



1. Beoogd gebruik

De Fungitell STAT®-assay is een colorimetrische assay op basis van een proteasezymogeen voor de kwalitatieve detectie van (1→3)-β-D-glucaan in het serum van patiënten met symptomen van een invasieve schimmelinfectie of met medische aandoeningen waardoor ze vatbaar zijn voor een dergelijke infectie. De serumconcentratie van (1→3)-β-D-glucaan, een belangrijke celwandcomponent van verscheidene medisch significante schimmels¹, kan worden gebruikt als hulpmiddel bij de diagnose van diepe mycosen en fungemieën². Een positief resultaat geeft niet aan door welk schimmelgeslacht de infectie mogelijk veroorzaakt wordt.

Indexwaarden van (1→3)-β-D-glucaan moeten worden gebruikt in combinatie met andere diagnostische procedures, zoals een microbiologische kweek, histologisch onderzoek van bipten en radiologisch onderzoek. *Dit product is uitsluitend bestemd voor professioneel gebruik bij in-vitrodiagnostiek.*

2. Samenvatting en uitleg

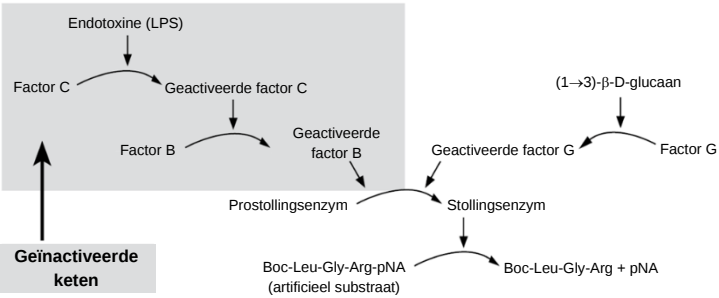
Er is een toename van de incidentie van schimmelinfecties door opportunistische pathogenen, vooral bij patiënten met een gecompromitteerd immuunsysteem^{3,4,5}. Invasieve schimmelziekten, zoals opportunistische infecties, komen vaak voor bij patiënten met hematologische maligniteiten en aids. Ze zijn verantwoordelijk voor een groeiend aantal nosocomiale infecties, vooral bij ontvangers van een orgaantransplantaat en andere patiënten die met immunosuppressiva behandeld worden^{6,7}. Veel schimmelziekten worden opgelopen door het inademen van schimmelsporen uit de bodem, plantaardig detritus, luchtbehandelingsystemen en/of blootgestelde oppervlakken. Sommige opportunistische schimmels bevinden zich in/op de menselijke huid, het darmkanaal en de slijmvliezen^{8,9}. De diagnose van invasieve mycosen en fungemieën gebeurt gewoonlijk op basis van niet-specifieke diagnostische of radiologische technieken. Recentelijk zijn biologische markers van schimmelinfecties toegevoegd aan de beschikbare diagnostische methoden².

Opportunistische schimmelpathogenen zijn onder andere *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* en *Pneumocystis jirovecii*. Het (1→3)-β-D-glucaan dat door deze en andere organismen wordt geproduceerd, kan door de Fungitell STAT®-assay worden gedetecteerd^{1,5,10,11}.

3. Werkingsprincipe

De Fungitell STAT®-assay (cat.nr. FT007, Associates of Cape Cod, Inc.) is een aanpassing van het ontwerp van het Fungitell®-assayformaat (cat.nr. FT001, Associates of Cape Cod, Inc. of ACC). De Fungitell STAT®-assay (hulpmiddel met CE-markering sinds 2019) is ontwikkeld om te beantwoorden aan de vraag naar een testformaat voor eenmalig gebruik en een kleinere kit ten opzichte van het 96-wellsplaatformaat van de Fungitell®-assay ('predicate device' in de VS en hulpmiddel met CE-markering sinds 2008).

De Fungitell STAT®-assay biedt een kwalitatieve bepaling van (1→3)-β-D-glucaan. De assay is gebaseerd op een wijziging van de reactieketen van het *Limulus*-amoebocytenlysaat (LAL)^{12,13,14,15}, **afbeelding 1**. Het Fungitell STAT®-reagens is zodanig gewijzigd dat het niet reageert op bacteriële endotoxinen en dus alleen reageert op (1→3)-β-D-glucaan, via de door factor G gemedieerde zijde van de reactieketen. (1→3)-β-D-glucaan activeert factor G, een zymogeen van serineprotease. De geactiveerde factor G zet het inactieve prostollingsenzym om in het actieve stollingsenzym, dat op zijn beurt het paranitroanilide Boc-Leu-Gly-Arg-pNA splitjt, waardoor een chromofoor, paranitroaniline (pNA), ontstaat die bij 405 nm absorbeert. De hieronder beschreven kinetische Fungitell STAT®-assay is gebaseerd op de bepaling van de snelheid van de door een serummonster van een patiënt geproduceerde toename in optische dichtheid. Deze snelheid wordt vergeleken met de snelheid van de toename in optische dichtheid van de Fungitell STAT®-standaard om een index te produceren. De Fungitell STAT®-standaard is gekalibreerd op 80 +/- 8 pg/ml en dit is de afkapwaarde voor een positief resultaat voor de Fungitell®-assay. Deze indexwaarde van het patiëntenserummonster wordt kwalitatief geïnterpreteerd als een negatief, onbepaald of positief resultaat volgens het bereik van de indexwaarden zoals vermeld in **tabel 1** hieronder.



Afbeelding 1. Reactieketen van het *Limulus*-amoebocytenlysaat

Tabel 1. Indexbereikwaarden Fungitell STAT®		
Resultaat		Indexwaarde
Negatief		≤ 0,74
Onbepaald		0,75–1,1
Positief		≥ 1,2

4. Met het Fungitell STAT®-product meegeleverde materialen

Het Fungitell STAT®-product is bestemd voor gebruik bij *in-vitro*diagnostiek.

De volgende, met elk product meegeleverde materialen zijn voldoende voor in totaal 10 reacties (gebaseerd op de 10 buisjes met Fungitell STAT®-reagens). Elk product bevat ook 5 buisjes met Fungitell STAT®-standaard.

- Fungitell STAT®-reagens, een gelyofiliseerd LAL specifiek voor (1→3)-β-D-glucaan (10 buisjes) *Het Fungitell STAT®-reagens bestaat uit amoebocytenlysaat van Limulus (d.w.z. degenkrab), het colorimetrische substraat Boc-Leu-Gly-Arg-pNA en Tris-buffer. Het bevat geen eiwitten van mens of zoogdieren. Fungitell STAT®-reagens is vrij van storende concentraties (1→3)-β-D-glucaan.*
- Fungitell STAT®-glucaanstandaard (5 buisjes) gelyofiliseerd (1→3)-β-D-glucaan. *De Fungitell STAT®-glucaanstandaard bestaat uit D-lactose en (1→3)-β-D-glucaan verkregen uit extract van de gist Saccharomyces cerevisiae.* *Interne controle: De (1→3)-β-D-glucaanconcentratie van de Fungitell STAT®-standaard is gekalibreerd op de positieve limietwaarde van het Fungitell®-product ('predicate device' in de VS en hulpmiddel met CE-markering sinds 2008) en ten opzichte van een interne referentiestandaard. De Fungitell STAT®-standaard bevat een bekende hoeveelheid glucaan. De resulterende waarden worden beschreven in het hoofdstuk Kwaliteitscontrole en fungeren als interne controle voor de Fungitell STAT®-assay.*
- Gebruiksaanwijzing
- Beknopte visuele handleiding

5. Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Alle materialen moeten vrij zijn van storend glucaan.

- LAL-reagenswater* (flesje van 5,5 ml, catalogusnr. W0051-10)
- Alkalische voorbehandelingsoplossing 0,125 mol KOH en 0,6 mol KCl* (flesje van 2,5 ml, catalogusnr. APS51-5)
- Pipetten waarmee een volume van 20–200 µl en 100–1000 µl kan worden afgegeven
- Pipetpunten* (250 µl, catalogusnr. PPT25, en 1000 µl, catalogusnr. PPT10)
- Lange pipetpunten* (20–200 µl, catalogusnr. TPT50)
- Reageerbuisjes* voor het voorbereiden van patiëntenmonsters en het combineren ervan met serumvoorbehandelingsoplossing (12 x 75 mm, catalogusnr. TB240-5)
- Buisjeslezer en software voor kinetische assays
 - PKF08 8-wells incubator-buisjeslezer (PKF08-1, Lab Kinetics, LLC)** met Beta Glucan Analytics (BG Analytics® of BG Analytics®-software), BG Analytics®-softwarehandleiding en BG Analytics®-systeemverificatieprotocol** (BGA007, Associates of Cape Cod, Inc.). Het PKF08-hulpmiddel en de BG Analytics®-software worden geleverd door Associates of Cape Cod, Inc. (catalogusnr. PKF08-PKG**). De PKF08-PKG is gevalideerd voor gebruik met de Fungitell STAT®-test. **O**f
 - Incubator-buisjeslezer (37 °C) geschikt voor aflezing bij 405 nm en 495 nm met een bereik van ten minste 0-1,0 extinctie-eenheden, samen met geschikt software voor computergebaseerde kinetische assays die in staat is om de reactiekinetiek te analyseren en tevens de beoordeling ondersteunt van de criteria vermeld in het hoofdstuk Kwaliteitscontrole van de gebruiksaanwijzing.
- Steriele, glucaanvrije buisjes voor het aliquoteren van monsters. Buisjes die gecertificeerd RNase-, DNase- en pyrogeenvrij zijn, kunnen worden gebruikt.
- Parafilm®

** Deze door Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) geleverde producten zijn gecertificeerd vrij van storende glucanen.*

***Gebruikershandleidingen zijn te downloaden van de website van ACC: www.fungitell.com.*

6. Opslag van reagentia

- Bewaar de kit, zoals geleverd in de originele verpakking, bij 2-8 °C uit de buurt van zonlicht.
- Fungitell STAT®-reagens en Fungitell STAT®-standaard moeten binnen 1 uur na reconstitutie worden gebruikt.

7. ⚠️ Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- Pipetteer materiaal niet met de mond. Rook, eet of drink niet in ruimten waar met monsters of reagentia uit de kit wordt gewerkt.
- Volg de operationele en lokale veiligheidsvoorschriften.
- Draag beschermende handschoenen tijdens het hanteren van biologische monsters die infectieus of gevaarlijk kunnen zijn. De gehandschoende handen moeten te allen tijde als besmet worden beschouwd; houd uw gehandschoende handen uit de buurt van uw ogen, mond en neus. Draag oogbescherming en een chirurgisch masker als er kans is op besmetting door aerosolen.
- Producten met beschadigde inhoud mogen niet worden gebruikt.
- Afvalverwijdering: Resten van chemicaliën en preparaten worden doorgaans beschouwd als gevaarlijk afval. De afvoer van dit soort afval wordt gereguleerd door nationale en regionale wetten en voorschriften. Neem contact op met de lokale autoriteiten of afvalverwerkingsbedrijven voor advies over het afvoeren van gevaarlijk afval.
- De veiligheidsinformatiebladen** voor het Fungitell STAT®-reagens, de Fungitell STAT®-standaard, het LAL-reagenswater en de alkalische voorbehandelingsoplossing zijn te downloaden van de website van ACC: www.acciusa.com.

7.1 Voorzorgsmaatregelen voor de procedure

De Fungitell STAT®-assay vereist strikte aandacht voor de techniek en de testomgeving. Het is cruciaal voor de effectiviteit van de assay dat de technicus goed opgeleid is in de assaymethode en in het voorkomen van verontreiniging.

- Zorg dat de omgeving waarin de assay wordt uitgevoerd, schoon is.
- Denk eraan dat de Fungitell STAT®-test kan worden verstoord door verontreiniging met glucaan en schimmeldeeltjes afkomstig van het menselijke lichaam, kleding, houders, water en in lucht aanwezig stof.
- Mogelijke bronnen van verontreiniging zijn onder andere cellulosebevattende materialen zoals gaas, papieren doekjes en karton, glazen pipetten met wattenpropen en pipetpunten met cellulosefilters. Chirurgisch gaasverband en sponzen kunnen ook grote hoeveelheden (1→3)-β-D-glucaan afscheiden^{21,22}. Zie de paragraaf Beperkingen van de test voor andere patiëntgerelateerde bronnen van verontreiniging.
- Gebruik de open flesjes met alkalische voorbehandelingsoplossing en LAL-reagenswater onmiddellijk, en als mogelijk verontreiniging reden tot bezorgdheid is, mag u deze materialen niet opnieuw gebruiken.
- Het Fungitell STAT®-reagens en de Fungitell STAT®-standaard worden als een gepaarde batch geleverd. Daarom mogen geen Fungitell STAT®-reagens- en Fungitell STAT®-standaardcomponenten uit andere productbatches worden gebruikt. Het wordt daarom aanbevolen om eventuele resterende Fungitell STAT®-standaard af te voeren zodra alle buisjes met Fungitell STAT®-reagens in een verpakking zijn opgebruikt.
- Gebruik geen materialen waarvan de vervaldatum is verstreken.

7.2 Hanteren van monsters

- Bloedafname en bereiding van serum dienen te worden uitgevoerd in overeenstemming met de toepasselijke lokale voorschriften. Monstername: Bloedmonsters kunnen worden afgenomen in steriele serumbereidingsbuisjes of serumscheidingsbuisjes (SST-buisjes) voor de bereiding van serum.
- Opslag van monsters: Serummonsters kunnen maximaal 15 dagen bij 2–8 °C worden bewaard, of in bevroren toestand maximaal 27 dagen bij -20 °C of maximaal 4 jaar bij -80 °C.
- Etikettering van monsters: Monsters moeten duidelijk worden geëtiketteerd volgens de erkende praktijken van de medische instelling (laboratorium).

7.3 Opmerkingen over het testen:

- Pas goede laboratoriumpraktijken toe volgens de lokale voorschriften. Deze assay is gevoelig voor verontreiniging en onnauwkeurig pipetteren.
- Het wordt aanbevolen in een bioveiligheidskast te werken, om de veiligheid van de gebruiker tijdens het werken met serummonsters te waarborgen en de kans op verontreiniging door (1→3)-β-D-glucaan uit de omgeving tijdens de procedure te verkleinen.
- Het wordt aanbevolen het vortexapparaat in de bioveiligheidskast te plaatsen, om onnodige verplaatsingen van glazen flesjes in en uit de bioveiligheidskast te beperken (mits de kritische luchtstroom wordt gehandhaafd).
- Het wordt aanbevolen lange pipetpunten te gebruiken, om kruisbesmetting tussen flesjes te helpen voorkomen.
- Een buisje met Fungitell STAT®-standaard (rode dop en etiket met rode lijn) dient altijd onder dezelfde omstandigheden en op hetzelfde moment als het/de patiëntenmonster(s) binnen een run te worden verwerkt. Dit is van cruciaal belang omdat het resultaat van de assay een index (monster/standaard) is van de kinetische reactiesnelheden (of hellingen, OD/s) van het patiëntenmonster en de Fungitell STAT®-standaard.
- Het wordt aanbevolen tijdens de procedure afzonderlijke reageerbuisrekjes te gebruiken, één voor de monsterbereidingsbuisjes en één voor de reagensbuisjes, om verwarring en kruisbesmetting te voorkomen.
- Het wordt aanbevolen de Fungitell STAT®-standaard op een vastgestelde en consistente plek in het reageerbuisjesrek, de incubator en de lezer te plaatsen. Gebruik in de PKF08-lezer de eerste well aan de linkerkant, met de aanduiding 'Standard'.
- Controleer na elke mengstap visueel of de oplossing homogeen is gemengd.

8. Procedure

Het Fungitell STAT®-product bevat een beknopte visuele handleiding met illustraties en een overzicht van de kenmerken van het PKF08-instrument en de BG Analytics®-software.

Bij gebruik van het PKF08-hulpmiddel en de BG Analytics®-software zijn de volgende procedures al vooringesteld: instelling van het hulpmiddel, evaluatie van resultaten en kwaliteitscontrole. Zie voor meer informatie de gebruikershandleiding van de BG Analytics®-software of neem contact op met de fabrikant.

8.1 Instrumentinstelling en testprogrammering

8.1.1 Bij gebruik van de PKF08 met BG Analytics®-software:
Zet het hulpmiddel aan en volg de instructies van de BG Analytics®-software. Zie de BG Analytics®-handleiding voor gedetailleerde informatie.

- Bij gebruik van een ander instrument en andere software moet aan de volgende voorwaarden worden voldaan:
 - Het instrument moet een temperatuur van 37 °C ± 1 °C kunnen bereiken en handhaven.
 - Het instrument en de software moeten de optische dichtheid in de tijd (kinetische modus) bij twee golflengten kunnen aflezen. Deze golflengten moeten specifiek worden ingesteld op 405 nm en 495 nm.
 - Stel de kinetische modus in op een afleestijd van 40 minuten (2400 seconden). Stel het kinetische afleesinterval in op het door de software/het instrument toegestane minimum. De bepaling moet onmiddellijk na plaatsing van het monster worden gestart.
 - Raadpleeg de softwarehandleiding om na te gaan hoe u aan de hand van de gegevensset een snelheidsmeting (helling) berekent. Voor het doel van deze test wordt dit doorgaans bereikt door met de kinetische gegevens een lineaire regressie over het voorgestelde tijdsbestek uit te voeren. Stel de uitvoering van de lineaire-regressieberekening in op het bereik van 1900 tot 2400 seconden met behulp van de 'slice'-functie (segmentfunctie) van de software.

8.2 Buisjes etiketteren

- Etiketkeer één leeg buisje voor elk te testen patiëntenserummonster.
- Etiketkeer één buisje met Fungitell STAT®-reagens voor elk te testen patiëntenserummonster.
- Etiketkeer één buisje met Fungitell STAT®-reagens voor de Fungitell STAT®-standaard.

8.3 Patiëntenserummonster bereiden

- Vortex patiëntenserummonsters gedurende ten minste 20 seconden om homogeniteit te verkrijgen. ***Opmerking:** Het invriesproces kan tot heterogeniteit van het monster leiden doordat het vormende ijskristal water aan het monster onttrekt, waardoor opgeloste stoffen worden uitgesloten.*
- Voeg het patiëntenserummonster en de alkalische voorbehandelingsoplossing in een verhouding van 1 op 4 toe aan het dienovereenkomstig geëtiketteerde lege buisje. De aanbevolen volumes zijn 50 µl patiëntenmonster en 200 µl alkalische voorbehandelingsoplossing. ***Opmerking:** De alkalische voorbehandelingsoplossing zet glucanen met een driedvoudige helix om in enkelstrengs glucanen^{14,15} die reactiever zijn in de assay. Daarnaast dient de alkalische pH om de serumproteasen en -remmers die de assay kunnen verstoren, te inactiveren²⁴.*
- Gedurende ten minste 15 seconden vortexen en de dop erop zetten.

8.4 Fungitell STAT®-standaard bereiden

- Opmerking:** Elk product (paar van Fungitell STAT®-standaard en Fungitell STAT®-reagens) is afzonderlijk getest en vrijgegeven. Het is daarom belangrijk de volumes reconstitutieoplossing en alkalische voorbehandelingsoplossing voor het desbetreffende partijnummer te gebruiken. Deze zijn te vinden op het verpakkingsetiket van de Fungitell STAT®-standaard, op het analysecertificaat van het Fungitell STAT®-product en op de website van ACC. Aanbeveling: Noteer deze informatie op de meegeleverde beknopte visuele handleiding voordat u de test start.*
- Reconstitueer één flesje Fungitell STAT®-standaard met het voor het partijnummer specifieke volume LAL-reagenswater en vortex gedurende 15 seconden.
 - Voeg het voor het partijnummer specifieke volume alkalische voorbehandelingsoplossing toe.
 - Gedurende ten minste 15 seconden vortexen en de dop erop zetten.

8.5 Voorbehandelingsincubatie in buisjeslezer

Incubeer de buisjes met patiëntenserummonster (uit stap 8.3) en het flesje met de Fungitell STAT®-standaard (uit stap 8.4) gedurende 10 minuten bij 37 °C.

Opmerking: Bij gebruik van het PKF08-instrument wordt een rode indicator groen zodra een buisje in een well wordt geplaatst. Druk het buisje er goed in tot de indicator groen wordt.

⚠️ Let op, de buisjes zijn breekbaar. Neem, als er glasscherven of vloeistoffen in een meetstation van de PKF08 terecht zijn gekomen, contact op met de technische dienst van Associates of Cape Cod, Inc.

8.6 Fungitell STAT®-reagensbuisjes bereiden

- Reconstitueer elk Fungitell STAT®-reagensflesje (geëtiketteerd in stap 8.2 hierboven) met 300 µl LAL-reagenswater.
- Vortex voorzichtig gedurende maximaal 5 seconden. ***Opmerking:** Het Fungitell STAT®-reagens bevat een aantal actieve eiwitten die nodig zijn voor de assay; het wordt aanbevolen de oplossing voorzichtig te behandelen. Voor alle vortexapparaten wordt een maximale instelling van 2000 rpm aanbevolen. Meng niet te lang.* Aan het eind van de voorincubatie:
 - Breng 75 µl van elke patiëntenserummonsteroplossing over in het overeenkomstige Fungitell STAT®-reagensbuisje.
 - Breng 75 µl Fungitell STAT®-standaard over in het overeenkomstige Fungitell STAT®-reagensbuisje.
 - Vortex alle buisjes gedurende maximaal 5 seconden en dek af.

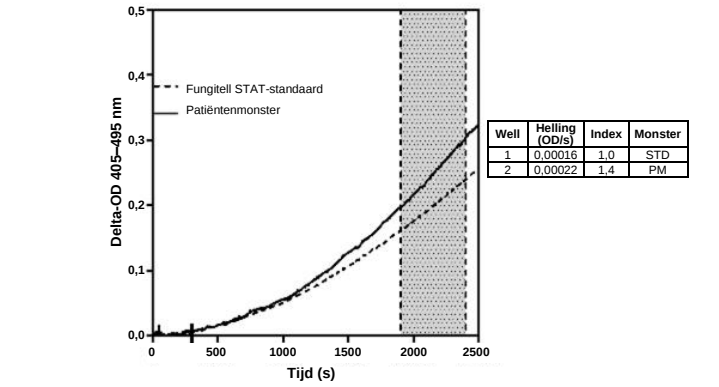
8.7 De run starten

- Plaats de buisjes in de buisjeslezer en controleer daarbij of elk buisje zich in de beoogde well bevindt.
- Start het aflezen van de kinetiek voor een tijdsduur van 40 minuten bij 37 °C.

9 Bereken de resultaten

9.1 Meetprincipe

De resultaten van de Fungitell STAT®-test moeten worden gebruikt als hulpmiddel bij de diagnose van een invasieve schimmelinfectie. De standaard snelheden van het patiëntenmonster en Fungitell STAT® worden afgeleid door de helling (snelheid) tussen 1900 en 2400 te berekenen op basis van de resultaten voor delta-OD bij 405–495 nm. De Fungitell STAT®-indexresultaten worden verkregen door de helling van het patiëntenmonster te delen door de helling van de Fungitell STAT®-standaard (zie afbeelding 2).



Afbeelding 2. Voorbeeld van kinetische curven en gegevensanalyse van Fungitell STAT®

Het grijs gemarkeerde gebied is het gebied waar de helling wordt bepaald (1900 tot 2400 seconden), de ononderbroken lijn is een voorbeeld van een patiëntenmonster (PM) en de streepjeslijn is de Fungitell STAT®-standaard (STD). De helling van het voorbeeld (0,00022 OD/s) gedeeld door de helling van de 80-pg/ml Fungitell STAT®-standaard (0,00016 OD/s) resulteert in een index van 1,4 voor het voorbeeld.

9.2 Bij gebruik van de PKF08 met BG Analytics®-software:

- De beoordeling van de kwaliteitscontrolecriteria wordt automatisch door de software uitgevoerd. Het resultaat wordt weergegeven in het eindrapport.
- Bij geldige testruns stelt de BG Analytics®-software voor elk monster een indexwaarde vast of wijst een duidelijk negatief of positief resultaat aan het monster toe.
- Als de software in de evaluatie van de resultaten aanwijzingen voor ongelijke parameters laat zien, volgt u de instructies in de BG Analytics®-softwarehandleiding.

9.3 Bij gebruik van andere software:

Controleer of aan alle kwaliteitscontrolecriteria is voldaan.

10. Kwaliteitscontrole

Hieronder staan de kwaliteitscontrolecriteria voor de resultaten van de Fungitell STAT®-standaard en de patiëntenserummonsters, inclusief voorbeelden van verwachte kinetische curvevormen. Deze kwaliteitscontrolecriteria zijn gevalideerd tijdens de onderzoeken die in de paragraaf Prestatiekenmerken worden gepresenteerd.

- Voor alle wellnummers** controleert u de toewijzing van Fungitell STAT®-standaard of het monsternummer.

Voor het resultaat van de Fungitell STAT®-standaard geldt:

- De correlatiecoëfficiënt (r) moet ≥ 0,980 zijn.
 - De helling moet binnen het verwachte hellingsbereik van 0,00010–0,00024 OD/s liggen.
- Als het resultaat van de Fungitell STAT®-standaard niet voldoet aan de criteria 1 en 2, is de run ongeldig en moeten alle monsters opnieuw worden bereid en getest.*

Voor alle resultaten van patiëntenmonsters doet u het volgende:

- Stel vast of het resultaat misschien buiten het meetbereik van de test ligt**
 - Het resultaat ligt waarschijnlijk buiten het bereik aan de positieve kant als:
 - het snijpunt met de y-as positief is en
 - de kinetische curve 0,4 OD passeert vóór 1000 seconden.
 - Het resultaat ligt waarschijnlijk buiten het bereik aan de negatieve kant als:
 - de kinetische curve na 500 seconden positief is en
 - aan het eind van de test een OD ≥ 0,00 en < 0,07 heeft.

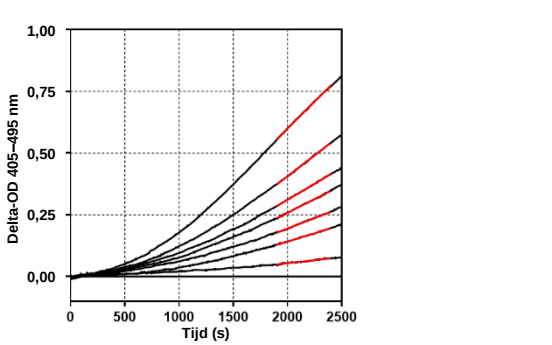
*Als het resultaat van het monster aan beide criteria voor ofwel aan de positieve kant of aan de negatieve kant buiten het bereik voldoet, hoeven de algemene QC-criteria hieronder niet te worden gecontroleerd en mag de indexwaarde **niet** worden berekend. Alle buiten het bereik liggende resultaten aan de positieve kant moeten worden gemeld als ‘positief’ en alle buiten het bereik liggende resultaten aan de negatieve kant moeten worden gemeld als ‘negatief’.*

B. Als de bovenstaande criteria niet van toepassing zijn, controleert u de algemene

QC-criteria:

- De kinetische curve moet na 500 seconden positief zijn.
- De kinetische curve moet aan het eind van de test een OD ≥ 0,00 hebben.
- De helling moet numeriek positief zijn.
- De correlatiecoëfficiënt (r) moet ≥ 0,980 zijn.
- De kinetische curve moet een stijgende curvevorm hebben die overeenkomt met de voorbeelden in **afbeelding 3**.

Als het monsterresultaat niet voldoet aan de algemene QC-criteria 1 en 3–5, is het monsterresultaat ongeldig en moet het monster opnieuw worden getest. Er kan ook een andere methode worden gebruikt. Als het monsterresultaat niet voldoet aan QC-criterium 2, wijst dit erop dat het monstersignaal zwak is. In dat geval dient de gebruiker de verkregen curve zorgvuldig in de context te beoordelen en de geldigheid van de resultaten vast te stellen op basis van het interne kwaliteitssysteem van het laboratorium.



Afbeelding 3. Voorbeelden van juiste kinetische curvevormen

Kinetische curven moeten de vorm van een stijgende curve hebben, zoals in de bovenstaande voorbeelden. De hier getoonde monstervoorbeelden komen uit het gehele indexbereik van de Fungitell STAT®-assay. Gebruik deze voorbeelden om de kwaliteitscontrolecriteria te beoordelen.

Opmerking:

- Iedere gebruiker van de test moet een kwaliteitscontroleprogramma opstellen om verzekerd te zijn dat de test vakkundig wordt uitgevoerd overeenkomstig de voorschriften die van toepassing zijn op zijn of haar locatie.
- Het wordt aanbevolen serumcontrolemonsters (negatief, dicht bij de grenswaarde of sterk positief) te testen in de context van verdere laboratoriumcontroles en goede laboratoriumpraktijken. Deze worden niet meegeleverd in de Fungitell STAT®-kit.

11. Interpretatie van de resultaten

- Negatief resultaat**
Indexwaarden ≤ 0,74 worden geïnterpreteerd als een negatief resultaat.
Het laboratorium dat de test verricht, moet de aanvragende arts laten weten dat niet alle schimmelinfecties resulteren in verhoogde (1→3)-β-D-glucaanconcentraties in serum. Sommige schimmels, zoals het geslacht *Cryptococcus*^{16,17}, produceren zeer lage (1→3)-β-D-glucaanconcentraties. Van *Mucorales*, zoals *Absidia*, *Mucor* en *Rhizopus*¹⁻¹⁷, is niet bekend dat ze (1→3)-β-D-glucaan produceren. Evenzo produceert *Blastomyces dermatitidis* in de gistfase weinig (1→3)-β-D-glucaan en vertonen blastomycosepatiënten meestal geen detecteerbare (1→3)-β-D-glucaanconcentraties in de Fungitell STAT®-assay¹⁸.
- Onbepaald resultaat**
Indexwaarden van 0,75 tot 1,1 worden beschouwd als niet-eenduidig (twijfelachtig). Het verdient aanbeveling aanvullende monsters af te nemen en de sera te testen. Veelvuldige monsternames en tests verhogen het nut van de assay voor de diagnose.
- Positief resultaat**
Indexwaarden ≥ 1,2 worden geïnterpreteerd als een positief resultaat. Een positief resultaat betekent dat (1→3)-β-D-glucaan is gedetecteerd. Een positief resultaat betekent niet noodzakelijk dat een aandoening aanwezig is en andere klinische bevindingen moeten mee in overweging worden genomen bij de diagnosestelling.

12. Beperkingen van de test

- De weefsellocaties van de schimmelinfectie⁷, de inkapseling en de hoeveelheid (1→3)-β-D-glucaan die door bepaalde schimmels wordt geproduceerd, kunnen de serumconcentratie van deze analyt beïnvloeden. Als er minder (1→3)-β-D-glucaan aan de bloedbaan kan worden afgegeven, kan het zijn dat men niet in staat is bepaalde schimmelinfecties te detecteren.
- Sommige personen hebben indexwaarden van (1→3)-β-D-glucaan die in de onbepaalde zone vallen. In dergelijke gevallen worden aanvullende bewakingstests aanbevolen.
- De frequentie waarmee patiënten getest worden, is afhankelijk van het relatieve risico op een schimmelinfectie. Er wordt een monsternamefrequentie van ten minste twee tot drie keer per week aanbevolen voor risicopatiënten.
- Er zijn positieve resultaten gevonden bij hemodialysepatiënten^{19,20,39}, proefpersonen die met bepaalde fractioneerde bloedproducten zoals serumalbumine en immunoglobulinen zijn behandeld^{23,24}, en in monsters of bij proefpersonen die aan glucaan bevattende gazen en chirurgische sponzen zijn blootgesteld. Het duurt 3 à 4 dagen voordat de basale concentratie van (1→3)-β-D-glucaan in serum is hersteld bij patiënten die tijdens een operatie zijn blootgesteld aan sponzen en gazen die (1→3)-β-D-glucaan bevatten^{21,22}. Bij de timing van de monstername bij patiënten die een operatie hebben ondergaan, moet hiermee dus rekening worden gehouden. Uitgebreide informatie over factoren die bijdragen tot fout-positieve (1→3)-β-D-glucaan-resultaten is te vinden in Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)⁴⁰.
- Met de hiel- of vingerprikmethode genomen monsters zijn niet aanvaardbaar, omdat is aangetoond dat het in alcohol gedrenkt gaasje waarmee de prikplaats wordt ontsmet (en mogelijk ook bloedophoping op het huidoppervlak) de monsters verontreinigt. Tot op heden zijn er in de onderzoeken geen verschillen waargenomen tussen monsters verkregen via een infuusslijn of via venapunctie^{25,26}.
- Er zijn testconcentraties vastgesteld bij volwassen proefpersonen. De normale en afkapconcentraties bij baby's en kinderen worden nog onderzocht^{27,28}.

13. Prestatiekenmerken

13.1 Verwachte waarden

- Diagnostische gevoeligheid en diagnostische specificiteit van de referentiemethode, Fungitell®-assay**
In een multicenter, prospectief onderzoek uitgevoerd ter bepaling van de diagnostische gevoeligheid en diagnostische specificiteit van de Fungitell®-assay ("predicate device" in de VS en hulpmiddel met CE-markering sinds 2008), is aangetoond dat de (1→3) β-D-glucaanwaarden bij diverse schimmelinfecties verhoogd zijn. Als tekenen en symptomen

aanwezig zijn bij een concentratie van 80 pg/ml of hoger, varieert de voorspellende waarde dat de proefpersoon positief is voor een schimmelinfectie van 74,4% tot 91,7%. Bij afwezigheid van tekenen en symptomen bij minder dan 60 pg/ml varieerden de negatief voorspellende waarden van 65,1% tot 85.1%²⁹.

- Vaststelling van de Fungitell STAT®-afkapwaarden**

Voor het doel van dit onderzoek werden anonieme, bevroren serummonsters gebruikt die bij normale klinische zorg van de beoogde populatie waren afgenomen en door Beacon Diagnostics Laboratory, Inc waren ontvangen voor Fungitell®-tests. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc is een erkend Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)-laboratorium dat deel uitmaakt van Associates of Cape Cod (ACC). Een populatie van 93 anonieme patiëntenserummonsters werd in het onderzoek opgenomen met (1→3)-β-D-glucaanconcentraties verdeeld over het volledige bereik van de Fungitell®-standaardcurve van 31–500 pg/ml. De vaststelling van de Fungitell STAT®-afkapwaarde volgde de analyse van de ROC-curve (Receiver Operating Characteristic-curve)³⁰. Uit de resultaten bleek dat Fungitell STAT β-glucaanindexwaarden ≥ 1,2 moeten worden geïnterpreteerd als een positief resultaat in overeenstemming met de afkapwaarde van 80 pg/ml van het Fungitell®-product, terwijl indexwaarden ≤ 0,74 moeten worden geïnterpreteerd als een negatief resultaat in overeenstemming met de afkapwaarde van 60 pg/ml van het Fungitell®-product. Deze afkapwaarden zijn gevalideerd in het kader van het methodevergelijkende onderzoek en de berekening van het percentage negatieve overeenstemming en het percentage positieve overeenstemming die hieronder worden gepresenteerd.

13.2. Methodevergelijking

Net als bij het onderzoek naar de afkapwaarde, maar met een andere set monsters, werden voor het doel van het methodevergelijkende onderzoek 488 anonieme, bevroren patiëntenserummonsters gebruikt, eveneens met (1→3)-β-D-glucaanconcentraties verdeeld over het volledige bereik van de Fungitell®-standaardcurve van 31–500 pg/ml³⁰. Hiervan vielen 309 monsters binnen de negatieve zone van de Fungitell®-testresultaten, 143 monsters binnen de positieve zone van de Fungitell® en 36 monsters binnen de onbepaalde zone van de Fungitell® (tabel 2). Tijdens dit onderzoek werden alle monsters zowel met de Fungitell STAT®-assay als met de Fungitell®-assay getest. Wanneer monsters die binnen de onbepaalde zone van de Fungitell STAT® vielen, van de analyse werden uitgesloten, bleven er 290 monsters over voor de analyse van het percentage negatieve overeenstemming en 119 monsters voor de analyse van het percentage positieve overeenstemming.

Tabel 2. Prestaties van Fungitell STAT® vergeleken met Fungitell®					
		Fungitell®			Totaal
		Negatief	Onbepaald	Positief	
Fungitell STAT®	Negatief	283	17	1	301 (61,7%)
	Onbepaald	19	17	24	60 (12,3%)
	Positief	7	2	118	127 (26,0%)
	Totaal	309 (63,3%)	36 (7,4%)	143 (29,3%)	488 (100%)
		NPA: 97,6%* (283/290) 95%-BI: (95,4, 99,9)		PPA: 99,2%* (118/119) 95%-BI: (95,4, 99,9)	

**Onbepaalde (d.w.z. twijfelachtige) resultaten zijn niet in de analyse opgenomen; als alle onbepaalde resultaten als afwijkende resultaten worden beschouwd (bijv. fout-positief of fout-negatief), zijn de prestaties als volgt: PPA – 73,8% (118/160), 95%-BI: (66,4%, 80,0%); NPA – 91,0% (283/311), 95%-BI: (87,3%, 93,7%)*

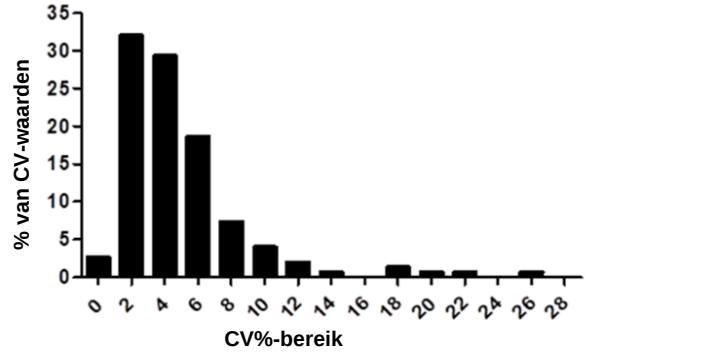
- Percentage negatieve overeenstemming**
Tweehonderddrieëntachtig (283) van de 290 monsters die negatief waren wanneer ze met het Fungitell®-hulpmiddel werden getest, waren ook negatief met de Fungitell STAT®-assay. Het berekende percentage negatieve overeenstemming (negative percent agreement, NPA) met de Fungitell®-methode bedroeg 97,6% (95%-betrouwbaarheidsinterval (BI): 95,4%, 99,9%) (tabel 2).
- Percentage positieve overeenstemming**
Honderdachtien (118) van de 119 monsters die positief waren wanneer ze met het Fungitell®-hulpmiddel werden getest, waren ook positief met de Fungitell STAT®-assay. Het berekende percentage positieve overeenstemming (positive percent agreement, PPA) met de Fungitell®-methode bedroeg 99,2% (95%-betrouwbaarheidsinterval (BI): 95,4%, 99,9%) (tabel 2).
- Meetbereik, lineariteit en nauwkeurigheid**
De indexresultaten varieerden van ongeveer 0,4 tot 3,5, wat de standaardcurve (31–500 pg/ml) van de Fungitell® bestrijkt. De lineaire correlatie tussen de Fungitell®-concentratie en de Fungitell STAT®-indexresultaten bedroeg 0,92 (95%-betrouwbaarheidsinterval (BI): 89,9% en 93,6%). **Opmerking:** Bij gebruik van PKF08 met BG Analytics®-software wordt het Fungitell STAT®-indexresultaat gebruikt om de categorisatie te bepalen. Een geschatte pg/ml-waarde wordt alleen ter referentie gegeven.

13.3 Analytisch interlaboratoriumonderzoek

De Fungitell STAT® is geëvalueerd op precisie (d.w.z. herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid), analytische gevoeligheid en analytische specificiteit door (1→3)-β-D-glucaan van *Saccharomyces cerevisiae* aan humaan serum toe te voegen om een vijfdelig panel te verkrijgen bestaande uit een laag-negatief monster, een hoog-negatief monster (net onder de onderste afkapwaarde van 0,74), een onbepaald (twijfelachtig) monster, een laag-positief monster (net boven de bovenste afkapwaarde van 1,2) en een hoog-positief monster (~2x boven de bovenste afkapwaarde van 1,2). Het panel werd over drie CLIA-laboratoria verdeeld om te worden getest met de Fungitell STAT®-assay. Elk laboratorium leverde 150 gegevenspunten (d.w.z. 5 monsters x drievoud per run x twee operators die een run per dag uitvoerden x 5 dagen). Dit bracht het totaal op 450 gegevenspunten en omvatte 30 runs (d.w.z. assays en 90 gegevenspunten per monster (d.w.z. panellid). De gemiddelde indexwaarden van het onderzoek, die in **tabel 3** hieronder worden gepresenteerd, zijn afgeleid van de gegevens die door de drie laboratoria zijn verstrekt. De kolom Percentage positief geeft het percentage weer van de monsters voor een bepaald panellid die in de positieve zone vielen. Over alle drie laboratoria bedroegen de resultaten voor Percentage positief 1,1% voor het laag-negatieve monster, 0% voor het hoog-negatieve monster, 3,3% voor het onbepaalde monster, 96,7% voor het laag-positieve monster en 100% voor het hoog-positieve monster.

Tabel 3. Analytisch interlaboratoriumonderzoek					
Panellid	Gemiddelde indexwaarde	Standaard-deviatie	% CV	Percentage positief (Aantal pos./Aantal getest)	Analytische specificiteit (echt negatief) en analytische gevoeligheid (echt positief)
Laag-negatief	0,55	0,10	20,4%	1,1% (1/90)	89/90 echt negatief
Hoog-negatief	0,75	0,08	11,1%	0% (0/90)	90/90 echt negatief
Onbepaald	0,94	0,10	11,1%	3,3% (3/90)	87/90 niet positief
Laag-positief	1,6	0,30	18,7%	96,7% (87/90)	87/90 echt positief
Hoog-positief	2,6	0,40	15,4%	100% (90/90)	90/90 echt positief

Zoals aangegeven in tabel 3 varieerde de variatie tussen assays (d.w.z. % CV) van 11% tot 20,4%; deze fungeerde als maat voor de reproduceerbaarheid. De variatie binnen assays varieerde van 0,4% tot 26,8% en fungeerde als maat voor de herhaalbaarheid. De verdeling van het % CV-bereik binnen assays wordt hieronder in **afbeelding 4** gepresenteerd. In totaal was 94% van de CV-waarden gelijk aan 10% of minder en 75% van de CV-waarden gelijk aan 6% of minder.



Afbeelding 4. Verdeling van % CV-waarden binnen assays

13.4 Echtheid

Voor elke partij van het Fungitell STAT®-product wordt de (1→3)-β-D-glucaanconcentratie van de Fungitell STAT®-standaard gekalibreerd op 80 +/- 8 pg/ml met behulp van de Fungitell®-referentiemethode en ten opzichte van een interne (1→3)-β-D-glucaanreferentiestandaard.

13.5 Storende stoffen

De volgende monstercondities kunnen de nauwkeurigheid van het resultaat van de Fungitell STAT®-assay beïnvloeden:

- Monsters die niet van de juiste kleur of troebel zijn, zoals monsters die zwaar gehemolyseerd of lipemisch zijn of die een overmaat aan bilirubine bevatten, kunnen de assay optisch verstoren. Als deze monsters worden getest, moeten de testresultaten worden onderzocht op tekenen van optische verstoring en/of ongebruikelijke kinetische patronen.
- Verhoogde concentraties van immunoglobuline G, zoals die bijvoorbeeld in serum kunnen optreden als gevolg van multipel myeloom, kunnen resulteren in neerslag in het reactiemengsel na de toevoeging van Fungitell STAT® aan het voorbehandelde serum³¹.
- Op het moment van schrijven van deze tekst is geen andere activerende factor G ((1→3)-β-glucaandetectie-element) van het Fungitell®-reagens beschreven dan (1→3)-β-glucaan. In sommige onderzoeken, waarin beweringen over kruisreactiviteit zijn gedaan, is het signaal geëlimineerd door behandeling van het veronderstelde activerende materiaal met gezuiverd (1→3)-β-glucanase, wat aantoont dat de waargenomen activering was veroorzaakt door verontreiniging van (1→3)-β-glucaan¹². Verontreiniging van serineprotease kan ook leiden tot het vrijkomen van parantiroaniline in Fungitell®-reactiemengsels, maar dit wordt tijdens de voorbehandelingsprocedure geïnactiveerd.

14. Meta-analyses

Daarnaast is een groot aantal collegiaal getoetste onderzoeken gepubliceerd over het gebruik van (1→3)-β-D-glucaanconcentraties in serum ter ondersteuning van de diagnose van invasieve schimmeliziekte, inclusief meta-analyses van diagnostische prestaties^{32,33,34,35,36,37,38,39}.

15. Verklaring van symbolen

	Uiterste gebruiksdatum		Gebruiksaanwijzing raadplegen
	Bevat voldoende voor 'N' tests		Gemachtigde EU
	Batchcode		CE-markering
	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek		Uitsluitend voor gebruik op voorschrift
	Catalogusnr.		Let op
	Temperatuurlimieten		Niet blootstellen aan zonlicht
	Fabrikant		Importeur
	Gemachtigde Zwitserland		

16. Gemachtigden/Importeur

Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Nederland

	Gemachtigde Zwitserland MedEnvoy Zwitserland Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Zwitserland
	Importeur MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33- Suite 123 2595 AM The Hague, Nederland

Australische opdrachtgever:
Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park
201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australië

Opmerking: Elk ernstig incident dat zich in verband met het hulpmiddel voordoet, moet worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt is gevestigd.

17. Contactgegevens

Hoofdkantoor

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

Verenigd Koninkrijk/Europa
Associates of Cape Cod Int'l, Inc.
Unit 1 F/G/H Academy Business Park, Lees Road
Knowsley, Liverpool L33 7SA, Verenigd Koninkrijk
Tel: +44 151-547-7444, Fax: +44 151-547-7400
E-mail: info@acciuuk.co.uk • www.acciuuk.co.uk

18. Revisiegeschiedenis

Rev. 1-3: Toegevoegd: catalogusnr. PKF08-PKG en bijbehorende instructies; details over Fungitell STAT®-standaard fungerend als interne controle, contactgegevens, verduidelijkingen en opmaak. Algemene QC-criteria nr. 3 verduidelijkt. Toegevoegd: stabiliteitsgegevens van monsters en bepaling van afkapwaarde, hoofdstukken Meetbereik, lineariteit en nauwkeurigheid en Echtheid. Rev. 4: EU-gemachtigde gewijzigd, waarde 0,03 gewijzigd in 0,00 in paragraaf Kwaliteitscontrole en kleine wijzigingen ter verduidelijking. Rev. 5: EG-vertegenwoordiger Emergo Europe verwijderd. Rev. 6: Gebruikte symbolen bijgewerkt. MedEnvoy toegevoegd als EU-importeur en ACC Europe GmBh verwijderd uit paragraaf 17. Gebruikte symbolen bijgewerkt. Naam en adres van EC-REP, Zwitserse importeur en CH-REP toegevoegd. Rev. 7: Verduidelijking van opslag van reagentia. Een geschatte Fungitell; pg/ml is toegevoegd aan het PKF08-BGA-rapport. Daarnaast is het logo bijgewerkt en is de verwijzing naar de ACC-website aangepast naar www.fungitell.com, waar de etikettering van hulpmiddelen geraadpleegd kan worden. Rev. 8: Kleine wijzigingen in de opmaak.

19. Literatuur

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
- De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
- Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.
- Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H. Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
- Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
- Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
- Lass-Flörl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M. and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
- Litvinetsva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grigurich, D.E., Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.
- Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.
- Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in Limulus. Thrombosis Res. 68: 1-32.
- Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1→3)-β-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.
- Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-β-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus ameobocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
- Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
- Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.
- Binder, U., Maurer, E., and Lass-Flörl, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
- Girouard, G., Lachance, C., and Pelletier, R. 2007. Observations of (1→3)-β-D-Glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by Histoplasma or Blastomyces. J. Med. Mycology 56: 1001-1002.
- Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
- Kato, A., Takita, T., Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.

- 21.Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakat, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauze types. *Tohoku J. Exp. Med.* 217: 117-121.
- 22.Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cocanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M-168.
- 23.Held J, Wagner D.β-d-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:1118-22.
- 24.Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-β-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. *Int. J. Hematol.* 80: 97-98.
- 25.Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, 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)-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 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)-β-D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin. Inf. Dis.* 41: 299-305.
- 30.D'Ordine, R.L., Garcia, K.A., Roy, J., Zhang, Y., Markley, B. and Finkelman, M.A. 2021. Performance characteristics of Fungitell STAT™, a rapid (1→3)-β-D-glucan single patient sample in vitro diagnostic assay. *Med Mycol.* 59(1):41-49.
- 31.Issa, N.C., Koo, S., Lynch, R.C., Gay, C., Hammond, S.P., Baden, L.R., Ghobrial, I.M., Finkelman, M.A., and Marty, F.M.. 2012 Serum galactomannan and (1→3)-β-D-glucan assays for patients with multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia. *J.Clin. Microbiol.* 50:1054-6.
- 32.Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011; 52:750-70.
- 33.Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS One.* 2015 Jul 6;10:e0131602.
- 34.Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis.* 2012; 54:633-43.
- 35.Onishi A1, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for Pneumocystis 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