Teszt (1→3)-β-D-glükán szérumból történő kimutatásához

FUNGITELL® TESZT

Használati utasítás

℞only

IVD

Σ 42

CE

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

Telefonszám: (508) 540-3444
Zöld szám: (888) 395-2221
Faxszám: (508) 540-8680
Műszaki támogatás: (800) 848-3248
Ügyfélszolgálat: (800) 525-8378

PN001268-hu Rev11 REF FT001 2021-12-14

Az Ön nyelvén írott használati utasítást a www.acciusa.com webhelyen találja.
Ez a termék kizárólag in vitro diagnosztikai és professzionális használatra készült.

1. Rendeltetés

A **Fungitell®** teszt egy proteáz zimogén alapú kolorimetriás teszt az (1→3)-β-D-glükán kvalitatív kimutatására invazív gombás fertőzés tüneteit mutató, illetve invazív gombás fertőzésre hajlamosító állapottal rendelkező betegek szérumában. A különböző, számos orvosi szempontból fontos gombának[1] az egyik fő sejtfalkomponenst alkotó (1→3)-β-D-glükán szérumbeli koncentrációjának meghatározása segítheti a mély mikózisok és gombás megbetegedések diagnosztizálását[2]. A pozitív eredmény nem jelzi, hogy milyen nemzetséghez tartozó gomba okozhatja a fertőzést.

Az (1→3)-β-D-glükán titerjeit más diagnosztikai eljárásokkal – például mikrobiológiai tenyésztéssel, biopsziás minták szövettani vizsgálatával, radiológiai vizsgálattal – együtt kell alkalmazni.

Fontos
Az alábbi információkat tovább kell adni a vizsgálatot kérő orvosnak: *Bizonyos gombák, például a Cryptococcus nemzetségbe tartozó fajok, nagyon kis mennyiségű (1→3)-β-D-glükánt termelnek; ilyenkor a szérum (1→3)-β-D-glükán-tartalma nem elegendően magas ahhoz, hogy a teszt kimutassa[3,4]. A Mucorales rendbe tartozó gombák, például az Absidia, Mucor és Rhizopus[3,4] nemzetségbe tartozó fajok ismereteink szerint nem termelnek (1→3)-β-D-glükánt, így ezek esetében is alacsony a szérum (1→3)-β-D-glükán-titerje. Ezenkívül a Blastomyces dermatitidis élesztőgomba fázisban kevés (1→3)-β-D-glükánt termel, amit a teszt esetleg nem mutat ki[5].*

Ezt az állítást a Fungitell® teszt eredményeit ismertető leleteken fel kell tüntetni.

2. Összefoglalás és magyarázat

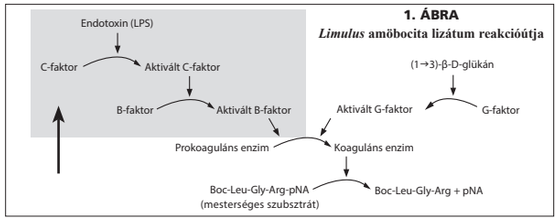
Az opportunista kórokozók miatti gombás fertőzések előfordulása növekszik, különösen az immunkompromittált betegek körében[6-7,8]. Az invazív gombás betegségek, mint opportunista fertőzések, gyakoriak a rosszindulatú hematológiai megbetegedésekben és AIDS-ben szenvedő betegek körében, és egyre több nozokomiális fertőzésért felelősek, különösen a szervtranszplantáltak, valamint az immunszuppressziós kezelésben részesülő más betegek között[9,10]. Sok gombás betegséget a talajból, növényi hulladékokból, levegőkezelő rendszerekből és/vagy kontaminált felületekről származó gombaspórák belélegzése okoz. Néhány opportunista gombafaj jelen van az emberi bőrben/bőrön, a bélcsatornában és a nyálkahártyákon[11,12]. Az invazív mikózisok és gombás megbetegedések diagnosztizálása általában nem specifikus diagnosztikai vagy radiológiai technikákon alapul. A gombás fertőzések biológiai markereivel a közelmúltban bővítették a rendelkezésre álló diagnosztikai módszereket[2].

Az opportunista gombás kórokozók közé tartoznak a következők: *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* és *Pneumocystis jirovecii*. Az ezen és más organizmusok által termelt (1→3)-β-D-glükán kimutatható a Fungitell® teszttel[1,8,13,14].

3. Az eljárás elve

A Fungitell® teszt az (1→3)-β-D-glükán koncentrációját méri. A teszt a *Limulus* amöbocita lizátum (LAL) reakcióút módosításán alapul.

1. ábra A Fungitell® reagenst módosítottuk a bakteriális endotoxin reaktivitásának kiküszöbölése érdekében, így az csak az (1→3)-β-D-glükánra reagál, a reakcióút G-faktor által mediált oldalán keresztül. Az (1→3)-β-D-glükán aktiválja a G-faktort, amely egy szerinprotеáz zimogén. Az aktivált G-faktor az inaktív prokoaguláns enzimet aktív koaguláns enzimmé alakítja át, mely lehasítja a para-nitroanilidet (PNA) a Boc-Leu-Gly-Arg-pNA kromogén peptid szubsztrátról, így egy kromofór – para-nitroanilin – jön létre, mely elnyeli a 405 nm hullámhosszú fényt. Az alább ismertetett Fungitell® kinetikus teszt az optikai sűrűség adott mintabeli növekedési sebességének meghatározásán alapul. Ezt a sebességet egy alapgörbéhez viszonyítva kell értékelni a minta (1→3)-β-D-glükán-koncentrációjának megbecsléséhez.



1. ÁBRA
***Limulus* amöbocita lizátum reakcióútja**

4. A Fungitell® készletben mellékelt anyagok

A Fungitell® készlet in vitro diagnosztikai használatra szolgál. Az egyes készletekben található alábbi anyagok két mikrotiter lemezen összesen 110 cella tesztelésére elegendőek (lemezenként 55 cella):

- Fungitell® reagens, liofilizált (1→3)-β-D-glükán-specifikus LAL (két ampulla). *A Fungitell® reagens Limulus (azaz patkósrák) amöbocita lizátumból és Boc-Leu-Gly-Arg-pNA kolorimetrikus szubsztrátból áll. Nem tartalmaz humán vagy emlősfehérjéket.*
- Pyrosol® visszaoldó puffer (két ampulla). A Pyrosol® visszaoldó pufferből (katalógusszám: BC051) további ampullák külön vásárolhatók. *0,2M trisz pufferből áll.*
- Glükán standard, liofilizált (1→3)-β-D-glükán a Pachymantól (két ampulla). *A hozzáadandó reagensvíz mennyisége az ampulla címkéjén van feltüntetve. Egy belső referenciastandardhoz van kalibrálva.*
- LAL reagensvíz (LRW) (két palack)
  Megjegyzés: A 20 ml-es reagens minőségű víz (RGW) és az LRW üvegpalackokban egyenértékűek.
- Lúgos előkezelő oldat (két ampulla), amelynek tartalma *0,125 M KOH és 0,6 M KCl.*

A standard kivételével egyik fenti anyag sem tartalmaz a vizsgálatot zavaró mennyiségű (1→3)-β-D-glükánt.

5. Szükséges, de nem mellékelt anyagok

Egyetlen anyag sem tartalmazhat a vizsgálatot zavaró mennyiségű glükánt.

- Pipettahegyek* (250 µL – katalógusszám: PPT25, 1000 µL – katalógusszám: PPT10)
- 5–25 µL, illetve 100–1000 µL térfogat adagolására alkalmas pipetták
- 100 µL adagolására alkalmas fecskendőhegyekkel rendelkező ismétlő pipetta
- Kémcsövek* a standard hígítási sor (kalibrálási görbe) előkészítéséhez és a szérum kezelésére szolgáló reagensek összekeveréséhez. (12 x 75 mm - katalógusszám: TB240 vagy 13 x 100 mm - katalógusszám: TB013)
- Inkubálási funkcióval (37 °C) rendelkező fotométer, mely képes 405 nm-es hullámhosszon mérni (és lehetőleg mind a 405 nm-es, mind a 490 nm-es hullámhossz monitorozására képes), amelynek dinamikai tartománya legalább 2,0 abszorbanciaegység, és amelyhez megfelelő számítógépes alapú kinetikaelemző szoftver kapcsolódik.
- Steril, glükánmentes csövek a minták aliquotozásához. RNSáz-, DNSáz- és pirogénmentesnek minősített kémcsövek használhatók.
- Parafilm®
- 96-cellás mikrolemezek* **Megjegyzés:** A Fungitell® tesztet a következő tulajdonságokkal rendelkező lemezek alkalmazásával validálták: Polisztirolból készült steril, bevonat nélküli, lapos aljú, az ACC szpecifikációja szerinti béta-glükán-zavarás mentes és egyenként csomagolt.

* Ezek az Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) vállalat által szállított termékek tanúsítottan nem tartalmaznak zavaró mennyiségű glükánokat.

6. A reagensek tárolása

- Az összes reagens eredeti kiszerelésében tárolandó 2–8 ºC-os hőmérsékleten, sötét helyen.
- A visszaoldott Fungitell® reagens 2–8 °C-on tárolandó, és 2 óráin belül felhasználandó. Vagy: a visszaoldott Fungitell® reagens -20 °C-on lefagyasztható, legfeljebb 20 napra, majd egyetlen alkalommal felolvasztható és felhasználható.

7. ⚠ „Vigyázat" szintű figyelmeztetések és óvintézkedések

- Tilos bármilyen anyagot szájjal pipettázni! Tilos olyan területen dohányozni, enni és inni, ahol mintákat vagy a készlethez tartozó reagenseket kezelnek.
- Be kell tartani az üzemeltetési és a helyi biztonsági előírásokat.
- Viseljen védőkesztyűt, ha olyan biológiai mintákat kezel, amelyek fertőzők vagy veszélyesek lehetnek. A kesztyűs kezet mindig szennyezettnek kell tekinteni; tartsa a kesztyűs kezét távol a szemétől, szájától és orrától. Viseljen szemvédő eszközt és sebészeti maszkot, ha fennáll az aeroszolszennyezés lehetősége.
- **Megjegyzés:** Tilos sérült tartalmú készleteket felhasználni!
- Ártalmatlanítás: A vegyi anyagok és készítmények maradványai általában veszélyes hulladéknak minősülnek. Az ilyen típusú hulladékok ártalmatlanítását nemzeti, valamint regionális törvények és rendeletek szabályozzák. A veszélyes hulladékok ártalmatlanításával kapcsolatos tanácsért forduljon a helyi hatóságokhoz vagy hulladékkezelő vállalatokhoz.
- **A** Fungitell® készlet valamennyi összetevőjének biztonsági adatlapja letölthető az ACC weboldalról: www.acciusa.com.

7.1 Eljárási óvintézkedések

A Fungitell® teszt elvégzéséhez az eljárásra és a vizsgálati környezetre vonatkozó előírásokat szigorúan be kell tartani. A teszt hatékonysága szempontjából kulcsfontosságú, hogy az asszisztens alapos képzést kapjon a tesztmódszerről és a szennyeződés elkerüléséről.

- Alkalmazza a helyi előírásoknak megfelelő helyes laboratóriumi gyakorlatot. Ez a teszt érzékeny a szennyeződésre és a pipettázás pontatlanságára.
- Alakítson ki tiszta környezetet a teszt elvégzéséhez.
- Felhívjuk a figyelmet arra, hogy az emberi testből, valamint a ruházatból, gyűjtőedényekből, vízből és levegőbeli porból származó glükán, illetve gombás szennyeződés zavarhatja a Fungitell® tesztet.
- A szennyeződés lehetséges forrásai közé tartoznak: a cellulóztartalmú anyagok, például a géz, a papírtörlő és a karton, a pamutdugóval ellátott üvegpipeták és a cellulózszűrővel ellátott pipettahegyek. A sebészeti gézkötések és szivacsok szintén nagy mennyiségű (1→3)-β-D-glükánt bocsáthatnak ki[21,22]. A beteggel kapcsolatos egyéb szennyeződési forrásokról lásd A teszt korlátai című pontját.
- Tilos az anyagokat lejárati dátumuk után felhasználni!

7.2 A minták kezelése

- A vérvételt és a szérumkészítést a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell elvégezni. Mintavétel: A szérum előkészítéséhez a vérmintákat steril szérum-előkészítő csőbe vagy szérumszeparátor csőbe (SST) kell levenni.
- A minták tárolása: A szérumminták 2-8 °C-on legfeljebb 15 napig, illetve fagyasztva -20 °C-on 27 napig vagy -80 °C-on 4 évig tárolhatók.
- A minták felcímkézése: A mintákat világosan kell felcímkézni az intézményben jóváhagyott gyakorlat szerint.

8. Eljárás

8.1 Műszerbeállítás és tesztprogramozás

A beállítások a különböző eszközökre és szoftverekre eltérőek lehetnek. Általában a következők szerint kell eljárni: Állítsa be a fotométer szoftverét vmean módban történő adatgyűjtésre. Ellenőrizze a szoftver kézikönyvében, hogy milyen beállításokat kell alkalmazni ahhoz, hogy a kiszámított érték az optikai sűrűség változási sebességének középértéke legyen az összes felvett adatpontra. A detektor leolvasási időközét a szoftver és a készülék által engedélyezett minimális értékre kell állítani a 40 perces tesztidőtartamra. A szoftverben a hullámhossz értékét 405 nm-re kell állítani, és le kell vonni a 490 nm-en mérhető hátteret. Ajánlott mindkét hullámhossz használata, de ha nem áll rendelkezésre kettős hullámhosszon történő leolvasás, olvassa le a tesztet 405 nm-en, és vizsgálja meg az egyes betegminták kinetikai görbéjét az interferencia jeleit illetően (további részletekért lásd a 9.0. szakaszt). Az inkubálási hőmérsékletet 37 °C-ra kell beállítani. A mikrotiter lemezt 5–10 másodpercig kell rázatni a leolvasás megkezdése előtt. A görbe illesztésének beállítása „lineáris/lineáris" vagy ezzel egyenértékű kell, hogy legyen. A leolvasást késedelem nélkül meg kell kezdeni.

8.2 A készletben található glükán standard oldat elkészítése.

a. Oldjon fel egy ampulla glükán standard oldatot az ampullán feltüntetett térfogatú LAL reagensvízzel (LRW), hogy 100 pg/ml koncentrációjú oldatot kapjon. A standard visszaoldáshoz vortexkeverővel keverje legalább 30 másodpercig közepestől közepesen magasig terjedő sebességen (1. számú oldat). A glükánoldat 2–8 °C-os hőmérsékleten tárolandó, és három napon belül felhasználandó. Az alábbi b–e lépések egy standard görbe előkészítésének eljárását ismertetik.
b. Készítsen 50 pg/ml koncentrációjú standard oldatot (2. számú oldat); ehhez glükánmentes csőben keverjen össze 500 µl LAL reagensvizet (LRW) és 500 µl 1. számú oldatot (2. számú oldat). Vortexkeverővel keverje legalább 10 másodpercig.
c. Készítsen 25 pg/ml koncentrációjú standard oldatot (3. számú oldat); ehhez glükánmentes csőben keverjen össze 500 µl LAL reagensvizet (LRW) és 500 µl 2. számú oldatot (3. számú oldat). Vortexkeverővel keverje legalább 10 másodpercig.
d. Készítsen 12,5 pg/ml koncentrációjú standard oldatot (4. számú oldat); ehhez glükánmentes csőben keverjen össze 500 µl LAL reagensvizet (LRW) és 500 µl 3. számú oldatot (4. számú oldat). Vortexkeverővel keverje legalább 10 másodpercig.
e. Készítsen 6,25 pg/ml koncentrációjú standard oldatot (5. számú oldat); ehhez glükánmentes csőben keverjen össze 500 µl LAL reagensvizet (LRW) és 500 µl 4. számú oldatot (5. számú oldat). Vortexkeverővel keverje legalább 10 másodpercig.

8.3 Nyissa ki a lúgos előkezelő oldatot.

A lúgos előkezelő oldat a tripla spirál szerkezetű glükánokat egyszálú glükánokká alakítja[17,18], amelyek reakcióképesebbek a teszt során. Emellett lúgos kémhatása inaktiválja a szérum proteázokat és inhibitorokat, amelyek zavarhatják a tesztet[24].

Helyezze hulladékba az ampullát (a laboratóriumi eljárásoknak megfelelően), kivéve, ha egy következő teszt során ismét használni fogja. Ebben az esetben Parafilmmel fedje le. A Parafilmnek azt az oldalát használja, amely a papír hátrésszel érintkezett.

8.4 A mikrotiter lemez konfigurálása

Konfigurálja a mikrotiter lemezt a szoftverben a standardokkal (Std), a negatív kontrollokkal (Neg) és 21 mintával (Spl). A következő beállítás ajánlott:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		STD1 500	STD1 500		SPL1	SPL4	SPL7	SPL10	SPL13	SPL16	SPL19	
C		STD2 250	STD2 250		SPL1	SPL4	SPL7	SPL10	SPL13	SPL16	SPL19	
D		STD3 125	STD3 125		SPL2	SPL5	SPL8	SPL11	SPL14	SPL17	SPL20	
E		STD4 62,5	STD4 62,5		SPL2	SPL5	SPL8	SPL11	SPL14	SPL17	SPL20	
F		STD5 31,25	STD5 31,25		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
G		Neg.	Neg.		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
H												

A szoftver beállításaiban a standard oldatok koncentrációinál adja meg az 500, 250, 125, 62,5 és 31 pg/ml értékeket.

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a standard oldatok megadott koncentrációi ötször akkorák, mint a fenti 8.2 pontban előkészített oldatok koncentrációi. Ennek oka az, hogy a teszt során használt standard oldat mennyisége cellánként 25 µl, ami ötször akkora, mint a felhasznált szérumminta térfogata (lásd a 8.5.b pontot alább). Így a szérumminta ténylegesen ötszörösére hígul a standardhoz képest. A standard koncentrációk ötszörös szorzata kompenzálja ezt a hígítást.

Megjegyzés: A külső cellák is használhatók, ha bizonyított, hogy azok teljesítménye hasonló a belső celláéhoz.

Megjegyzés: A standard görbéhez a negatív kontrollok nem használatosak.

8.5 Szérum és lúgos előkezelő oldat hozzáadása.

a. A fagyasztott szérummintákat szobahőmérsékleten olvassza fel. Az összes mintát jól keverje össze vortexkeverővel – legalább 30 másodpercen át, közepestől közepesen magasig terjedő sebességen.
b. Adagoljon a szérummintából 5 µl-t mindegyik kijelölt cellába (Uk), legalább két példányban. Ismételje meg a fenti műveletet az összes szérummintára.
c. Adagoljon 20 µl lúgos előkészítő oldatot minden szérumot tartalmazó cellába. Gondoskodjon róla, hogy a szérum és az előkészítő reagens cseppjei érintkezzenek egymással.
Megjegyzés: A b és a c lépés sorrendjét az asszisztens tetszés szerint felcserélheti.
Megjegyzés: A véletlen szennyeződés elkerülése érdekében a minták és a reagensek cellákba adagolása után helyezze vissza a fedelet a mikrotiter lemezre.
d. Rázassa a mikrotiter lemezt 5–10 másodpercig, hogy a cellák tartalma jól összekeveredjen (erre a célra használható a fotométer rázatási funkciója), majd inkubálja 10 percig 37 °C-on az inkubátor funkcióval rendelkező fotométerben.

8.6 A Fungitell® reagens visszaoldása.

Megjegyzés: Ez a művelet kényelmesen elvégezhető az előkezeléshez szükséges inkubálás ideje alatt. A visszaoldási idők következtében betartása fokozza a reprodukálhatóságot, mivel a Fungitell® reakció az előkészítés nyomán megkezdődik, még ha alacsony szinten is.

Oldjon vissza egy ampulla Fungitell® reagenst: adjon hozzá 2,8 ml reagensvizet, majd 2,8 ml Pyrosol visszaoldó puffert az 1000 µl-es pipettával. Fedje le az ampullát Parafilmmel, a Parafilm papír hátrész felőli oldalát használva. Óvatosan forgassa körbe a folyadékot az ampullában, hogy teljesen feloldódjon az anyag. Ne keverje vortexkeverővel.

8.7 A negatív kontrollok és a glükán standardok hozzáadása.

A szérum-előkezelési eljárás inkubálási szakaszának végén (8.5.d pont) távolítsa el a mikrotiter lemezt a fotométer inkubátorából, és adagolja a standard oldatokat és a negatív kontrollokat a lemez celláiba. A standard ajánlott koncentrációmintázata:
a. A G2-es és a G3-as cellába adagoljon 25 µl LAL reagensvizet (LRW).
b. Az F2-es és az F3-as cellába adagoljon 25 µl-t a 6,25 pg/ml koncentrációjú 5. számú standard oldatból, 31,25 pg/ml címkével ellátva.
c. Az E2-es és az E3-as cellába adagoljon 25 µl-t a 12,5 pg/ml koncentrációjú 4. számú standard oldatból, 62,5 pg/ml címkével ellátva.
d. Az D2-es és a D3-as cellába adagoljon 25 µl-t a 25 pg/ml koncentrációjú 3. számú standard oldatból, 125 pg/ml címkével ellátva.
e. A C2-es és a C3-as cellába adagoljon 25 µl-t az 50 pg/ml koncentrációjú 2. számú standard oldatból, 250 pg/ml címkével ellátva.
f. A B2-es és a B3-as cellába adagoljon 25 µl-t a 100 pg/ml koncentrációjú 1. számú standard oldatból, 500 pg/ml címkével ellátva.

8.8 A Fungitell® reagens hozzáadása és a mikrotiter lemez inkubálása.

a. Mindegyik (negatív kontrollokat, standard oldatokat és mintákat tartalmazó) cellába adagoljon 100 µl Fungitell® reagenst az ismétlő pipetta segítségével.
b. Miután annak hőmérséklete 37°C-on stabilizálódott, helyezze be a lefedett mikrotiter lemezt a fotométerbe, távolítsa el a fedelet és rázza 5–10 másodpercig.

A **fedetlen** lemezt olvassa le és határozza meg a 405 nm-es és 490 nm-es hullámhosszon mért értékek különbségét 40 percig, 37°C-on. Megjegyzés: Ha a műszer nem hagy időt a rázás és a leolvasás között a fedél levételére, rázza fedés nélkül, hogy biztosítsa a fedés nélküli leolvasást.

9. Az eredmények kiszámítása.

Gyűjtse össze az adatokat, majd elemezze a következők szerint: Vizsgálja meg a tesztminták kinetikai mintázatait, és ellenőrizze, hogy vannak-e olyan mintázatok, amelyek nem a standardokhoz hasonló sima növekedést mutatnak. Érvénytelenítse azokat a diagramokat, amelyek optikai zavarásra utalnak (pl. a kinetikai mintázatok nem követik a standardokra jellemzőket). Számítsa ki az optikai sűrűség változási sebességének középértékét (milliabszorbancia egység/perc) minden pontra 0 és 40 perc között. (A számítást a szoftver végzi.) Interpolálja a minta (1→3)-β-D-glükán-koncentrációit a standard görbe alapján. (A számítást a szoftver végzi.)

10. Minőség-ellenőrzés

- A standard görbe korrelációs együtthatójának (r) (lineáris vs. lineáris) el kell érnie legalább a 0,980 értéket.
- A 25 µL LAL reagensvizet (LRW) tartalmazó cellák a negatív kontrollok. A negatív kontrollok sebességének (milliabszorbancia egység per perc) értékei a standard oldatra mért legkisebb érték 50%-ánál alacsonyabbak kell, hogy legyenek. Ellenkező esetben a tesztet meg kell ismételni teljesen új reagensekkel.
- A bonyolult minták kezelése. Ha a vizsgálatot végző személy szokatlan kinetikát tapasztal felhős, elszíneződött vagy zavaros (például erőteljesen hemolizált, lipémiás vagy túl nagy bilirubintartalmú) minta tesztelése során, akkor a mintát LAL reagensvízzel (LRW) fel kell hígítani, és a vizsgálatot meg kell ismételni. A hígítást az eredmények leletezése során számításba kell venni: a mért eredményt meg kell szorozni a hígítási tényezővel. **A mintára vonatkozó hígítási tényezőt jellemzően a szoftverben kell megadni, amely automatikusan elvégzi az eredmények korrigálását.**

Megjegyzés:
- A teszt minden felhasználójának minőség-ellenőrzési programot kell bevezetnie a teszt elvégzésében való szakmai jártasság biztosítása érdekében, az adott helyszín előírásainak megfelelően.
- Ajánlott a szérum kontrollminták vizsgálata (negatív, határérték közeli vagy erősen pozitív) a további laboratóriumi ellenőrzések és a helyes laboratóriumi gyakorlat keretében. Ezeket a Fungitell® készlet nem tartalmazza.

11. Az eredmények értelmezése

NEGATÍV EREDMÉNY

A 60 pg/ml alatti (1→3)-β-D-glükán-értékek negatív eredménynek minősülnek.

A vizsgálatot végző laboratóriumnak tájékoztatnia kell a vizsgálatot kérő orvost arról, hogy nem minden gombás fertőzés jár a szérum magas (1→3)-β-D-glükán-szintjével. Bizonyos gombák, például a Cryptococcus3,4 nemzetségbe tartozók, nagyon kevés (1→3)-β-D-glükánt termelnek. A Mucorales rend tagjai, pl az *Absidia, Mucor* és *Rhizopus*[3,4] ismereteink szerint nem termelnek (1→3)-β-D-glükánt. A *Blastomyces dermatitidis* élesztőgomba formájában úgyszintén kevés (1→3)-β-D-glükánt termel, és a blasztomikózisos betegekben az (1→3)-β-D-glükán szintje általában nem mutatható ki a Fungitell® teszttel[5].

HATÁROZATLAN EREDMÉNY

A 60 és 79 pg/ml közötti értékek nem tekinthetők meggyőzőnek. Ilyen esetekben újabb mintavétel és a szérumok ismételt vizsgálata javasolt. A gyakori mintavétel és tesztelés fokozza a vizsgálat diagnosztikai értékét.

POZITÍV EREDMÉNY

Ha az (1→3)-β-D-glükán értéke ≥ 80 pg/ml, az pozitív eredményként értelmezhető. A pozitív eredmény nem jelenti betegség fennállását, és diagnózis felállításához más klinikai leletekkel együtt kell értékelni.

12. A teszt korlátai

- A gombás fertőzés szöveti lokalizációja[10], a tokképződés és a bizonyos gombák által termelt (1→3)-β-D-glükán mennyisége befolyásolhatja ennek az analitnek a szérumbeli koncentrációját. Ha a gomba csak kisebb mértékben képes (1→3)-β-D-glükánt leadni a véráramba, az csökkentheti bizonyos gombás fertőzések kimutathatóságát.
- Bizonyos egyéneknek magasabb az (1→3)-β-D-glükán-szintjük, és a határozatlan tartományba esik. Ilyen esetekben további megfigyelő vizsgálatok javasoltak.
- A beteg vizsgálatának gyakorisága a gombás fertőzés relatív kockázatától függ. Kockázatnak kitett betegek esetében hetente legalább kétszer-háromszor javasolt mintavétel.
- Pozitív eredményeket észleltek hemodializált betegek esetében[19,20,38], bizonyos frakcionált vérkészítményekkel, például szérumalbuminnal és immunglobulinokkal[23,25] kezelt alanyoknál, valamint olyan minták és alanyok esetében, amelyek/akik glükántartalmú gézzel vagy sebészeti szivaccsal érintkeztek. Ha a beteg sebészeti beavatkozás során (1→3)-β-D-glükánt tartalmazó szivaccsal vagy gézzel érintkezett, akkor 3–4 nap szükséges ahhoz, hogy szérumának (1→3)-β-D-glükán-tartalma a alapszintre álljon vissza[21,22]. Ennek megfelelően ezt figyelembe kell venni a sebészeti beavatkozáson átesett betegek mintavételének időzítése szempontjából.
- A sarok vagy az ujjbegy megszúrásával vett minták nem fogadhatók el, mert az alkohollal átitatott gézről, amellyel előkészítik a mintavétel helyét (és esetleg azt a bőrfelületet, ahol meggyűlik a vér), kimutatták, hogy szennyezi a mintákat. Az eddigi vizsgálatokban semmiféle különbséget nem figyeltek meg a vezetéken keresztüli vérvétellel és a vénapunkcióval vett minták között[26,27].
- Az álpozitív (1→3)-β-D-glükán eredményekhez hozzájáruló tényezők átfogó áttekintését lásd: Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)[39].
- A teszttel kapott szinteket felnőtt alanyokra határozták meg. A csecsemő és gyermek normál és levágási értékek vizsgálata még folyik[28,29].

13. Teljesítményjellemzők

13.1 Határértékek és várható értékek

A Fungitell® teszt diagnosztikai érzékenységének és diagnosztikai specificitásának meghatározására végzett többközpontú, prospektív vizsgálat[31] (lásd alább az összehasonlító vizsgálatokat) kimutatta, hogy a béta-glükán értékek számos gombás fertőzésben emelkedettek. Ha 80 pg/ml vagy magasabb koncentráció mellett az alany jeleket vagy tüneteket mutat, akkor a gombás fertőzés fennállására vonatkozó prediktív érték a 74,4%–91,7% tartományban van. Ha 60 pg/ml alatti koncentráció mellett az alany nem mutat jeleket és tüneteket, akkor a negatív prediktív érték a 65,1%–85,1% tartományban van.

13.2 Klinikai teljesítmény

A Fungitell® teszt teljesítményjellemzőinek validálására több központban végrehajtott prospektív vizsgálatot végeztek[21]. A tesztet összehasonlították a mikózisok és fungémiák kimutatására alkalmazott más standard módszerekkel (vagyis vérkultúra, biopsziás minta kórszövettani vizsgálata és radiológiai jelek).

A teszttel háromszázötvenkilenc (359) beteget vizsgáltak. Mindegyik betegtől egy mintát vettek. A kis kockázatú alanyok csoportjába a látszólag egészséges, valamint a klinikai vizsgálólehelyekre nem gombás fertőzés miatt felvett egyének tartoztak. A vizsgálati alanyok toborzását az Egyesült Államokban található hat klinikai vizsgálóhelyen végezték. A klinikai vizsgálóhelyek közül négyben összesen 285 mintán végezték el a tesztet. Az ACC mind a 359 mintát kétszer vizsgálta, de csak a második vizsgálati eredményt használta a teszt teljesítményének meghatározására. A másodszorra végzett elemzések eredményei nem mutattak statisztikai eltérést az első elemzések eredményeinek csoportjától.

- **Diagnosztikai érzékenység**
  A vizsgálati alanyok teljes populációjára (359) (a cryptococcusos betegeket is beleértve) a szenzitivitás 65,0% volt [95%-os konfidenciaintervallum (KI): 60,1%–70,0%] (1. táblázat).
- **Diagnosztikai specificitás**
  A specificitás 81,1% volt (KI: 77,1%–85,2%). A gombafertőzésre negatív és látszólag egészséges 170 alany elemzésekor a teszt specificitása 86,5% volt (KI: 82,8% - 90,1%). Ha hozzávesszük azt a további 26 alanyt, akik negatívak voltak a gombafertőzésre, de egyéb betegségük volt, akkor a specificitás 81,1%-nak adódik (KI: 77,1%–85,2%).

1. táblázat Az ACC teszteredményei 60–80 pg/ml levágási szint mellett, vizsgálóhelyenként

Vizsgálóhely	Bizonyított/valószínű **érzékenység** >=80 pg/mL			**Specificitás** <60 pg/mL			Nem értelmezhető 60<=X<80	Összesen
	Poz./klin. poz.	**Szenzitivitás**	Pozitív Prediktív Érték	Neg/klin. neg.	**Specificitás**	Negatív Prediktív Érték		
1	32/50	64,0	97,0	39/40	97,5	69,6	1	90
2	14/24	58,3	93,3	17/20	85,0	70,8	5	44
3	14/19	73,7	46,7	36/54	66,7	90,0	3	73
4	25/33	75,8	92,6	37/43	86,0	86,0	6	76
5	21/36	58,3	80,8	30/39	76,9	69,8	6	75
6	0/1	0,0	N.a.	0/0	N.a.	0,0	0	1
Összesen	106/163	65,0	80,9	159/196	81,1	76,8	21	359

Amennyiben az ACC (359 minta) és a klinikai vizsgálóhelyek (285 minta) által kapott eredményeket összevetjük a klinikai diagnózissal, a szenzitivitás az ACC esetében 64,3% (KI: 58,8%–69,9%), a vizsgálóhelyek esetében pedig 61,5% (KI: 55,9%–67,2%). A specificitás az ACC-re 86,6% (KI: 82,7%–90,6%), a vizsgálóhelyekre pedig 79,6% (KI: 74,9%–84,3%).

Candidiasis

A prospektív vizsgálat során 107 alanynál állították fel a candidiasis pozitív diagnózisát. A 107 alanyból 83 lett pozitív a Fungitell® teszttel.

Százhetvenöt candidiasisra pozitív gyűjteménymintát szállítottak az Associates of Cape Cod, Inc. céghez. A 175 minta közül 145 bizonyult pozitívnak a teszttel.

Aspergillosis

Összesen 10 alany adott pozitív aspergillosis eredményt. A 10 alanyból 8 volt pozitív a teszt alapján.

Fusariosis

Három alany fusariosis-pozitív volt. A háromból alanyból kettő pozitív eredményt adott a teszt során.

Antifungális gyógyszeres terápia

Az antifungális gyógyszeres kezelés jelenléte vagy hiánya nem volt statisztikailag szignifikáns hatással a vizsgálat érzékenységére. Az invazív fungális fertőzésre nézve 118 személy bizonyult pozitívnak és részesült antifungális terápiában. A teszt 82 esetben volt pozitív (érzékenység 69,5%; KI: 61,2% - 77,8%). Ezenkívül huszonnégy (24) alanyról derült ki, hogy pozitív, de nem részesültek antifungális terápiában. A teszt 18 esetben volt pozitív (érzékenység 75%; KI: 57,7% - 92,3%).

13.3 Korreláció a teszteredmények között

A klinikai vizsgálóhelyek közül négyben összesen 285 mintán végezték el a tesztet. A vizsgálóhelyek által kapott teszteredmények és az Associates of Cape Cod, Inc. által kapott teszteredmények kvantitatív korrelációja 96,4% volt. Az Associates of Cape Cod, Inc. és a különböző vizsgálóhelyek által kapott teszteredmények korrelációja a 90,6%–99,2% tartományban mozgott.

13.4 Pontosság

The Fungitell® tesztet a pontosság (azaz az ismételhetőség és a reprodukálhatóság) szempontjából tíz (10) különböző minta felhasználásával értékelték, amelyeket három vizsgálati helyszínen, három különböző napon vizsgáltak. A teszten belüli eltérés 0,9% és 28,9% között mozgott, és ez szolgált a megismételhetőség mérőszámaként. A tesztek közötti eltérés 3,9% és 23,8% között mozgott, és ez szolgált a reprodukálhatóság mérőszámaként. A négy (4) negatív mintát mindkét elemzésből kizárták.

13.5 Mérési tartomány és linearitás

Az eredmények pg/szérum ml mértékegységben vannak kifejezve, és a nem kimutatható (31 pg/ml alatti) mennyiségektől az 500 pg/ml-t meghaladó értékekig terjedhetnek. Az eredmények kinyomtathatók a szoftverrel, vagy leolvashatók a standard görbéről. 500 pg/ml-nél magasabb eredmény esetén a pontos érték meghatározásához a mintát LAL reagensvízzel (LRW) kell hígítani, majd újra kell vizsgálni. A Minőség-ellenőrzés c. pontban jelzetteknek megfelelően a Fungitell® teszt mérési tartományát lefedő standard görbe (lineáris vs. lineáris) korrelációs együtthatójának (r) ≥ 0,980-nak kell lennie, és a negatív kontrolloknak a legalacsonyabb standard ráta 50%-ánál kisebb sebességű (pl. milliabszorbancia egység per perc) értékekkel kell rendelkezniük. Ellenkező esetben a tesztet meg kell ismételni teljesen új reagensekkel.

13.6 Zavaró anyagok

A Fungitell® teszttel kapott eredmények pontosságát a minta alábbi állapotai befolyásolhatják:

- Az elszíneződött vagy zavaros minták – például az erőteljesen hemolizált, lipaemiás vagy túl nagy bilirubintartalmú minták – optikailag zavarhatják a tesztet. Ilyen minták tesztelése esetén meg kell vizsgálni, hogy mutatnak-e a teszteredmények optikai zavarásra utaló jeleket és/vagy szokatlan kinetikai mintázatokat.
- Az immunglobulin G megemelkedett szintje, amely például többszörös mielóma miatt fordulhat elő a szérumban, a reakciókeverékben bekövetkező kicsapódást eredményezhet, amikor a Fungitell® reagenst hozzáadják az előkészített szérumhoz[30].
- Jelen írás időpontjáig más aktiváló G-faktort ((1→3)-β-glükán kimutató elem) Fungitell® reagens esetében az (1→3)-β-glükánon kívül nem írtak le.. Néhány vizsgálatban, ahol a keresztreaktivitás megerősítését kísérelték meg, a feltételezett aktiváló anyag tisztított (1→3)-β-glükanázzal történő kezelése megszüntette a jelet, bizonyítva, hogy a megfigyelt aktiválást a szennyező (1→3)-β-glükán okozta[15]. A szerinproteáz-szennyezés para-nitroanilin felszabadulását is eredményezheti a Fungitell® reakcióelegyekben, de ezeket az előkezelési folyamat részeként inaktiválják.

14. Metaelemzések

Emellett számos szakmailag lektorált tanulmány jelent meg a szérumbeli (1→3)-β-D-glükánon alapuló módszerekről, melyek az invazív gombás betegségek diagnosztizálását segítik, köztük a diagnosztikai teljesítményt értékelő metaelemzések[32,34,35,36,37].

15. Jelmagyarázat

„Felhasználható a következő időpontig”	„Tanulmányozza a használati utasítást”
„‘N’ teszt elvégzéséhez elegendő mennyiséget tartalmaz”	„Hivatalos képviselő”
„Gyártási tétel kódja”	„CE-jelölés”
„In vitro diagnosztikai orvosi eszköz”	„Kizárólag orvosi rendelvényre”
„Katalógusszám”	„Figyelem!”
„Hőmérséklet-korlátozás”	„Napfénytől távol tartandó”
„Gyártó”	

16. Hivatalos képviselő

EC REP Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, Hollandia

Ausztráliai szponzor: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park 201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Ausztrália

Megjegyzés: az eszközzel kapcsolatban bekövetkező súlyos váratlan eseményt jelenteni kell a gyártónak és azon tagállam illetékes hatóságának, amelyben a felhasználó és/vagy a beteg székhellyel rendelkezik/letelepedett.

17. Elérhetőségek

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

Egyesült Királyság
Associates of Cape Cod Int’l., Inc.
Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool L33 7RX, Egyesült Királyság
Tel: (44) 151–547–7444 • Fax: (44) 151–547–7400
E-mail: info@acciuk.co.uk • www.acciuk.co.uk

Európa
Associates of Cape Cod Europe GmbH
Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Németország
Tel: (49) 61 05–96 10 0

18. Módosítások listája

0 - 11. mód.: A háromszoros teszt kétszeres tesztre módosítva. A reagensvíz LAL reagensvízre (LRW) módosítva. A KCL és KOH komponensek lúgos előkezelő oldatba kombinálva. A mikrotiter lemezt eltávolították a készletből, és igénylés alapján kerül kiszállításra, de nem képezi a csomag tartalmát. Az EK képviselő módosult, és kiegészült az ausztrál szponzorral. Kisebb pontosítások, formázás, szimbólumok hozzáadása, további zavaró anyagok.

19. Referenciák

1. Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
2. De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Concensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
3. 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.
4. Binder, U., Maurer, E., and Lass-Florl, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
5. 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.
6. 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.
7. Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
8. 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.
9. Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
10. Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
11. Lass-Florl, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
12. 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.
13. Litvintseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grgurich, D.E., Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.
14. 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.
15. Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in *Limulus*. Thrombosis Res. 68: 1-32.
16. 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.
17. 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 amebocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
18. 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.
19. Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
20. Kato, A., Takita, T, Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-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. Tamura, H., Arimoto, Y., Tanaka, S., Yoshida, M., Obayashi, T, and Kawai, T. 1994. Automated kinetic assay for endotoxin and (1→3)-β-D-Glucan in human blood. Clin. Chim. Acta 226: 109-112.
25. 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.
26. 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-β-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.
27. 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.
28. 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.
29. 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 Maternernal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-48.
30. 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.
31. 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.
32. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2011; 52:750-70.
33. Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. PLoS One. 2015 Jul 6;10:e0131602.
34. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). Clin Infect Dis. 2012; 54:633-43.
35. Onishi A1, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol. 2012; 50:7-15.
36. Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β-D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2013; 19:39-49.
37. He S[1], Hang JP[3], Zhang L[2], Wang F[2], Zhang DC[1], Gong FH[4] 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. 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.
39. 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

További referenciák a Fungitell.com webhelyen találhatók.

A **teszteljárás gyorskalauz** letölthető a Fungitell.com weboldalról a következő címen: https://www.fungitell.com/pdfs/Fungitell_ProcedureOutline_PR18-016.pdf