

Ensaio de (1→3)-β-D-glucano em soro

FUNGITELL STAT®

Instruções de utilização

ASSOCIATES OF

CAPE COD

INCORPORATED

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

Telephone: (508) 540-3444

Linha gratuita: (888) 395-2221

Fax: (508) 540-8680

Assistência técnica: (800) 848-3248

Apoio ao cliente: (800) 525-8378

IVD

R_xonly

Σ

10

CE

PN002603-pt Rev7

REF FT007

2025-04-11

Visite o website www.fungitell.com para obter as instruções de utilização na sua língua.

1. Aplicação
O Fungitell STAT® é um ensaio colorimétrico à base de zimogénio de proteáse, concebido para a deteção qualitativa de (1→3)-β-D-glucano em soro de pacientes com sintomas de infeção fúngica invasiva ou com condições clínicas que predisponham os pacientes a tal infeção. A concentração sérica de (1→3)-β-D-glucano, um importante componente da parede celular de vários fungos importantes do ponto de vista médico¹, pode ser utilizada como auxiliar no diagnóstico de micoses profundas e fungemias². Um resultado positivo não indica o género do fungo que pode estar a causar a infeção.

Os valores de índice de (1→3)-β-D-glucano devem ser utilizados em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico, como culturas microbiológicas, exames histológicos de amostras de biopsias e exames radiológicos. *Este produto destina-se exclusivamente ao diagnóstico in vitro e à utilização profissional.*

2. Resumo e explicação
Existe uma incidência crescente de infeções fúngicas causadas por agentes patogénicos oportunistas, sobretudo em pacientes imunocomprometidos^{3,4,5}. As doenças fúngicas invasivas, como as infeções oportunistas, são frequentes em tumores malignos hematológicos e em pacientes com SIDA, e correspondem a um número crescente de infeções nosocomiais, sobretudo em pacientes submetidos a transplantes de órgãos e outros pacientes prescritos com tratamentos imunossupressores^{6,7}. Muitas doenças fúngicas são adquiridas por inalação de esporos fúngicos provenientes do solo, detritos de plantas, sistemas de tratamento do ar e/ou superfícies expostas. Alguns fungos oportunistas estão presentes no interior da pele ou na sua superfície, no trato intestinal e nas membranas mucosas^{8,9}. O diagnóstico de micoses e fungemias invasivas baseia-se normalmente em técnicas não específicas de diagnóstico ou radiologia. Recentemente, foram adicionados marcadores biológicos de infeções fúngicas aos métodos de diagnóstico disponíveis².

Entre os agentes patogénicos fúngicos oportunistas, estão incluídos os seguintes: *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* e *Pneumocystis jirovecii*. O (1→3)-β-D-glucano produzido por estes e outros organismos pode ser detetado pelo ensaio Fungitell STAT®^{1,5,10,11}.

3. Princípio do procedimento
O Fungitell STAT® (n.º de catálogo: FT007; Associates of Cape Cod, Inc.) é uma modificação da conceção para o formato do ensaio Fungitell® (n.º de catálogo: FT001; Associates of Cape Cod, Inc. ou ACC). O ensaio Fungitell STAT® (dispositivo com a marca CE 2019) foi desenvolvido para satisfazer a necessidade de um único formato de teste descartável e de um tamanho de kit menor, em relação ao formato de placa de 96 orifícios do ensaio Fungitell® (dispositivo predicado nos EUA, com a marca CE de 2008).

O ensaio Fungitell STAT® fornece uma medição qualitativa do (1→3)-β-D-glucano. O ensaio é baseado numa modificação da via do lisado de amebócito de *Limulus* (LAL)^{12,13,14,15}, **Figura 1.** O Reagente Fungitell STAT® é modificado para eliminar a reatividade das endotoxinas bacterianas e, portanto, reagir apenas ao (1→3)-β-D-glucano através do lado da via mediado pelo fator G. O (1→3)-β-D-glucano ativa o fator G, um zimogénio de proteáse de serina. O fator G ativado converte a enzima de pró-coagulação inativa na enzima de coagulação ativa, que, por sua vez, cliva a paranitroanilida Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, criando um cromóforo, a paranitroanilina (pNA), que se absorve a 405 nm. O ensaio cinético Fungitell STAT® infracitado é baseado na determinação da taxa de aumento da densidade ótica produzida por uma amostra de soro de paciente. Esta taxa é comparada com a taxa de aumento da densidade ótica do Padrão Fungitell STAT®, para produzir um índice. O Padrão Fungitell STAT® é calibrado a 80 +/- 8 pg/ml, que é o valor-limite positivo para o ensaio Fungitell®. Este valor de índice de amostra de soro de paciente é interpretado qualitativamente como um resultado negativo, indeterminado ou positivo, de acordo com os intervalos de valores de índice fornecidos na **tabela 1** abaixo apresentada.

Figura 1. Via do lisado de amebócito de *Limulus*

Tabela 1. Intervalos do índice do Fungitell STAT®		
Resultado		Valor de índice
Negativo		≤ 0,74
Indeterminado		0,75 a 1,1
Positivo		≥ 1,2

4. Materiais fornecidos com o produto Fungitell STAT®
O produto Fungitell STAT® destina-se ao diagnóstico *in vitro*.

Os seguintes materiais fornecidos com cada produto são suficientes para um total de 10 reações (com base nos 10 tubos de Reagente Fungitell STAT®). Cada produto também contém cinco tubos de Padrão Fungitell STAT®.

- Reagente Fungitell STAT®, um LAL específico de (1→3)-β-D-glucano liofilizado (10 tubos)
O Reagente Fungitell STAT® é composto por lisado de amebócito de Limulus (ou seja, por Limulidae), substrato colorimétrico de Boc-Leu-Gly-Arg-pNA e tampão Tris. Não contém proteínas de seres humanos ou de mamíferos. O Reagente Fungitell STAT® está isento de níveis interferentes de (1→3)-β-D-glucano.
- O Padrão de Glucano Fungitell STAT® (cinco tubos) (1→3)-β-D-glucano liofilizado.
O Padrão de Glucano Fungitell STAT® é composto por D-lactose e (1→3)-β-D-glucano derivado do extrato de levedura de Saccharomyces cerevisiae.
Controlo interno: A concentração de (1→3) β-D-glucano do Padrão Fungitell STAT® está calibrada para o valor-limite positivo do produto Fungitell® (predicado nos EUA, com a marca CE de 2008) e em conformidade com um padrão de referência interna. O Padrão Fungitell STAT® contém uma quantidade conhecida de glucano. Os valores resultantes estão descritos na secção “Controlo da qualidade” e servem como controlo interno para o ensaio Fungitell STAT®.
- Instruções de utilização
- Guia visual rápido

5. Materiais necessários mas não fornecidos
Nenhum material pode conter glucano interferente.

- Água de reagente de LAL* (frasco de 5,5 ml, catálogo n.º W0051-10)
- Solução alcalina de pré-tratamento de 0,125 M de KOH e 0,6 M de KCl* (frasco de 2,5 ml, catálogo n.º APS51-5)
- Pipetas com capacidade para administrar volumes de 20 a 200 µL e de 100 a 1000 µL
- Pontas de pipetas* (250 µL, catálogo n.º PPT25, 1000 µL, catálogo n.º PPT10)
- Pontas de pipetas longas* (20 a 200 µL, catálogo n.º TPT50)
- Tubos de ensaio* para preparar amostras de pacientes e combinar a solução de soro de pré-tratamento. (12 x 75 mm, catálogo n.º TB240-5)
- Leitor de tubos e software de ensaios cinéticos
 - PKF08 Incubating 8-Well Tube Reader (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)** com Beta Glucan Analytics (BG Analytics® ou BG Analytics® Software), BG Analytics® Manual do Software BG Analytics® Protocolo de Verificação do Sistema** (BGA007, Associates of Cape Cod, Inc.). O dispositivo PKF08 e o software BG Analytics® são fornecidos pela Associates of Cape Cod, Inc. (catálogo n.º PKF08-PKG**). O PKF08-PKG foi validado para a utilização com o teste Fungitell STAT®, **ou**
 - Leitor de tubos de incubação (37 °C), capaz de ler a 405 e 495 nm, com uma gama de unidades de absorvência de pelo menos 0 a 1,0, em conjunto com um software de ensaios cinéticos desenvolvido para computadores, capaz de analisar a cinética da reação, assim como auxiliar na revisão dos critérios listados na secção “Controlo da qualidade” das instruções de utilização.
- Tubos esterilizados, sem glucano, para a aliquotagem de amostras. Podem ser utilizados tubos certificados como sendo isentos de RNAase, DNase e pirogénios.
- Parafilm®

** Estes produtos, fornecidos pela Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), estão certificados como isentos de níveis de glucanos interferentes.*

*** É possível fazer o download dos manuais do utilizador a partir do website da ACC, nomeadamente: www.fungitell.com.*

- Conservação dos reagentes**
 - ConsERVE o kit, conforme fornecido na embalagem original, entre 2 °C e 8 °C ao abrigo da luz solar.
 - O Reagente Fungitell STAT® e o Padrão Fungitell STAT® foram produzidos para a utilização até uma hora após a reconstituição.
- Advertências e precauções**

 - Não pipetar nenhum material com a boca. Não fumar, comer nem beber nas áreas de manuseamento de amostras ou reagentes do kit.
 - Cumprir os regulamentos de segurança operacionais e locais.
 - Usar luvas de proteção ao manusear amostras biológicas que possam ser infecciosas ou perigosas. As mãos enluvasadas devem ser consideradas contaminadas em todos os momentos; manter as mãos enluvasadas longe dos olhos, da boca e do nariz. Usar óculos de proteção e uma máscara cirúrgica se houver uma possibilidade de contaminação por aerossóis.
 - Não utilizar produtos com conteúdo danificado.
 - Eliminação: Os resíduos de produtos químicos e preparações são geralmente considerados perigosos. A eliminação deste tipo de resíduo é regulada por leis e regulamentos nacionais e regionais. Entrar em contacto com as autoridades ou empresas de gestão de resíduos locais para obter conselhos sobre a eliminação de resíduos perigosos.
 - É possível fazer o download das **fichas de dados de segurança** do Reagente Fungitell STAT®, Padrão Fungitell STAT®, água de reagente de LAL e solução alcalina de pré-tratamento, a partir do website da ACC, nomeadamente: www.acciusa.com.

7.1 Precauções procedimentais
O ensaio Fungitell STAT® requer uma atenção rigorosa à técnica e ao ambiente de realização de testes. A formação profissional completa do técnico sobre o método de ensaio e as formas de evitar a contaminação é fundamental para a eficácia do ensaio.

- Prepare um ambiente limpo onde realizar o ensaio.
- Ter em atenção que o glucano, assim como a contaminação por partículas fúngicas provenientes do corpo humano, vestuário, recipientes, água e poeiras aéreas, pode interferir com o ensaio Fungitell STAT®.
- As possíveis fontes de contaminação incluem materiais com celulose, como gazes, toalhetes de papel e papelão, pipetas de vidro com tampões de algodão e pontas de pipetas com filtros de celulose. As ligaduras de gaze e compressas cirúrgicas também podem segregar grandes quantidades de (1→3)-β-D-glucano^{21,22}. Em relação a outras fontes de contaminação relacionadas com o paciente, consultar a secção “Limitações” do teste.
- Usar imediatamente os frascos abertos com uma solução alcalina de pré-tratamento e água de reagente de LAL e não voltar a usar estes materiais caso haja receio de contaminação.
- O Reagente Fungitell STAT® e o Padrão Fungitell STAT® são lançados no mercado como um lote emparelhado. Por este motivo, não se deve usar nenhum componente do Reagente Fungitell STAT® e Padrão Fungitell STAT® de outros lotes de produtos. Portanto, é recomendável eliminar quaisquer produtos restantes de Padrão Fungitell STAT®, quando todos os tubos de Reagente Fungitell STAT® contidos num pacote tiverem sido usados.

- Não utilizar reagentes após o fim do prazo de validade.

7.2 Manuseamento de amostras

- A colheita de sangue e a preparação de soro devem ser realizadas de acordo com os regulamentos locais aplicáveis. Colheita de amostras: As amostras de sangue podem ser colhidas em tubos de preparação de soro ou tubos com separador de soro (SST) esterilizados, para a preparação do soro.
- Conservação de amostras: As amostras de soro podem ser conservadas a uma temperatura de 2 a 8 °C por um período de até 15 dias, ou congeladas a -20 °C por até 27 dias ou a -80 °C por até 4 anos.
- Rotulagem de amostras: As amostras devem ser rotuladas de forma clara, em conformidade com as práticas aprovadas pela instituição médica (laboratório).

7.3 Observações sobre a realização de testes:

- Respeitar as boas práticas laboratoriais de acordo com os regulamentos locais. Este ensaio é sensível à contaminação e à inexistência da pipetagem.
- Para assegurar a segurança do operador enquanto este trabalha com amostras de soro, e para reduzir o potencial de contaminação do ambiente por (1→3)-β-D-glucano durante o processo, recomenda-se trabalhar numa câmara de segurança biológica.
- Para reduzir os movimentos desnecessários de frascos de vidro dentro e fora da câmara de segurança biológica, recomenda-se transportar o agitador dentro da câmara de segurança biológica (desde que o fluxo de ar crítico seja mantido).
- Recomenda-se utilizar pontas de pipetas longas para ajudar a evitar a contaminação cruzada entre frascos.
- O Padrão Fungitell STAT® (tampa vermelha e rótulo de linha vermelha) deve ser sempre processado nas mesmas condições e ao mesmo tempo que a(s) amostra(s) do(s) paciente(s) no decorrer de uma sequência. Isto é fundamental, visto que o resultado do ensaio é um índice (amostra/padrão) das taxas de reação cinética (ou declives, OD/segundo) a partir da amostra do paciente e do Padrão Fungitell STAT®.
- Recomenda-se utilizar suportes de tubos separados durante o procedimento; um para os tubos de preparação de amostras e um para os tubos de reagentes, para evitar confusão e contaminação cruzada.
- Recomenda-se colocar o Padrão Fungitell STAT® numa posição definida e consistente dentro do suporte de tubos, da incubadora e do leitor. No leitor PKF08, utilizar o primeiro orifício à esquerda, rotulado de “Standard”.
- No final de cada passo da mistura, confirmar visualmente que a solução está misturada de forma homogênea.

8. Procedimento
O produto Fungitell STAT® contém um guia visual rápido com ilustrações e um resumo das funcionalidades do instrumento PKF08 e do software BG Analytics®.

Os seguintes procedimentos já estão predefinidos ao utilizar o dispositivo PKF08 e o software BG Analytics®. Configuração do dispositivo, avaliação dos resultados e controlo da qualidade. Para obter mais informações, consultar o Manual do Utilizador do BG Analytics® Software ou entrar em contacto com o fabricante.

8.1 Configuração do instrumento e programação de testes

8.1.1 Ao utilizar o instrumento PKF08 com o software BG Analytics®, fazer o seguinte:
Ligar o dispositivo e seguir as instruções do software BG Analytics®. Para obter informações detalhadas, consultar o manual do BG Analytics®.

8.1.2 Ao utilizar outro instrumento e software, as seguintes condições deverão ser cumpridas:

- O instrumento deve ser capaz de alcançar e manter uma temperatura de 37 °C ± 1 °C.
- O instrumento e o software devem ser capazes de ler a densidade ótica ao longo do tempo (modo cinético) em dois comprimentos de ondas. Especificamente, estes comprimentos de ondas devem ser configurados para 405 e 495 nm.
- Configurar o modo cinético para um comprimento de leitura de 40 minutos (2400 segundos). Configurar o intervalo de leitura cinética para o mínimo permitido pelo software/instrumento.
- A medição deve ser iniciada imediatamente após a inserção da amostra.
- Consultar o manual do software para determinar como calcular uma medição da taxa (declive) a partir do conjunto de dados. Para efeitos deste teste, isto é geralmente alcançado através da execução de uma regressão linear com os dados cinéticos durante o período de tempo sugerido. Configurar o cálculo da regressão linear para ser executado durante o intervalo de 1900 a 2400 segundos, utilizando a função “Slice” do software.

8.2 Rotulagem de tubos

- Rotular um tubo vazio para cada amostra de soro de paciente a ser testada.
- Rotular um tubo de Reagente Fungitell STAT® para cada amostra de soro de paciente a ser testada.
- Rotular um tubo de Reagente Fungitell STAT® para o Padrão Fungitell STAT®.

8.3 Preparação de amostras de soro de pacientes

- Misturar as amostras do paciente no agitador por pelo menos 20 segundos para assegurar a homogeneidade.
Observação: *O processo de congelação pode produzir a heterogeneidade da amostra devido à abstração da água do cristal de gelo crescente, excluindo assim os solutos.*
- Adicionar a amostra de soro do paciente e a solução alcalina de pré-tratamento numa proporção de 1:4 no correspondente tubo vazio rotulado. Os volumes recomendados são de 50 µL de amostra de paciente e 200 µL de solução alcalina de pré-tratamento.
Observação: *A solução alcalina de pré-tratamento converte glucanos de tripla hélice em glucanos de cadeia simples^{14,15} os quais são mais reativos no ensaio. Além disso, o pH alcalino serve para inativar as proteases e inibidores séricos que podem interferir com o ensaio²⁴.*
- Misturar no agitador durante 15 segundos e tapar.

8.4 Preparação do Padrão Fungitell STAT®
Observação: *Cada produto (conjunto de Padrão Fungitell STAT® e Reagente Fungitell STAT®) é testado e lançado no mercado de forma independente. Desta forma, é importante utilizar os volumes de reconstituição e a solução alcalina de pré-tratamento específicos do número do lote. Estes podem ser encontrados no rótulo do pacote do Padrão Fungitell STAT®, no certificado de análise do produto Fungitell STAT®, e no website da ACC. Recomendação: Antes de iniciar o teste, anotar estas informações no guia visual rápido fornecido.*

- Reconstituir um frasco de Padrão Fungitell STAT® com o volume específico do número do lote de água de reagente de LAL e misturar no agitador durante 15 segundos.
- Adicionar o volume de solução alcalina de pré-tratamento específico do número do lote.
- Misturar no agitador durante 15 segundos e tapar.

8.5 Incubação de pré-tratamento no leitor de tubos
Incubar os tubos de amostras de pacientes (do passo 8.3) e o frasco de Padrão Fungitell STAT® (do passo 8.4) durante 10 minutos, a 37 °C.

Observação: Ao utilizar o instrumento PKF08, durante a inserção de um tubo num orifício, um indicador muda a cor de vermelho para verde. Empurrar completamente o tubo até o indicador ficar verde.

Atenção: os tubos são frágeis. Em caso de penetração de fragmentos de vidro e líquidos numa estação de medição do PKF08, entrar em contacto com o departamento de assistência técnica da Associates of Cape Cod, Inc.

8.6 Preparação de tubos de Reagente Fungitell STAT®

- Reconstituir cada um dos frascos de Reagente Fungitell STAT® (rotulados no passo 8.2 acima apresentado) com 300 µL de água de reagente de LAL.
- Misturar suavemente no agitador por **não mais** de cinco segundos.
Observação: *O Reagente Fungitell STAT® contém diversas proteínas ativas necessárias para o ensaio e recomenda-se lidar cuidadosamente com a solução. Recomenda-se uma configuração máxima de 2000 RPM para qualquer agitador. Não agitar demais.*
- No final da pré-incubação:
 - Transferir 75 µL de cada solução de amostra de soro de paciente para o tubo de Reagente Fungitell STAT® correspondente.
 - Transferir 75 µL de Padrão Fungitell STAT® para o tubo de Reagente Fungitell STAT® correspondente.
 - Misturar todos os tubos no agitador por **não mais** de cinco segundos e tapar.

8.7 Iniciar a sequência

- Inserir os tubos no leitor de tubos, confirmando que cada um está no orifício correto.
- Começar a leitura cinética por um período de 40 minutos, a 37 °C.

9 Cálculo dos resultados
9.1 Princípio da medição
Os resultados do teste Fungitell STAT® devem ser utilizados como auxiliares no diagnóstico de infeções fúngicas invasivas. As taxas predefinidas da amostra do paciente e do Fungitell STAT® são derivadas do cálculo do declive (taxa) entre 1900 e 2400, a partir dos resultados de 405 a 495 nm de OD Delta. Os resultados do índice Fungitell STAT® são obtidos a partir da divisão do declive da amostra do paciente pelo declive do Padrão Fungitell STAT® (visualizar a figura 2).

Figura 2. Exemplos de curvas cinéticas e análises de dados do Fungitell STAT®
A região destacada a cinzento é a área da determinação do declive (1900 a 2400 segundos), a linha sólida é um exemplo de uma amostra de paciente (PS) e a linha tracejada é o Padrão Fungitell STAT® (STD). O declive da amostra (isto é, 0,00022 OD/segundo) dividido pelo declive de 80 pg/ml do Padrão Fungitell STAT® (ou seja, 0,00016 OD/segundo) resulta num índice de 1,4 para a amostra.

9.2 Durante a utilização do PKF08 com o software BG Analytics®:

- A revisão dos critérios de qualidade é realizada automaticamente pelo software. O resultado é apresentado no relatório final.
- Para as sequências de testes válidos, o software BG Analytics® determina um valor de índice para cada amostra, ou atribui à amostra um resultado negativo ou positivo evidente.
- Se o software apresentar quaisquer indicações de parâmetros inválidos na avaliação de resultados, seguir as instruções descritas no manual do software BG Analytics®.

9.3 Durante a utilização de outro software:
Verificar se todos os critérios de controlo da qualidade são cumpridos.

10. Controlo da qualidade
A seguir, estão listados os critérios de controlo da qualidade para o Padrão Fungitell STAT® e os resultados da amostra de soro do paciente, incluindo exemplos de formas de curvas cinéticas previstas. Estes critérios de controlo da qualidade foram validados durante os estudos apresentados na secção “Funcionalidades de desempenho”.

- Para todos os números de orifícios,** confirmar a atribuição do número da amostra de Padrão Fungitell STAT®
- Para o resultado do Padrão Fungitell STAT®,**
 - o coeficiente de correlação (r) tem de ser ≥ 0,980 e
 - o declive tem de estar dentro do intervalo do declive previsto de 0,00010 a 0,00024 OD/segundo.*Se o resultado do Padrão Fungitell STAT® não cumprir os critérios n.º 1 e n.º 2, a sequência será inválida e todas as amostras deverão ser novamente preparadas e testadas.*

- Para todos os resultados da amostra do paciente, fazer o seguinte:**
 - Determinar se o resultado pode estar fora do intervalo de medição do teste**
 - O resultado estará provavelmente fora do intervalo no lado **positivo** se:
 - a interseção Y for positiva e
 - a curva cinética ultrapassar 0,4 OD antes de 1000 segundos.
 - O resultado estará provavelmente fora do intervalo no lado **negativo** se:
 - a curva cinética for positiva após 500 segundos e
 - tiver uma OD ≥ 0,00 e < 0,07 no final do teste.

*Se o resultado da amostra cumprir ambos os critérios para o resultado fora do intervalo no lado positivo ou negativo, os critérios gerais de controlo da qualidade abaixo descritos não precisarão de ser cumpridos, e o valor do índice **não deverá** ser calculado. Todos os resultados fora do intervalo no lado positivo devem ser comunicados como “positivos” e todos os resultados fora do intervalo no lado negativo devem ser comunicados como “negativos”.*

B. Se os critérios acima descritos não se aplicarem, verificar os critérios gerais de controlo da qualidade:

- A curva cinética tem de ser positiva após 500 segundos;
- A curva cinética tem de ter um OD ≥ 0,00 no final do teste;
- O declive deve ser numericamente positivo;
- O coeficiente de correlação (r) tem de ser ≥ 0,980 e
- A curva cinética deve ter uma forma de curva ascendente crescente, consistente com os exemplos apresentados na **figura 3**.

Se o resultado da amostra não cumprir os critérios gerais de controlo da qualidade n.º 1, 3–5, o resultado da amostra será inválido e a amostra deverá ser testada novamente. Alternativamente, deve-se utilizar um método diferente.

Se o resultado da amostra não cumpre os critérios de controlo da qualidade n.º 2, isto sugere que o sinal da amostra é baixo. Neste caso, o utilizador deve rever cuidadosamente a curva fornecida no respetivo contexto e determinar a validade dos resultados com base no sistema de qualidade interna do laboratório.

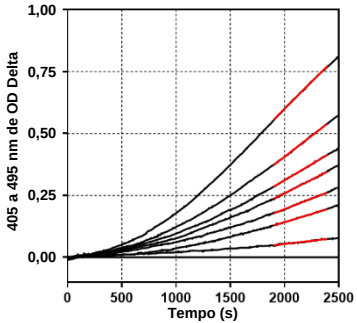


Figura 3. Exemplos de formas de curvas cinéticas adequadas

As curvas cinéticas devem ter uma forma de curva ascendente crescente, como nos exemplos acima ilustrados. Os exemplos de amostras aqui apresentados são de todo o intervalo do índice do ensaio Fungitell STAT®. Utilizar estes exemplos para rever os critérios de qualidade.

Observação:

- Cada utilizador do teste deve estabelecer um programa de controlo da qualidade para assegurar a proficiência no desempenho do teste, de acordo com os regulamentos aplicáveis à sua localização.
- Recomenda-se testar amostras de controlo sérico (negativo, próximo do valor-limite ou fortemente positivo) no contexto de verificações laboratoriais adicionais e das boas práticas laboratoriais. Estes não estão incluídos no kit Fungitell STAT®.

11. Interpretação dos resultados

- Resultado negativo**
Os valores de índice ≤ 0,74 são interpretados como resultados negativos.
O laboratório a realizar o teste deve informar o médico que solicitou o teste de que nem todas as infeções fúngicas produzem níveis elevados de (1→3)-β-D-glucano no soro. Alguns fungos, como os do género *Cryptococcus*^{16,17}, produzem níveis muito baixos de (1→3)-β-D-glucano. Não se conhece qualquer atividade de produção de (1→3)-β-D-glucano por *Mucorales*, como *Absidia*, *Mucor* e *Rhizopus*^{1,17}. De igual modo, o *Blastomyces dermatitidis*, na sua fase de levedura, produz pouco (1→3)-β-D-glucano, e os pacientes com blastomicose normalmente têm níveis indetetáveis de (1→3)-β-D-glucano no ensaio Fungitell STAT®¹⁸.
- Resultado indeterminado**
Os valores de índice de 0,75 a 1,1 são considerados inconclusivos (equivocos). Recomenda-se uma nova colheita e teste de soro. A colheita e o teste de amostras frequentes melhoram a utilidade do diagnóstico.
- Resultado positivo**
Os valores de índice ≥ 1,2 são interpretados como um resultado positivo. Um resultado positivo significa que se detetou (1→3)-β-D-glucano. Um resultado positivo não define a presença de doenças e deve ser utilizado em conjunto com outros resultados clínicos para se estabelecer um diagnóstico.

12. Limitações do teste

- As localizações da infeção fúngica nos tecidos⁷, a encapsulação e a quantidade de (1→3)-β-D-glucano produzida por determinados fungos podem afetar a concentração deste analito no soro. A capacidade reduzida de contribuição de (1→3)-β-D-glucano para a corrente sanguínea pode reduzir a capacidade de deteção de determinadas infeções fúngicas.
- Alguns indivíduos têm valores de índice de (1→3)-β-D-glucano que se situam na zona indeterminada. Nestes casos, recomenda-se um teste de vigilância adicional.
- A frequência de realização de testes ao paciente dependerá do risco relativo de infeção fúngica. Recomendam-se taxas de colheita de amostras de pelo menos duas a três vezes por semana nos pacientes em risco.
- Observaram-se resultados positivos em pacientes hemodialisados^{19,20,39}, participantes tratados com determinados derivados de sangue fracionado, como albumina e imunoglobulinas séricas^{23,24} e em amostras ou participantes expostos a gazes e compressas cirúrgicas que continham glucano. Após a exposição cirúrgica a compressas e gazes com (1→3)-β-D-glucano, os pacientes necessitam de três a quatro dias para a reposição dos níveis iniciais de (1→3)-β-D-glucano no soro^{21,22}. Da mesma forma, o momento da colheita de amostras a pacientes cirúrgicos deve ter este fator em consideração. Consulte uma revisão abrangente dos fatores que contribuem para resultados falsos positivos para o (1→3)-β-D-glucano em Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)⁴⁰.
- As amostras obtidas por métodos de picada no calcanhar ou dedo são inaceitáveis, uma vez que foi demonstrado que a compressa com álcool utilizada para preparar o local (e, potencialmente, a acumulação de sangue na superfície da pele) contamina as amostras. Nos estudos realizados até à data, não se observaram diferenças entre as amostras obtidas por colheitas em linha ou por venopunção^{25,26}.
- Os níveis de teste foram estabelecidos em participantes adultos. Estão a ser investigados os níveis normais e limite para bebés e pacientes pediátricos^{27,28}.

13. Características do desempenho

13.1 Valores previstos

- Sensibilidade e especificidade diagnósticas do método de referência do ensaio Fungitell®**
Um estudo potencialmente prospetivo, realizado para determinar a sensibilidade e especificidade diagnósticas do ensaio Fungitell® (predicado nos EUA, com a marca CE de 2008), demonstrou que os valores de (1→3)-β-D-glucano aumentam em várias infeções fúngicas. Quando surgem sinais e sintomas a um nível de 80 pg/ml ou superior, o valor

preditivo de que o participante é positivo para uma infeção fúngica varia entre 74,4 e 91,7%. Na ausência de sinais e sintomas em níveis inferiores a 60 pg/ml, os valores preditivos negativos variaram de 65,1 a 85,1%²⁹.

- Determinação dos valores-limite do Fungitell STAT®**

Para efeitos deste estudo, para a realização de testes Fungitell®, utilizaram-se amostras de soro de pacientes, congeladas e não identificadas, recebidas na Beacon Diagnostics Laboratory, Inc, colhidas com o objetivo de realizar os cuidados clínicos de rotina da população prevista. A Beacon Diagnostics Laboratory, Inc é um laboratório licenciado com a designação Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA), pertencente à Associates of Cape Cod (ACC). No estudo realizado, foi incluída uma população de 93 amostras de soro de pacientes, não identificadas, com concentrações de (1→3)-β-D-glucano distribuídas por todo o intervalo da curva de 31 a 500 pg/ml do Padrão Fungitell®. A avaliação dos valores-limite do Fungitell STAT® seguiu a análise das curvas ROC (curvas características da operação do recetor)³⁰. Os resultados indicaram que os valores de índice de β-glucano ≥ 1,2 do Fungitell STAT devem ser interpretados como um resultado positivo no alinhamento com os valores-limite de 80 pg/ml do produto Fungitell®, enquanto os valores de índice ≤ 0,74 devem ser interpretados como um resultado negativo no alinhamento com o valor-limite de 60 pg/ml do produto Fungitell®. Estes valores-limite foram validados como parte do estudo de comparação de métodos e de cálculo do acordo de percentagem negativa e do acordo de percentagem positiva abaixo apresentados.

13.2. Comparação de métodos

De forma semelhante ao estudo dos valores-limite, mas utilizando um conjunto diferente de amostras, para efeitos de comparação de métodos no decorrer deste estudo, foram utilizadas 488 amostras de soro de pacientes, congeladas e não identificadas, também com concentrações de (1→3)-β-D-glucano distribuídas por todo o intervalo da curva de 31 a 500 pg/ml do Padrão Fungitell®³⁰. Estes incluíram 309 amostras que se situaram dentro da zona negativa dos resultados do teste Fungitell®, 143 amostras que se situaram dentro da zona positiva do Fungitell® e 36 amostras que se situaram dentro da zona indeterminada do Fungitell® (**tabela 2**). Todas as amostras foram testadas com os ensaios Fungitell STAT® e Fungitell® durante este estudo. Quando as amostras situadas na zona indeterminada do Fungitell STAT® foram excluídas da análise, havia 290 amostras restantes para a análise do acordo de percentagem negativa e 119 amostras restantes para a análise do acordo de percentagem positiva.

Tabela 2. Desempenho do Fungitell STAT® em comparação com o Fungitell®				
		Fungitell®		
		Negativo	Indeterminado	Positivo
Fungitell STAT®	Negativo	283	17	1
	Indeterminado	19	17	24
	Positivo	7	2	118
	Total	309 (63,3%)	36 (7,4%)	143 (29,3%)
		NPA: 97,6%* (283/290) 95% de IC: (95,4, 99,9)		PPA: 99,2%* (118/119) 95% de IC: (95,4, 99,9)

**Resultados indeterminados (isto é, equívocos) não incluídos na análise; se todos os resultados indeterminados forem considerados resultados discordantes (por exemplo, falsos positivos ou falsos negativos), o desempenho será o seguinte: PPA - 73,8% (118/160), 95% de IC: (66,4%, 80,0%); NPA - 91,0% (283/311), 95% de IC: (87,3%, 93,7%)*

- Acordo de percentagem negativa**
Duzentas e oitenta e três (283) das duzentas e noventa (290) amostras que apresentaram resultados negativos, quando testadas com o dispositivo Fungitell®, também apresentaram resultados negativos com o ensaio Fungitell STAT®. O acordo de percentagem negativa calculado (NPA) com o método Fungitell® foi de 97,6% (intervalo de confiança de 95%: 95,4%, 99,9%) (**tabela 2**).
- Acordo de percentagem positiva**
Cento e dezoito (118) das 119 amostras que apresentaram resultados positivos, quando testadas com o dispositivo Fungitell®, também apresentaram resultados positivos com o ensaio Fungitell STAT®. O acordo de percentagem positiva calculado (PPA) com o método Fungitell® foi de 99,2% (intervalo de confiança de 95%: 95,4%, 99,9%) (**tabela 2**).
- Medição do intervalo, linearidade e precisão**
Os resultados do índice variaram de aproximadamente 0,4 a 3,5, abrangendo a curva padrão (31 a 500 pg/ml) do Fungitell®. A correlação linear entre a concentração do Fungitell® e os resultados do índice do Fungitell STAT® foi de 0,92 (intervalo de confiança de 95%: 89,9% e 93,6%).
Observação: Ao utilizar o PKF08 com o software BG Analytics®, o resultado do índice Fungitell STAT® é utilizado para determinar a categorização. É fornecido um valor estimado de pg/ml apenas para referência.

13.3 Estudo interlaboratorial analítico

O Fungitell STAT® foi avaliado em termos de precisão (isto é, a capacidade de repetição e reprodução), sensibilidade analítica e especificidade analítica, através da introdução de (1→3)-β-D-glucano de *Saccharomyces cerevisiae* em soro humano, a fim de produzir um painel de cinco membros composto por uma amostra negativa baixa, uma amostra negativa alta (ligeiramente inferior ao valor-limite inferior de 0,74), uma amostra indeterminada (equivoca), uma amostra positiva baixa (ligeiramente superior ao valor-limite superior de 1,2) e uma amostra positiva alta (~ 2x o valor-limite superior de 1,2). O painel foi distribuído por três laboratórios CLIA para realizar testes com o ensaio Fungitell STAT®. Cada laboratório forneceu 150 pontos de dados (ou seja, cinco amostras x triplo por sequência x dois operadores a realizar uma sequência por dia x cinco dias), perfazendo um total de 450 pontos de dados, incluindo 30 sequências (por outras palavras, ensaios) e 90 pontos de dados por amostra (isto é, membro de painel). Os valores médios do índice do estudo, apresentados na **tabela 3** disponível a seguir, são derivados dos dados fornecidos pelos três laboratórios. A coluna “Percentagem positiva” representa a percentagem de amostras para um determinado membro de painel que ficou situado dentro da zona positiva. Entre todos os três laboratórios, os resultados percentuais positivos foram de 1,1% para a amostra negativa baixa, 0% para a amostra negativa alta, 3,3% para a amostra indeterminada, 96,7% para a amostra positiva baixa e 100% para as amostras positivas altas.

Tabela 3. Estudo interlaboratorial analítico					
Membro de painel	Índice médio	Desvio padrão	% do CV	Percentagem positiva (Número pos./ Número testado)	Especificidade analítica (verdadeiro negativo) e sensibilidade analítica (verdadeiro positivo)
Negativo baixo	0,55	0,10	20,4%	1,1% (1/90)	89/90 Verdadeiro negativo
Negativo alto	0,75	0,08	11,1%	0% (0/90)	90/90 Verdadeiro negativo
Indeterminado	0,94	0,10	11,1%	3,3% (3/90)	87/90 Não positivo
Positivo baixo	1,6	0,30	18,7%	96,7% (87/90)	87/90 Verdadeiro positivo
Positivo alto	2,6	0,40	15,4%	100% (90/90)	90/90 Verdadeiro positivo

Tal como indicado na tabela 3, a variação entre ensaios (isto é, a percentagem do coeficiente de variação) variou entre 11 e 20,4%, e serviu como uma medida de reprodutibilidade. A variação entre ensaios variou de 0,4 a 26,8%, e serviu como uma medida de repetição. A distribuição do intervalo de percentagens do coeficiente de variação entre os ensaios está abaixo apresentada na **figura 4**. Em geral, 94% dos valores do coeficiente de variação foram de 10% ou menos, e 75% dos valores do coeficiente de variação foram de 6% ou menos.

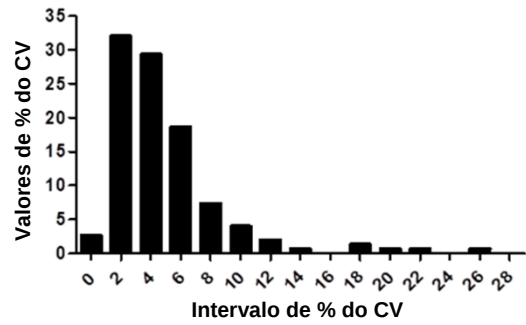


Figura 4. Distribuição dos valores de percentagem do coeficiente de variação entre os ensaios

13.4 Veracidade

Para cada lote do produto Fungitell STAT®, a concentração de (1→3)-β-D-glucano do Padrão Fungitell STAT® está calibrada para 80 +/- 8 pg/ml, utilizando o método de referência do Fungitell® e em contraste com um padrão de referência interna de (1→3)-β-D-glucano.

13.5 Substâncias interferentes

As seguintes condições de amostra podem interferir com a precisão de um resultado no ensaio Fungitell STAT®:

- As amostras decoradas ou turvas, como as amostras demasiado hemolisadas, lipémicas ou com bilirrubina excessiva, podem provocar uma interferência ótica com o ensaio. Se tais amostras forem testadas, os resultados dos testes deverão ser examinados pela existência de evidências de interferência ótica e/ou padrões cinéticos invulgares.
- Os níveis elevados de imunoglobulina G, como aqueles que podem existir no soro devido à presença de um mieloma múltiplo, podem causar precipitação na mistura de reação após a adição de Fungitell STAT® ao soro pré-tratado³¹.
- Quando estas informações foram redigidas, não foi descrito nenhum fator de ativação G (elemento de deteção de (1→3)-β-glucano) pelo Reagente Fungitell®, para além de (1→3)-β-glucano. Em alguns estudos em que foram feitas asserções de reatividade cruzada, o tratamento do suposto material de ativação com (1→3)-β-glucanase purificada eliminou o sinal, demonstrando que a ativação observada tinha ocorrido por cauda de (1→3)-β-glucano contaminante¹². A contaminação por protéase de serina também pode resultar na libertação de parantioanilina nas misturas reativas do Fungitell®, mas estas são desativadas como parte do processo de pré-tratamento.

14. Meta-análises

Além disso, foram publicados inúmeros estudos revistos por pares sobre o tema do suporte baseado em evidências do (1→3)-β-D-glucano em soro no diagnóstico de doenças fúngicas invasivas, incluindo meta-análises do desempenho do diagnóstico^{32,33,34,35,36,37,38,39}.

15. Legenda dos símbolos

	Prazo de validade		Consultar as instruções de utilização
	Conteúdo suficiente para “N” testes		Mandatários na UE
	Código do lote		Marca CE
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Apenas para utilização mediante prescrição médica
	N.º de catálogo		Atenção
	Limites de temperatura		Manter ao abrigo da luz solar
	Fabricante		Importador
	Mandatários da Suíça		

16. Mandatários/Importador

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

	Mandatários da Suíça MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Suíça
	Importador MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Países Baixos

Promotor australiano:
Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park
201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Austrália

Observação: Qualquer incidente grave que ocorra em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-membro em que o utilizador e/ou paciente reside.

17. Informações de contacto

Sede da empresa
Associates of Cape Cod, Inc.
124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 EUA
Tel: (888) 395-2221 ou (508) 540-3444, Fax: (508) 540-8680
E-mail: 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
E-mail: info@acciuuk.co.uk • www.acciuuk.co.uk

18. Historial de revisões

Rev 1-3: Foram adicionados o número de catálogo PKF08-PKG e as respetivas instruções; detalhes sobre o Padrão Fungitell STAT® como meio de controlo interno, informações de contacto, esclarecimentos e formação. Critérios gerais de controlo da qualidade n.º 3. Foram adicionados dados sobre a estabilidade da amostra e foi realizada a determinação do valor-limite; secções “Medição do intervalo, linearidade e precisão” e “Veracidade”. Rev 4: Alteração do mandatário na CE, alteração do valor 0,03 para 0,00 na secção de controlo de qualidade e alterações menores para clarificação. Rev. 5: Removido REP CE Emergo Europe. Rev. 6: Atualização dos símbolos utilizados. Adição de MedEnvoy como importador na UE e remoção de ACC Europe GmbH da secção 17. Atualização dos símbolos utilizados. Adição de EC-REP, Importador Suíço e de nome e endereço CH-REP. Rev 7: Esclarecimento sobre o armazenamento de reagentes. Adição de que é fornecida uma estimativa de Fungitell; pg/ml com o relatório PKF08-BGA, atualização do logótipo e referência ao sítio Web da ACC em www.fungitell.com para acesso à rotulagem.

19. Bibliografia

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
- De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P., et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
- Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.
- Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H. Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
- Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
- Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
- Lass-Flori, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M. and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
- Litvinseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgurich, D.E., Kerkerling, 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 ameocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
- Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
- Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.
- Binder, U., Maurer, E., and Lass-Flori, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
- Girouard, G., Lachance, C., and Pelletier, R. 2007. Observations of (1→3)-β-D-Glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by Histoplasma or Blastomyces. J. Med. Mycology 56: 1001-1002.
- Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
- Kato, A., Takita, T., Furuhashi, M., Takahashi, T., Manuyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.
- Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hata, 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 gaeze types. Tohoku J. Exp. Med. 217: 117-121.
- Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cocanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.
- Held J, Wagner D.β-D-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2011;17:1118-22.
- Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-β-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. Int. J. Hematol. 80: 97-98.
- Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, I., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3-(beta)-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. J. Med. Microbiol. 2010; 59:1016-22.

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 STATTM, 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