fungitell STAT® puhul tuleb järgida rangelt metoodikat ja nõudeid analüüsi keskkonnale. Analüüsi efektiivsuse saavutamiseks on kriitiline tähtsus tehniku väljaõppel analüüsimeetodi ja saastamise vältimise alal.

- Looge analüüsi läbiviimiseks puhas keskkond.
- Pange tähele, et analüüsi Fungitell STAT® võivad häirida nii glükaan kui ka inimkehalt, riietelt, konteineritest, veest ja õhutolmust lähtuv saastumine seente osakestega.
- Võimalikud saasteallikad on tselluloosi sisaldavad materjalid, nagu marli, pabersalvrätikud ja papp, vatikorkidega klaaspipetid ja tsellulloosfiltritega pipetiotsikud. Kirurgilised marli sidemed ja käsnad võivad samuti eritada suures koguses (1→3)-β-D-glükaani[21,22]. Teiste patsientidega seotud saasteallikate kohta vaadake testi piirangute jaotist.
- Kasutage koheselt avatud viaale aluselise eeltöötluslahuse ja LAL-reagendi veega ning kui võimalik saastumine on probleem, ärge neid materjale uuesti kasutage.
- Fungitell STAT®-i reagent ja Fungitell STAT®-i standard väljastatakse paarispartiidena. Sel põhjusel ei tohi kasutada Fungitell STAT®-i reagendi ega Fungitell STAT®-i standardi komponente teistest tootepartiidest. Seetõttu on soovitatav kõik järelejäänud Fungitell STAT®-i standardid ära visata niipea, kui kõik pakendis olevad Fungitell STAT®-i reagendi katsutid on ära kasutatud.
- Ärge kasutage materjale pärast aegumiskuupäeva möödumist.

7.2 Proovide käitlemine

- Vere võtmine ja seerumi ettevalmistamine peab toimuma vastavalt kehtivatele kohalikele määrustele. Proovide võtmine. Vereproovid tuleb võtta steriilsetesse seerumi ettevalmistamise katsutitesse või seerumi eraldamise katsutitesse (SST) seerumi ettevalmistamiseks.
- Proovide säilitamine. Seerumiproove võib säilitada temperatuuril 2–8 °C kuni 15 päeva või külmutada temperatuuril -20 °C kuni 27 päeva või -80 °C kuni 4 aastat.
- Proovide märgistamine. Proovid tuleb selgelt märgistada vastavalt meditsiiniasutuse (labori) heakskiidetud tavadele.

7.3 Märkused testimise kohta.

- Kasutage häid laboritavasid vastavalt kohalikele määrustele. See analüüs on tundlik saastumise ja pipettimise ebatäpsuse suhtes.
- Et tagada operaatori ohutus seerumiproovidega töötamisel ja vähendada protsessi käigus keskkonnast (1→3)-β-D-glükaaniga saastumist, on soovitatav töötada bioohje kambris.
- Et vähendada tarbetuid klaasviaali liikumisi bioohje kambrist sisse ja välja, on soovitatav viia vorteksegisti bioohje kambri sisse (eeldusel, et säilib kriitiline õhuvool).
- Viaalidevahelise ristsaastumise vältimiseks on soovitatav kasutada pikki pipetiotsikuid.
- Fungitell STAT®-i standardi (punase korgi ja punase joonega silt) tuleb tsükli jooksul alati töödelda samadel tingimustel ja samal ajal kui patsiendi proovi(e). See on kriitilise tähtsusega, kuna analüüsi tulemus on patsiendi proovi ja Fungitell STAT®-i standardi kineetilise reaktsiooni kiiruse (või tõusude, OD/s) indeks (proov/standard).
- Protseduuri ajal on soovitatav kasutada eraldi katsutiriiuleid, ühte proovi ettevalmistamise katsutite jaoks ja ühte reagendikatsutite jaoks segaduse ja ristsaastumise vältimiseks.
- Fungitell STAT®-i standard on soovitatav asetada kindlaksmääratud ja ühtsesse kohta katsutiriiulis, inkubaatoris ja lugejas. Kasutage PKF08 lugejas esimest vasakpoolset süvendit, mis on märgistatud „Standard".
- Iga segamisetapi lõpus kontrollige visuaalselt, et lahus on homogeenselt segunenud.

8. Protseduur

Toode Fungitell STAT® sisaldab visuaalset lühijuhendit koos illustratsioonide ja PKF08 instrumendi ja BG Analytics®-i tarkvara funktsiooniide kokkuvõttega.

Seadme PKF08 ja tarkvara BG Analytics® kasutamisel on järgmised protseduurid juba eelseadistatud. Seadme seadistamine, tulemuste hindamine ja kvaliteedikontroll. Lisateabe saamiseks vaadake BG Analytics® tarkvara kasutusjuhendit või võtke ühendust tootjaga.

8.1 Instrumendi seadistamine ja analüüsi programmeerimine

8.1.1 PKF08 kasutamisel koos BG Analytics® tarkvaraga.
Lülitage seade sisse ja järgige tarkvara BG Analytics® juhiseid. Üksikasjalikuma teabe saamiseks vaadake BG Analytics® juhendit.

8.1.2 Teise instrumendi ja tarkvara kasutamisel peavad olema täidetud järgmised tingimused.
a. Instrument peab suutma saavutada ja hoida temperatuuri 37 °C±1 °C.
b. Instrument ja tarkvara peavad suutma lugeda optilist tihedust aja jooksul (kineetiline režiim) kahel lainepikkusel. Täpsemalt tuleb need lainepikkused seada 405 nm ja 495 nm peale.
c. Määrake kineetilise režiimi lugemise pikkuseks 40 minutit (2400 sekundit). Määrake kineetilise lugemise intervall tarkvara/instrumendi poolt lubatud miinimumini.
d. Mõõtmist tuleb alustada kohe pärast proovi sisestamist.
e. Andmekogumi põhjal kiiruse (tõusu) mõõtmise arvutamiseks vt tarkvara juhendit. Selle analüüsi jaoks saavutatakse see üldiselt kineetiliste andmete lineaarse regressiooni läbiviimisega soovitatud aja jooksul. Seadke lineaarse regressiooni arvutus käivituma vahemikus 1900 kuni 2400 sekundit, kasutades tarkvara „slice" funktsiooni.

8.2 Katsutite märgistamine

a. Märgistage üks tühi katsuti iga analüüsitava patsiendi seerumiproovi kohta.
b. Märgistage üks Fungitell STAT®-i reagendikatsuti iga analüüsitava patsiendi seerumiproovi kohta.
c. Märgistage üks Fungitell STAT®-i reagendikatsuti Fungitell STAT®-i standardi jaoks.

8.3 Patsiendi seerumiproovi ettevalmistamine

a. Homogeensuse tagamiseks keeristage patsiendi seerumiproove vähemalt 20 sekundit.
   Märkus. *Külmumisprotsess võib tekitada proovi heterogeensuse, mis on tingitud vee abstraktsioonist kasvavale jäätkristallile, väljutades sellega lahustunud ained.*
b. Lisage patsiendi seerumiproov ja aluseline eeltöötluslahus suhtega 1:4 vastavalt märgistatud tühja katsutisse. Soovitatavad mahud on 50 µl patsiendi proovi ja 200 µl aluselist eeltöötluslahust.
   Märkus. *Aluseline eeltöötluslahus muundab kolmik-heeliksilised glükaanid üheahelalisteks glükaanideks[14,15], mis on analüüsis reaktiivsemad. Lisaks toimib aluseline pH seerumi proteeaside ja inhibiitorite inaktiveerimiseks, mis võivad analüüsi häirida[24].*
c. Segage vortekssegistil 15 sekundit ja katke.

8.4 Fungitell STAT®-i standardi valmistamine

Märkus. *Iga toodet (Fungitell STAT® standardi ja Fungitell STAT®-i reagendi paar) analüüsitakse ja väljastatakse eraldi. Seetõttu on oluline kasutada partii numbrile vastavaid* taastamis- ja aluselise eeltöötluslahuse mahte. *Need leiate Fungitell STAT®-i standardi pakendi märgistuselt, Fungitell STAT®-i toote analüüsisertifikaadilt ja ACC veebisaidilt. Soovitus: enne testi alustamist kirjutage see teave kaasasolevasse visuaalsesse lühijuhendisse.*

a. Lahustage üks Fungitell STAT®-i standardi viaal partii numbrile spetsiifilise LAL-i reagendivee mahuga ja vortekssegage 15 sekundit.
b. Lisage partii numbrile spetsiifiline aluselise eeltöötluslahuse maht.
c. Segage vortekssegistil 15 sekundit ja katke.

8.5 Eeltöötluse inkubatsioon katsutilugejas

Inkubeerige patsiendi seerumikatsuteid (etapist 8.3) ja Fungitell STAT®-i standardi viaali (etapist 8.4) 10 minutit temperatuuril 37 °C.

Märkus. Instrumendi PKF08 kasutamisel muutub katsuti süvendisse sisestamisel indikaator punasest roheliseks. Lükake katsuti täielikult sisse, kuni indikaator muutub roheliseks.

⚠ Ettevaatust, katsutid on haprad. Kui PKF08 mõõtejaama satuvad klaasikillud ja vedelikud, võtke ühendust Associates of Cape Cod, Inc. tehnilise teenindusega.

8.6 Fungitell STAT®-i reagendi katsutite ettevalmistamine

a. Lahustage kõik Fungitell STAT®-i reagendi viaalid (märgistatud ülaltoodud etapis 8.2) 300 µl LAL-i reagendiveega.
b. Keeristage õrnalt mitte rohkem kui 5 sekundit.
   Märkus. *Fungitell STAT®-i reagent sisaldab mitmeid analüüsi jaoks vajalikke aktiivseid valke ja lahust on soovitatav käsitseda õrnalt. Iga vortekssegisti puhul on soovitatav maksimaalne seadistus 2000 p/min. Ärge segage üle.*
c. Eelinkubatsiooni lõpus:
   - Kandke 75 µl iga patsiendi seerumiproovi lahust üle vastavasse Fungitell STAT® reagendi katsutisse.
   - Kandke 75 µl Fungitell STAT®-i standardit vastavasse Fungitell STAT®-i reagendi katsutisse.
   - Vorteksegage kõiki katsuteid mitte rohkem kui 5 sekundit ja katke.

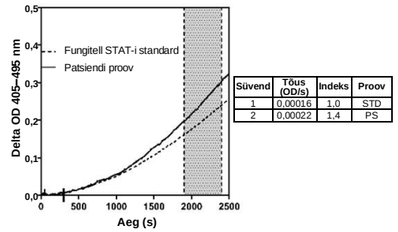
8.7 Analüüsikorra käivitamine

a. Sisestage katsutid katsutilugejasse, kontrollides, et igaüks neist oleks ettenähtud süvendis.
b. Alustage kineetilist lugemist 40 minuti jooksul temperatuuril 37 °C.

9 Tulemuste arvutamine

9.1 Mõõtmise põhimõte

Fungitell STAT®-i testitulemusi võib kasutada abiks invasiivse seeninfektsiooni diagnoosimisel. Patsiendi proovi ja Fungitell STAT®-i standardsed kiirused tuletatakse 1900 ja 2400 vahelise tõusu (kiiruse) arvutamisel delta OD 405–495 nm tulemuste põhjal. Fungitell STAT®-i indeksi tulemused saadakse patsiendi proovi tõusu jagamisel Fungitell STAT®-i standardi tõusuga (vt joonis 2).



Joonis 2. Fungitell STAT®-i kineetiliste kõverate ja andmete analüüsi näide
Halliga esiletõstetud piirkond on tõusu määramise ala (1900 kuni 2400 sekundit), pidev joon on patsiendi proovi (PS) näide ja katkendlik joon on Fungitell STAT®-i standard (STD). Proovi tõus (st 0,00022 OD/s) jagatuna Fungitell STAT®-i standardi 80 pg/ml tõusuga (st 0,00016 OD/s) annab proovi indeksi 1,4.

9.2 PKF08 kasutamisel koos tarkvaraga BG Analytics®:

a. Kvaliteedikontrolli kriteeriumide ülevaatamine toimub tarkvara poolt automaatselt. Tulemus kuvatakse lõpparuandes.
b. Kehtivate analüüsitsüüklite jaoks määrab tarkvara BG Analytics® igale proovile indeksi väärtuse või määrab proovile selge negatiivse või positiivse tulemuse.
c. Kui tarkvara näitab tulemuste hindamisel kehtetuid parameetreid, järgige tarkvara BG Analytics® kasutusjuhendi juhiseid.

9.3 Muu tarkvara kasutamisel:

Veenduge, et kõik kvaliteedikontrolli kriteeriumid oleksid täidetud.

10. Kvaliteedikontroll

Allpool on loetletud Fungitell STAT®-i standardi ja patsiendi seerumiproovide tulemuste kvaliteedikontrolli kriteeriumid, sealhulgas eeldatavate kineetiliste kõverate kujude näited. Need kvaliteedikontrolli kriteeriumid valideeriti toimivusfunktsiooniide jaotises esitatud uuringute käigus.

- **Kõigi süvendite numbrite jaoks** kinnitage Fungitell STAT®-i standard või proovi nr määramine

- **Fungitell STAT®-i standardi tulemuse jaoks**
  1. peab korrelatsioonikoefitsient (r) olema ≥ 0,980 ja
  2. tõus peab jääma eeldatavasse tõusuvahemikku 0,00010–0,00024 OD/s.

  Kui Fungitell STAT®-i standardi tulemus ei vasta kriteeriumidele nr 1 ja nr 2, on tsükkel kehtetu ning kõik proovid tuleb uuesti ette valmistada ja analüüsida.

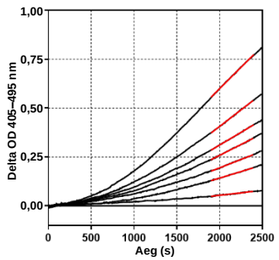
- **Kõigi patsiendi proovide tulemuste jaoks tehke järgmist:**

  A. Tehke kindlaks, kas tulemus võib olla väljaspool analüüsi mõõtmisvahemikku
  - Tulemus on tõenäoliselt vahemikust väljas positiivsel poolel, kui:
    - Y vabaliige on positiivne ja
    - Kineetiline kõver läbib 0,4 OD enne 1000 sekundit.
  - Tulemus on tõenäoliselt vahemikust väljas positiivsel poolel, kui:
    - Kineetiline kõver on positiivne pärast 500 sekundit ja
    - Testi lõpus on OD ≥ 0,00 ja < 0,07.

  Kui proovi tulemus vastab mõlemale positiivse kui ka negatiivse vahemikust väljas olevale kriteeriumile, ei pea alltoodud üldisi kvaliteedikontrolli kriteeriume täitma ja indeksi väärtust ***ei*** *tohi arvutada. Kõik positiivsel poolel olevad vahemikust väljas olevad tulemused tuleb esitada kui „positiivsed" ja kõik negatiivse poole vahemikust väljapoole jäävad tulemused tuleks esitada kui „negatiivsed".*

  B. Kui ülaltoodud kriteeriumid ei kehti, kontrollige üldist kvaliteedikontrolli:
  1. kineetiline kõver peab 500 sekundi pärast olema positiivne,
  2. kineetilise kõvera OD peab analüüsi lõpus olema ≥ 0,00,
  3. tõus peab olema arvuliselt positiivne,
  4. peab korrelatsioonikoefitsient (r) olema ≥ 0,980 ja
  5. kineetilisel kõveral peab olema ülespoole kasvav kõver, mis on kooskõlas **joonisel 3** toodud näidetega.

  Kui proovi tulemus ei vasta üldistele kvaliteedikontrolli kriteeriumidele nr 1, 3–5, on proovi tulemus kehtetu ja proovi tuleb uuesti analüüsida. Alternatiivina tuleks kasutada teistsugust meetodit.
  Kui proovi tulemus ei vasta kvaliteedikontrolli kriteeriumile nr 2, viitab see sellele, et proovisignaal on madal. Sel juhul peab kasutaja antud kõvera kontekstis hoolikalt üle vaatama ja laborisisese kvaliteedisüsteemi alusel tulemuste paikapidavuse kindlaks määrama.



Joonis 3. Näited asjakohastest kineetiliste kõverate kujudest

Kineetilistel kõveratel peaks olema ülespoole kasvava kõveraga kuju, nagu ülaltoodud näidetes. Siin näidatud proovi näited pärinevad Fungitell STAT®-i testi indeksi vahemikust. Kasutage neid näiteid kvaliteedikriteeriumide ülevaatamiseks.

Märkus.

1. Kõik analüüsi kasutajad peavad rakendama kvaliteedikontrolli programmi, et tagada analüüsi tegemise oskus nende kohalike kohaldatavate eeskirjade kohaselt.
2. Seerumi kontrollproove (negatiivsed, piirväärtuse lähedased või tugevalt positiivsed) on soovitatav analüüsida edasiste laborikontrollide ja hea laboritava kontekstis. Need ei sisaldu Fungitell STAT®-i komplektis.

11. Tulemuste tõlgendamine

- **Negatiivne tulemus**
  Indeksi väärtused ≤ 0,74 tõlgendatakse negatiivsete tulemustena.
  Analüüsi tegev labor peab teavitama analüüsi tellivat arsti, et mitte kõik seeninfektsioonid ei suurenda seerumi (1→3)-β-D-glükaani sisaldust. Mõned seened, näiteks krüptokokkide perekond[16,17] toodavad (1→3)-β-D-glükaani väga väikestes kogustes. Nutthallikulaadsed (*Mucorales*), näiteks *Absidia*, *Mucor* ja *Rhizopus*[1,17], ei tooda teadaolevalt (1→3)-β-D-glükaani. Ka *Blastomyces dermatitidis* toodab pärmi faasis (1→3)-β-D-glükaani vähe ning blastomükoosiga patsientidel ei ole (1→3)-β-D-glükaani sisaldused tavaliselt analüüsiga Fungitell STAT® määratavad[18].
- **Ebamäärane tulemus**
  Indeksi väärtusi 0,75 kuni 1,1 peetakse ebaselgeks (ebamääraseks). Soovitav on korduv seerumi proovide võtmine ja analüüsimine. Proovide sage võtmine ja analüüsimine parandab kasutatavust diagnoosimiseks.
- **Positiivne tulemus**
  Indeksi väärtused ≥ 1,2 tõlgendatakse positiivse tulemusena. Positiivne tulemus tähendab, et proovis tuvastati (1→3)-β-D-glükaani. Positiivne tulemus ei määratle haiguse olemasolu ning seda tuleb diagnoosimisel kasutada koos teiste kliiniliste leidudega.

12. Analüüsi piirangud

- Selle analüüdi seerumikontsentratsiooni võivad mõjutada seeninfektsiooni asukoht kudedes[7], kapseldumine ja teatud seente toodetav (1→3)-β-D-glükaani kogus. (1→3)-β-D-glükaani vähenenud sisenemine vereringesse võib mõjutada võimet tuvastada teatud seeninfektsioone.
- Mõnel inimesel esinevad (1→3)-β-D-glükaani indeksi väärtused, mis jäävad ebamääraste väärtuste alasse. Sellistel juhtudel on soovitav teha jälgimiseks lisauuringuid.
- Patsiendi testimise sagedus sõltub seeninfektsiooni esinemise suhtelisest riskist. Riskirühma patsientidelt soovitatakse proove võtta vähemalt kaks kuni kolm korda nädalas.
- Positiivseid tulemusi on saadud hemodialüüsi patsientidel[19,20,39], teatud fraktsioneeritud veretoodetega, näiteks seerumi albumiini ja immunoglobuliinidega ravitavatel patsientidel[23,24] ja glükaani sisaldavate marlidega ja kirurgiliste käsnadega kokku puutunud proovidest või uuringus osalejatelt. Kirurgilisel kokkupuutel (1→3)-β-D-glükaani sisaldavate käsnade ja tampoonidega on vajalik 3–4 päeva möödumine seerumi (1→3)-β-D-glükaani kontsentratsiooni langemiseks baasväärtusele[21,22]. Seetõttu tuleb kirurgiliste patsientide proovide võtmise aja puhul seda asjaolu arvesse võtta. Põhjaliku ülevaate (1→3)-β-D-glükaani valepositiivsedi tulemusi põhjustavatest teguritest annab artikkel Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)[40].
- Kanna või sõrme kapillaarvere punktsiooniga saadud proovide kasutamine ei ole vastuvõetav, sest on näidatud proovide saastumist uuringukoha ettevalmistamiseks kasutatava alkoholis niisutatud tampooniga (ja potentsiaalselt ka vere kogunemisest nahapinnale). Senistes uuringutes ei ole veenitee kaudu või veenipunktsiooniga võetud proovidel erinevusi täheldatud[25,26].
- Analüüsitulemused on määratud täiskasvanud uuringus osalejatel. Imikute ja laste normaalseid ja piirväärtusi uuritakse[27,28].

13. Toimivusnäitajad

13.1 Oodatavad väärtused

- ***Võrdlusmeetodi, Fungitell®-i analüüsi, diagnostiline tundlikkus ja diagnostiline spetsiifilisus***
  Fungitell®-i analüüsi (USA predikaat ja 2008. aasta CE-märgis) diagnostilise tundlikkuse ja diagnostilise spetsiifilisuse kindlakstegemiseks läbi viidud mitmekeskuseline prospektiivne uuring näitas, et (1→3) β-D-glükaani väärtused on tõusnud mitmesuguste seeninfektsioonide puhul. Kui 80 pg/ml või kõrgema väärtuse korral esinevad tunnused ja sümptomid, on ennustusväärtus, et uuringus osaleja on seeninfektsiooni suhtes positiivne, vahemikus 74,4–91,7%. 60 pg/ml ja väiksema väärtuse ning tunnuste ja sümptomite puudumise korral oli analüüsi negatiivne ennustusväärtus vahemikus 65,1–85,1%[29].

- ***Fungitell STAT®-i piirväärtuste määramine***
  Selles uuringus kasutati külmutatud anonümiseeritud patsientide seerumiproove, mis olid kogutud sihtrühma tavapärase kliinilise ravi käigus ja mis saadeti Beacon Diagnostics Laboratory, Inc laborisse Fungitell®-i testimiseks. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc on ettevõtte Associates of Cape Cod (ACC) litsentseeritud Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) laboriosa. Uuringusse kaasati 93 anonümiseeritud patsiendi seerumiproovi grupp, mille (1→3)-β-D-glükaani kontsentratsioonid jaotusid Fungitell®-i standardkõvera koguvahemikus 31–500 pg/ml. Fungitell STAT®-i piirväärtuse hindamine järgis ROC-kõverate (Receiver Operating Characteristic Curves) analüüsi[30]. Tulemused näitasid, et Fungitell STAT-i β-glükaani indeksi väärtusi ≥ 1,2 tuleb tõlgendada positiivse tulemusena vastavuses Fungitell®-i toote 80 pg/ml piirväärtusega, samas kui indeksi väärtuseid ≤ 0,74 tuleb tõlgendada negatiivsete tulemustena vastavuses Fungitell®-i toote 60 pg/ml piirväärtusega. Need piirväärtused kinnitati osana meetodi võrdlusuuringust ning allpool esitatud negatiivse ühilduvusprotsendi ja positiivse ühilduvusprotsendi arvutamisest.

13.2. Meetodite võrdlus

Sarnaselt piirväärtuse uuringuga kasutati ka teistsugust proovide komplekti: 488 anonümiseeritud külmutatud patsiendi seerumiproovi , mille (1→3)-β-D-glükaani kontsentratsioonid olid jaotunud Fungitell®-i standardkõvera koguvahemikus 31–500 pg/ml[30]. Nende hulgas oli 309 proovi, mis jäid Fungitell®-i testitulemuste negatiivsesse tsooni, 143 proovi, mis jäid Fungitell®-i positiivsesse tsooni ja 36 proovi, mis jäid Fungitell®-i ebamäärasesse tsooni (**tabel 2**). Kõiki proove analüüsiti selle uuringu ajal nii Fungitell STAT®-i kui ka Fungitell®-i analüüsidega. Kui Fungitell STAT®-i ebamäärasesse tsooni jäävad proovid jäeti analüüsist välja, jäi negatiivse ühilduvusprotsendi analüüsi jaoks alles 290 proovi ja positiivse ühilduvusprotsendi analüüsi jaoks 119 proovi.

Tabel 2. Analüüsi Fungitell STAT® toimivus võrreldes analüüsiga Fungitell®

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

**Ebaselged (ebamäärased) tulemused, mida analüüsi ei kaasatud; kui kõiki ebamääraseid tulemusi peetakse lahknevateks (nt valepositiivsed või valenegatiivsed), on toimivus järgmine: PPA - 73,8% (118/160), 95% CI: (66,4%, 80,0%); NPA - 91,0% (283/311), 95% CI: (87,3%, 93,7%)*

- **Negatiivne ühilduvusprotsent**
  Kakssada kaheksakümmend kolm (283) 290 proovist, mis olid Fungitell®-i seadmega analüüsimisel negatiivsed, olid negatiivsed ka Fungitell STAT®-i analüüsiga. Arvutatud negatiivne ühilduvusprotsent (NPA) Fungitell®-i meetodiga oli 97,6% (95% usaldusvahemik: 95,4%, 99,9%) (**tabel 2**)
- **Positiivne ühilduvusprotsent**
  Sada kaheksateist (118) 119 proovist, mis olid Fungitell®-i seadmega analüüsimisel positiivsed, olid positiivsed ka Fungitell STAT®-i analüüsiga. Arvutatud positiivne ühilduvusprotsent (PPA) Fungitell®-i meetodiga oli 99,2% (95% usaldusvahemik: 95,4%, 99,9%) (**tabel 2**).
- **Mõõtmisvahemik, lineaarsus ja täpsus**
  Indeksi tulemused jäid vahemikku ligikaudu 0,4 kuni 3,5, hõlmates analüüsi Fungitell® standardkõverat (31–500 pg/ml). Fungitell®-i kontsentratsiooni ja Fungitell STAT®-i indeksi tulemuste lineaarne korrelatsioon oli 0,92 (95% usaldusvahemik: 89,9% ja 93,6%).
  Märkus. PKF08 kasutamisel tarkvaraga BG Analytics® kasutatakse liigitamise määramiseks Fungitell STAT® indeksi tulemust. Hinnanguline pg/ml väärtus on esitatud ainult võrdluseks.

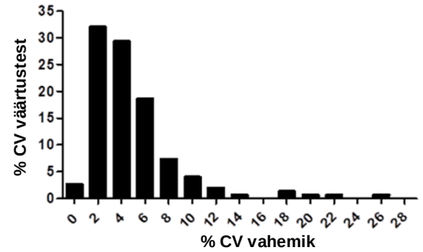
13.3 Analüütiline laboritevaheline uuring

Analüüsi Fungitell STAT® täpsust (st korratavust ja reprodutseeritavust), analüütilist tundlikkust ja analüütilist spetsiifilisust hinnati inimese seerumisse *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)-β-D-glükaani lisamisega, et saada viieliikmeline paneel, mis koosnes madalalt negatiivsest proovist, kõrgelt negatiivsest proovist (veidi alla alumise läve 0,74), ebaselgest (ebamäärasest) proovist, madalalt positiivsest proovist (veidi üle ülemise läve 1,2) ja kõrgelt positiivsest proovist (~2x üle ülemise piiri 1,2). Paneel jagati analüüsiga Fungitell STAT® testimiseks kolmele CLIA laborile. Iga labor andis 150 andmepunkti (st 5 proovi x kolm korda tsükli kohta x kaks operaatorit, kes sooritavad tsükli päevas x 5 päeva) kokku 450 andmepunkti jaoks, sh 30 tsüklit (st analüüsid) ja 90 andmepunkti proovi kohta (st, paneeli liige). Allpool **tabelis 3** esitatud uuringuindeksi keskmised väärtused on saadud kolme labori esitatud andmetest. Tulp Positiivne protsent tähistab antud paneeliliikme proovide protsenti, mis jäid positiivsete tsooni. Kõigist kolmest laborist olid protsentpositiivsed tulemused madala negatiivse proovi puhul 1,1%, kõrge negatiivse proovi puhul 0%, ebaselge proovi puhul 3,3%, madala positiivse proovi puhul 96,7% ja kõrgete positiivsete proovide puhul 100%.

Tabel 3. Analüütiline laboritevaheline uuring

Paneeliliige	Keskmine indeks	Standardhälve	% variatsioonikordaja (CV)	Positiivsete protsent (Pos. arv / testitute arv)	Analüütiline spetsiifilisus (tõeliselt negatiivne) ja analüütiline tundlikkus (tõeliselt positiivne)
Madal negatiivne	0,55	0,10	20,4%	1,1% (1/90)	89/90 tõeliselt negatiivne
Kõrge negatiivne	0,75	0,08	11,1%	0% (0/90)	90/90 tõeliselt negatiivne
Ebamäärane	0,94	0,10	11,1%	3,3% (3/90)	87/90 mittepositiivne
Madal positiivne	1,6	0,30	18,7%	96,7% (87/90)	87/90 tõeliselt positiivne
Kõrge positiivne	2,6	0,40	15,4%	100% (90/90)	90/90 tõeliselt positiivne

Nagu on näidatud tabelis 3, oli analüüsidevaheline variatsioon (st % CV) vahemikus 11 kuni 20,4% ja see oli reprodutseeritavuse mõõt. Analüüsisisesne varieeruvus oli vahemikus 0,4% kuni 26,8% ja see oli korratavuse mõõt. Analüüsisisese CV vahemiku jaotus % on toodud allpool **joonisel 4**. Üldiselt oli 94% CV väärtustest 10% või vähem ja 75% CV väärtustest 6% või vähem.



Joonis 4. Analüüsisiseste CV väärtuste jaotus

13.4 Tõesus

Toote Fungitell STAT® iga partii jaoks kalibreeritakse Fungitell STAT® standard (1→3)-β-D-glükaani kontsentratsioon väärtusele 80 +/- 8 pg/ml, kasutades Fungitell® võrdlusmeetodit ja sisemise (1→3)-β-D-glükaani võrdlusstandardi vastu.

13.5 Segavad ained

Analüüsiga Fungitell STAT® täpsete tulemuste saamist võivad häirida järgmised prooviga seotud seisundid:

- Värvi muutnud või hägusad, näiteks olulise hemolüüsiga, lipeemilised või liigselt bilirubiini sisaldavad proovid võivad optiliselt analüüsi häirida. Selliste proovide testimisel peab analüüsitulemusi kontrollima optiliste segajate tõendite ja/või ebatavaliste kineetiliste mustrite suhtes.
- Immunoglobuliin G sisalduse tõus, nagu see võib olla seerumis hulgimüeloomi korral, võib põhjustada reaktsioonisegu sadestumist pärast Fungitell STAT® lisamist eeltöödeldud seerumile[31].
- Selle kirjutamise seisuga ei ole Fungitell® reagendi aktiveerivat faktorit G ((1→3)-β-glükaani tuvastamise element) kirjeldatud peale (1→3)-β-glükaani. Mõnedes uuringutes, kus on väidetud ristreagentsust, on oletatava aktiveeriva materjali töötlemine puhastatud (1→3)-β-glükanaasiga signaali kõrvaldanud, näidates, et täheldatud aktiveerimine oli tingitud (1→3)-β-glükaaniga saastumisest[12]. Seriinproteaasiga saastumine võib samuti põhjustada Fungitell®-i reaktsioonisegudes para-nitroaniliini vabanemist, kuid need inaktiveeritakse eeltöötlusprotsessi osana.

14. *Metaanalüüsid*

Peale selle on avaldatud arvukalt retsenseeritud uuringuid invasiivse seenhaiguse diagnoosi seerumi (1→3)-β-D-glükaanil põhineva toetamise teemal, sealhulgas diagnoosimisvõime metaanalüüse[32,33,34,35,36,37,38,39].

15. Sümbolite tähendused

	Kõlblik kuni		Vt kasutusjuhendit
Σ N	Sisaldab piisavalt N analüüsiks	EC REP	Volitatud esindaja EL-is
LOT	Partii kood	CE	CE-märgis
IVD	In vitro diagnostiline meditsiiniseade	Rx only	Ainult retsepti alusel kasutamiseks
REF	Kataloogi nr		Ettevaatust
	Temperatuuripiirang		Hoidke päikesevalgusest eemal
	Tootja		Importija
CH REP	Šveitsi volitatud esindaja		

16. Volitatud esindajad/importija

EC REP Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Madalmaad

CH REP	**Šveitsi volitatud esindaja** MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Šveits
	Importija **MedEnvoy Global B.V.** Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Madalmaad

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

Märkus. Seadmega seoses toimunud ohujuhtumist tuleb teatada tootjale ja selle liikmesriigi pädevale asutusele, kus kasutaja ja/või patsient asub.

17. Kontaktinfo

Ettevõtte peakontor
Associates of Cape Cod, Inc.
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 USA
Tel: (888) 395-2221 või (508) 540-3444, Faks: (508) 540-8680
E-post: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

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

18. Redaktsiooniajalugu

Red 1–3. Lisatud PKF08-PKG kataloogi nr ja sellega seotud juhised; üksikasjad Fungitell STAT® standardi kohta, mis toimib sisemise kontrollina, kontaktinfo, selgitused ja vormindamine. Selgitatud üldist kvaliteedikontrolli kriteeriumit nr 3. Lisatud proovi stabiilsuse andmed ja piirväärtuse määramine, vahemiku-lineaarsuse-täpsuse mõõtmise ja tõesuse lõigud. Red 4. Vahetatud EÜ esindaja, kvaliteedikontrolli jaotises muudetud väärtus 0,03 väärtuseks 0,00 ja selguse huvides väikesed muudatused. Red 5. eemaldati EÜ esindaja Emergo Europe. Red 6. Uuendati kasutatud sümboleid. Lisati MedEnvoy EL-i importjana ja eemaldati ACC Europe GmBh jaotisest 17. Uuendati kasutatud sümboleid. Lisati EC-REP, Šveitsi importija ja CH-REP nimi ja aadress. Red 7. Reagendi säilitamise selgitus. Lisati, et PKF08-BGA aruandes on esitatud hinnanguline Fungitell; pg/ml väärtus; uuendati logo ja viidet ACC veebisaidile, milleks on nüüd www.fungitell.com, millel saab vaadata seadme märgistust.

19. Viited

1. Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
2. De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Concensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
3. Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.
4. Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
5. Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H. Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-ß-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
6. Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
7. Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
8. Lass-Florl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
9. Nucci, M. and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
10. Litvintseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgurich, D.E., Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.
11. Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarijian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. ß-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.
12. Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in Limulus. Thrombosis Res. 68: 1-32.
13. Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1→3)-ß-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.
14. Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-ß-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus amebocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
15. Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-ß-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
16. Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-ß-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.
17. Binder, U., Maurer, E., and Lass-Florl, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
18. Girouard, G., Lachance, C., and Pelletier, R. 2007. Observations of (1→3)-ß-D-Glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by Histoplasma or Blastomyces. J. Med. Mycology 56: 1001-1002.
19. Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-ß-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
20. Kato, A., Takita, T., Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-ß-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.
21. Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakat, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-ß-D-Glucan derived from different gauze types. Tohoku J. Exp. Med. 217: 117-121.
22. Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cocanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of ß-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.
23. Held J, Wagner D.β-d-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2011;17:1118-22.
24. Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-ß-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. Int. J. Hematol. 80: 97-98.
25. Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, I., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3-{beta}-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. J. Med. Microbiol. 2010; 59:1016-22.
26. Posteraro B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi,M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguinetti, M., and Antonelli, M. 2011 Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1→3)-β-D-glucan assay, Candida score, and colonization index. Crit Care.15: R249.
27. Smith, P.B., Benjamin, D.K., Alexander, B.D., Johnson, M.D., Finkelman, M.A., and Steinbach, W.J. 2007. (1→3)-ß-D-Glucan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-glucan test in children. Clin. Vaccine Immunol. 14: 924-925.
28. Goudjil. S., Kongolo, G., Dusol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. J. of Materernal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-48.
29. Ostrosky-Zeichner, L., Alexander, B.D., Kett, D.H., Vazquez, J., Pappas, P.G., Saeki, F., Ketchum, P.A., Wingard, J., Schiff, R., Tamura, H., Finkelman, M.A., Rex, J.H. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1→3)-ß-D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. Clin. Inf. Dis. 41: 299-305.
30. D'Ordine, R.L., Garcia, K.A., Roy, J., Zhang, Y., Markley, B. and Finkelman, M.A. 2021. Performance characteristics of Fungitell STAT™, a rapid (1→3)-β-D-glucan single patient sample in vitro diagnostic assay. Med Mycol .59(1):41-49.
31. Issa, N.C., Koo, S., Lynch, R.C., Gay, C., Hammond, S.P., Baden, L.R., Ghobrial, I.M., Finkelman, M.A., and Marty, F.M... 2012 Serum galactomannan and (1→3)-β-D-glucan assays for patients with multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia. J.Clin. Microbiol. 50:1054-6.
32. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2011; 52:750-70.
33. Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. PLoS One. 2015 Jul 6;10:e0131602.

34. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). Clin Infect Dis. 2012; 54:633-43.

35. Onishi A1, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for Pneumocystis jiroveci pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol. 2012; 50:7-15.

36. Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β-D-glucan for the diagnosis of Pneumocystis jirovecii pneumonia: a meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2013; 19:39-49.

37. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.

38. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.

39. Wong J, Zhang Y, Patidar A, Vilar E, Finkelman M, Farrington K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artefact? Limitations of the Limulus Amebocyte Lysate Assay and Role of (1→3)-β-D Glucan. PLoS One. 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.

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