

**Tyrimas (1→3)-β-D-gliukanui serume nustatyti „FUNGITELL“<sup>®</sup> TYRIMAS**

***Naudojimo instrukcija***



**ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED**

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

Telefonas: (508) 540-3444  
Nemokamas tel.: (888) 395-2221  
Faksas: (508) 540-8680  
Techninė pagalba: (800) 848-3248  
Klientų aptarnavimas: (800) 525-8378

**K<sub>only</sub>**

**IVD**


**Σ**

**42**

**CE**

PN001268-It 12 red. **REF** FT001

2023-06-13

 Naudojimo instrukciją savo kalba galima rasti apsilankius www.acciusa.com. *Sis gaminys skirtas tik in vitro diagnostikai ir profesionaliam naudojimui.*

#### 1. Numatytoji paskirtis

**„Fungitell“** tyrimas yra proteazių žmogėnų reakcijomis pagrįstas kolorimetrinis analizės metodas, skirtas (1→3)-β-D-gliukanui kokybiškai aptikti pacientų, kuriems pasireiškia invazinės grybelinės infekcijos simptomų ar kyla pavojus ja susirgti dėl sveikatos būklės, kraujo serume.

(1→3)-β-D-gliukano, vieno iš pagrindinių komponentų, sudarančių įvairių medicinių svarbių grybelių ląstelių sienelės<sup>1</sup>, koncentracija serume gali padėti diagnozuoti gelias mikozes ir fungemijų infekcijas<sup>2</sup>. Teigiamas rezultatas nenurodo, kurios genties grybeliai gali būti infekcijos sukėlėjai.

(1→3)-β-D-gliukano titrais reikia remtis kartu su kitais diagnostikos metodais, pvz., mikrobiologinių pasėlių, histologinių biopstatų ir radiologiniais tyrimais.

<p><b>Svarbi informacija</b></p> <p>Šią informaciją pateikite siuntimą išdavusiam gydytojui: <i>Tam tikrų grybelių, pvz., Cryptococcus genties, kurie gamina labai mažai (1→3)-β-D-gliukano, (1→3)-β-D-gliukano koncentracija serume gali būti nepakankamai padidėjusi, kad ją būtų galima aptikti šiuo tyrimo metodu<sup>11</sup>. Pastebėta, kad (1→3)-β-D-gliukano titrai serume taip pat būna maži sergant grybelinėmis infekcijomis, sukeltomis Mucorales poklasio grybelių, pvz., Absidia, Mucor ir Rhizopus<sup>14</sup>, kurie, turimomis žiniomis, negamina (1→3)-β-D-gliukano. Be to, mažai (1→3)-β-D-gliukano gamina ir mielinės fazės Blastomyces dermatitidis grybeliai, todėl šiuo tyrimu gali būti neaptinkami<sup>1</sup>.</i></p> <p>Šias pastabas įtraukite į „Fungitell“<sup>®</sup> tyrimo rezultatų atsakymus.</p>
---

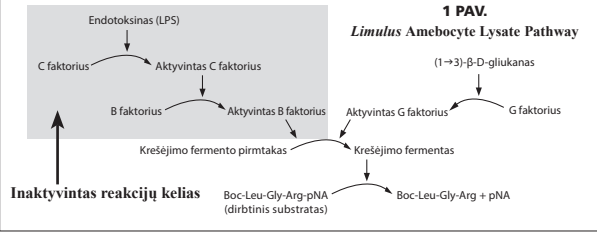
#### 2. Santrauka ir paaikškinimas

Daugėja sergamumo oportunistinių patogenų sukeltomis grybelinėmis infekcijomis atvejų, ypač tarp pacientų, kurių imunitetas yra nusilpęs<sup>3,7,8</sup>. Invazinės grybelinės ligos, tokios kaip oportunistinės infekcijos, dažnai plinta tarp sergančiųjų piktybinėmis kraujo ligomis bei AIDS ir prisideda prie hospitalinių infekcijų skaičiaus didėjimo, ypač tarp persodintų organų recipientų ir kitų ligonių, kuriems taikomas imuninė sistema slopinantis gydymas<sup>9,10</sup>. Daugeliu grybelinių ligų užsikrečiama įkvepiant grybelių sporas, esančių dirvožemyje, augalijos liekanose, oro cirkuliacijos sistemose ir (arba) ant atvirų paviršių. Kai kurių oportunistinių grybelių esama žmogaus odoje ir (arba) ant jos paviršiaus, žarnyne ir gleivinėje<sup>11,12</sup>. Invazinių mikozių ir fungemijų diagnozė paprastai nustatoma nespecifiniais diagnostiniais ar radiologiniais metodais. Greita įprastų diagnostikos metodų, neseniai pradėta taikyti biologinius grybelinių infekcijų žymenį<sup>3</sup>.

Oportunistiniams patogenams priskiriami *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum*, and *Pneumocystis jirovecii*. Šių ir kitų mikroorganizmų gaminamą (1→3)-β-D-gliukaną galima aptikti „Fungitell“<sup>®</sup> tyrimo metodu<sup>13,14</sup>.

#### 3. Metodo principas

„Fungitell“<sup>®</sup> tyrimu matuojama (1→3)-β-D-gliukano koncentracija. Tyrimas pagrįstas *Limulus* amebocitų lizato (LAL) reakčių kelio modifikacija<sup>15,16,17,18</sup>. 1 pav. „Fungitell“<sup>®</sup> reagentas yra modifikuotas panaikinant bakterinių endotoksinių reaktyvumą, kad reaguotų tik su (1→3)-β-D-gliukanu G faktoriaus veikiamoje reakcijų kelio pusėje. (1→3)-β-D-gliukanas suaktyvina G faktorių – serino proteazės žmogėna. Suaktyvinus G faktorius neaktyvų krešėjimo fermento pirmtaką paverčia aktyviu krešėjimo fermentu, kuris savo ruožtu nuo chromogeninio peptidų substrato Boc-Leu-Gly-Arg-pNA atskelia parinitoanilidą (pNA), sudarydamas chromoforą parinitoanilną, kuris sugeria šviesą esant 405 nm bangos ilgiui. Toliau aprašyta „Fungitell“<sup>®</sup> kinetinė analizė pagrįsta mėginio sukkelto optinio tankio stiprėjimo greičio nustatymu. Šį greitį interpretuojant pagal standartinę kreivę, apskaičiuojama (1→3)-β-D-gliukano koncentracija mėginyje.



#### 4. „Fungitell“<sup>®</sup> rinkinyje pateiktos medžiagos

„Fungitell“<sup>®</sup> rinkinys yra skirtas diagnostikai in vitro. Toliau išvardytų kiekviename rinkinyje pateikiamų medžiagų pakanka 110 šulinėlių ištirti dviejose mikrotitravimo plokštelėse (kiekvienoje po 55 šulinėlius):

- „Fungitell“<sup>®</sup> reagentas, (1→3)-β-D-gliukanui specifinio LAL liofilizatas (du buteliukai)
- „Fungitell“<sup>®</sup> reagentas sudarytas iš *Limulus* (t. y. *pasaginio krabio*) *amebocitų lizato* ir *Boc-Leu-Gly-Arg-pNA kolorimetrinio substrato*. *Jame nėra žmogaus ar žinduolių baltymų.*
- „Pyrosol“<sup>®</sup> buferinis tirpiklis (du buteliukai). Daugiau „Pyrosol“ buferinio tirpiklio buteliukų (katalogo numeris BC051) galima įsigyti atskirai. *Jį sudaro 0,2M Tris buferis.*
- Gliukano etalonas, liofilizuotas (1→3)-β-D-gliukanas iš „Pachyman“ (du buteliukai). *Iplimo reagento vandens tūris nurodytas buteliuko etiketėje. Jis kalibruojamas pagal vidinį nuorodinį etaloną.*
- LAL reagentinis vanduo (LRW) (du buteliukai)
- Pastaba:** 20 ml reagentinis vanduo (RGW) ir LRW stikliniuose buteliukuose yra lygiavertėiai.
- Šarminis pirminio apdoravimo tirpalas (du buteliukai), kuriame yra *0,125 M KOH ir 0,6 M KCl*

Nė vieno iš minėtų reagentų, išskyrus etaloną, sudėtyje nėra trukdančios koncentracijos (1→3)-β-D-gliukano.

#### 5. Reikalingos, bet nepateiktos medžiagos

- Jokių medžiagų sudėtyje negali būti galinčių trukdyti gliukano priėmąiš.
- Pipečių antgaliai\* (250 μL – kat. Nr. PPT25, 1000 μL – kat. Nr. PPT10)
  - Tinkamos talpos pipetės 5–25 μL ir 100–1000 μL tirpalams sulaušinti
  - Dozatoriiaus pipetė su švirkšto antgaliais, gebanti įlašinti 100 μL tirpalo
  - Mėgintuvėliai\* etaloninės serijos (kalibravimo kreivės) tirpalams ruošti ir serumo apdorojimo reagentams sumaišyti. (12 x 75 mm – kat. Nr. TB240 arba 13 x 100 mm – kat. Nr. TB013)
  - Inkubacinis (37 °C) plokštelių analizatorius, gebantis atlikti matavimus esant 405 nm (pageidautina, kad gebėtų registruuoti dviejų, 405 ir 490 nm, bangos ilgių srautus), kurio dinaminė sritis ne siauresnė nei 2,0 absorbcijos vienetai, kartu su derama kinetinės analizės kompiuterine programa.
  - Steriltas, be gliukano, mėgintuvėliai mėginių analiotivimam skirstymui. Galima naudoti mėgintuvėlius, kurie yra sertifikuoti kaip RNRazės, DNRazės ir galinę neturintys.
  - „Parafilm“<sup>®</sup> juostelė
  - 96 šulinėlių mikroplokštelės\* **Pastaba:** „Fungitell“<sup>®</sup> tyrimai buvo patikrinti naudojant tolesnių charakteristikų plokšteles: Polistireninės, sterilios, nedengtos, plokščiadugnės, be galinčių trukdyti beta gliukano koncentracijų pagal ACC specifikacijas ir atskirai suvyniotos.

\* Šie „Associates of Cape Cod, Inc.“ (ACC) tiekiami gaminiai yra patvirtinti kaip sudėtyje neturintys galinčių trukdyti gliukano koncentracijų.

#### 6. Reagentų laikymas

- Visus reagentus laikykite gamintojo pakotėje, 2-8 °C temperatūroje, tamsioje vietoje.
- Paruoštą „Fungitell“<sup>®</sup> reagentą reikia laikyti 2–8 °C temperatūroje ir sunaudoti per 2 valandas. Arba paruoštą „Fungitell“<sup>®</sup> reagentą galima saugoti užšaldytą –20 °C temperatūroje iki 20 dienų, paskui jį reikia vieną kartą atšildyti ir sunaudoti.

#### 7. ⚠️Išėjimai ir atsargumo priemonės

- Nepipetuokite jokių medžiagų burna. Nerūkykite, nevalgykite ir negerkite tose vietose, kur dirbama su mėginiais arba rinkinio reagentais.
- Laikykitės darbo ir vietos saugos reikalavimų.
- Dirbdami su biologiniais mėginiais, kurie gali būti užkrečiami arba pavojingi, mūvėkite apsaugines pirštines. Rankos su pirštinėmis visada turi būti laikosomos užterštomis; rankas su pirštinėmis laikykite toliau nuo akių, burnos ir nosies. Jei yra galimybė užsikrėsti aerozoliu, naudokite akių apsaugą ir chirurginę kaukę.
- Pastaba:** Nenaudokite rinkinių, kurių turinys pažeistas.
- Šalinimas: Cheminių medžiagų ir preparatų likučiai paprastai laikomi pavojingomis atliekomis. Šios rūšies atliekų šalinimą reglamentuoja nacionaliniai ir regioniniai įstatymai ir taisyklės. Susisiekite su vietos valdžios institucijomis arba atliekų tvarkymo įmonėmis, kad gautumėte rekomendacijų dėl pavojingų atliekų šalinimo.
- Visų „Fungitell“<sup>®</sup> rinkinio komponentų saugos duomenų lapus galima atsisiųsti iš ACC internetinės svetainės: www.acciusa.com.

#### 7.1 Procedūrinės atsargumo priemonės

- Atliekant „Fungitell“<sup>®</sup> tyrimą, būtinas ypatingas atidumas metodo reikalavimams ir tyrimo aplinkai. Kad tyrimas būtų efektyvus, kritiškai svarbu specialistą nuodugniai apmokyti tyrimo metodikos ir užtikrinti apsaugos nuo užterštumo priemonės.
- Laikykitės geros laboratorinės praktikos pagal vietinius reglamentus. Šis tyrimas yra jautrus užteršimui ir pipetavimo netikslumui.
- Pasirūpinkite, kad ten, kur atliekamas tyrimas, būtų švari aplinka.
- Reikia atsiminti, kad gliukanas, taip pat grybeliniai užkratai, patekę nuo žmogaus kūno, drabužių, talpyklių, vandens ir ore pasklidusių dulkių, gali iškreipti „Fungitell“<sup>®</sup> tyrimo rezultatus.

- Galimi užteršimo šaltiniai yra celuliozės turinčios medžiagos, tokios kaip marlė, popierinės servetėlės ir kartonas, stiklinės pipetės su vatos kamščiais ir pipetės antgaliai su celuliozės filtrais. Chirurginės marlės įrišimai ir kempinės taip pat gali išskirti daug (1→3)-β-D-gliukano<sup>11,12</sup>. Apie kitus su pacientu susijusius taršos šaltinius žr. tyrimo skirnyje „Tyrimo metodo apribojimai“.
- Nenaudokite medžiagų pasibaigus jų tinkamumo terminui.

#### 7.2 Mėginių tvarkymas

- Kraujo paėmimas ir serumo paruošimas turi būti atliekamas laikintis taikomų vietinių taisyklių. Mėginių ėmimas: kraujo mėginius serumui ruošti galima imti į sterilius serumo ruošimo mėgintuvėlius arba serumo mėgintuvėlius su atskiriamuoju geliu (SST).
- Mėginių laikymo sąlygos: serumo mėginiai gali būti laikomi 2–8 °C temperatūroje iki 15 dienų arba užšaldyti –20 °C temperatūroje iki 27 dienų arba –80 °C temperatūroje iki 4 metų.
- Mėginių ženklinimas: mėginius reikia aiškiai paženklinati vadovaujantis įstaigoje patvirtintoms praktikoms tvarka.

#### 8. Procedūra

##### 8.1 Įrenginio nustatymas ir testavimo programavimas

Įvairių prietaisų ir programinės įrangos nuostatos gali skirtis. Bendra darbo eiga: Nustatykite plokštelių analizatoriaus programinę įrangą duomenimis registruoti „Vmean“ režimu. Pasitikslinkite programinės įrangos vadove, kaip reikiamai nustatyti parametrus, kad visiems sukauptiems duomenų taškams skaičiuojama vertė būtų vidutinis optinio tankio pokyčio greitis. Nustatykite patį siauriausią detektoriaus srauto matavimo intervalą, koks tik programinėje įrangoje ir (arba) prietaise yra leistinas 40 minučių trukmės tyrimo procesui. Programinės įrangos bangos ilgį nuostatos turi būti 405 nm atimant foną ties 490 nm. Rekomenduojama naudoti abu bangos ilgius, bet jei dvigubo bangos ilgio rodmenų nėra, perskaitykite tyrimą esant 405 nm ir ištrikite kiekvieno paciento mėginio kinetinę kreivę, ar nėra trukdžių požymių (daugiau informacijos rasite 9.0 skirnyje). Nustatykite 37 °C inkubavimo temperatūrą. Užprogramuokite 5-10 sekundžių trukmės mąsymo /plokštelių purtymo etapą prieš matavimo pradžią. Nustatykite kreivės funkcinio aproksimavimo parametrą, kad būtų „tiesinis / tiesinis“ arba lygiavertis. Matavimas turi prasidėti be jokio uždelsimo.

#### 8.2 Rinkinyje pateikto gliukano etalono paruošimas.

- Paruoškite 100 pg/ml tirpalą, ištirpindami viename buteliuke esantį gliukano etaloną ant buteliuko etiketės nurodytame reagentinio vandens (LRW) kiekyje. Plakite mažiausiai 30 sekundžių sukūriniėje maišyklėje vidutiniu ar vidutiniškai dideliu greičiu, kad etaloninis preparatas ištirptų (1 tirpalas). Gliukano tirpalą reikia laikyti 2-8 °C temperatūroje ir sunaudoti per tris dienas. Toliau b-e etapuose aprašytas pavyzdys, kaip pasirošti standartinės kreivės sudarymui.
- Paruoškite 50 pg/ml etaloninį tirpalą (2 tirpalas) sumaišydami 500 μL LRW ir 500 μL 1 tirpalo mėgintuvėlyje be gliukano (2 tirpalas). Mažiausiai 10 sekundžių plakite sukūrine maišykle.
- Paruoškite 25 pg/ml etaloninį tirpalą (3 tirpalas) sumaišydami 500 μL LRW ir 500 μL 2 tirpalo mėgintuvėlyje be gliukano (3 tirpalas). Mažiausiai 10 sekundžių plakite sukūrine maišykle.
- Paruoškite 12,5 pg/ml etaloninį tirpalą (4 tirpalas) sumaišydami 500 μL LRW ir 500 μL 3 tirpalo mėgintuvėlyje be gliukano (4 tirpalas). Mažiausiai 10 sekundžių plakite sukūrine maišykle.
- Paruoškite 6,25 pg/ml etaloninį tirpalą (5 tirpalas) sumaišydami 500 μL LRW ir 500 μL 4 tirpalo mėgintuvėlyje be gliukano (5 tirpalas). Mažiausiai 10 sekundžių plakite sukūrine maišykle.

#### 8.3 Atidarykite šarminio pirminio apdorojimo tirpalo buteliuką.

Šarminis pirminio apdorojimo tirpalas paverčia trigubos spiralės gliukanus vienos vijos gliukanais<sup>11,18</sup>, kurie yra reaktyvesni tyrimė. Be to, šarminis pH daro serumo proteazę ir inhibitorius, kurie gali trukdyti tyrimui, neaktyviais<sup>14</sup>.

Išmeskite buteliuką (laboratorijoje nustatyta tvarka); jei ketinate jį naudoti kito tyrimo metu, uždenkite „Parafilm“ juostele, klijuodami prie apsauginio popieriaus priklipinta „Parafilm“ puse.

#### 8.4 Mikrotitravimo plokštelės paruošimas

Paruoškite programos mikrotitravimo plokštelių maketą, įtraukdami etalonus (Std), neigiamos kontrolės (Neig) mėginius ir 21 mėginį (Spl). Rekomenduojamas šis maketas:

	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		Neig.	Neig.		SPL3	SPL6	SPL9	SPL12	SPL15	SPL18	SPL21	
H												

Programoje įveskite etaloninių tirpalų koncentracijų nuostatas, atitinkamai, 500, 250, 125, 62,5 ir 31 pg/ml.

Atkreipkite dėmesį, kad etaloninės koncentracijos yra penkis kartus didesnės už aukščiau esančiame 8.2 skirnyje paruoštų tirpalų. Taip yra dėl to, kad tyrimo metu viename šulinėlyje naudojamo etaloninio tirpalo 25 μL tūris penkis kartus viršija tiriamojo serumo mėginio tūrį (žr. 8.5 b. punktą toliau). Taigi serumo mėginys efektyviai praskiedžiamas penkis kartus, palyginus su etalonu. Padauginus etalonines koncentracijas iš penkių, šis praskiedimas kompensuojamas.

**Pastaba:** Galima naudoti išorinius šulinėlius, jei patvirtinta, kad išorinių šulinėlių veikimo kokybė prilygsta vidinių šulinėlių kokybei.

**Pastaba:** Neigiamos kontrolės duomenys standartinei kreivei naudojami.

#### 8.5 Serumo ir šarminio išankstinio apdorojimo tirpalo pridėjimas.

- Kambario temperatūroje atšildykite užšaldytus serumo mėginius. Visus mėginius gerai suplakite sukūrine maišykle – ne trumpiau kaip 30 sekundžių nustatytu vidutiniu arba vidutiniškai dideliu greičiu.
- Perplikite po 5 μL serumo mėginio į kiekvieną iš jam priskirtų šulinėlių (Uk), naudodami bent po du kartotinius mėginius. Tą pat pakartokite su kiekvienu serumo mėginiu.
- Į kiekvieną šulinėlį su serumu įpilkite 20 μL šarminio pirminio apdorojimo tirpalo. Užtikrinkite, kad serumo ir pirminio apdorojimo tirpalų lašeliai vienas su kitu susiliestų. Pastaba: Specialisto nuožūūra b ir c veiksmas galima atlikti atvirktine tvarka. Pastaba: Siekiant išvengti atsitiktinio užteršimo, šulinėlius užpildžius mėginiais ir reagentais mikroplokštėlę vėl reikia uždengti dangčiu.
- Purtykite plokštelę 5-10 sekundžių, kad susimaišytų šulinėlių turinys (galima taikyti analizatoriaus plokštelių purtymo funkciją), paskui 10 minučių inkubuokite 37 °C temperatūroje inkubaciniame plokštelių analizatoriuje.

#### 8.6 „Fungitell“<sup>®</sup> reagento tirpalo paruošimas.

Pastaba: Tai patogų atlikti, kol vyksta pirminio apdorojimo inkubacinis procesas. Suderinus tirpalų ruošimo laiką, bus geresni atkuriamumo rezultatai, nes „Fungitell“<sup>®</sup> reakcija prasideda, nors ir silpnai, kai tik reagentas ištirpintas.

Ištiprinkite vieno „Fungitell“<sup>®</sup> reagento buteliuko turinį, 1000 μl talpos pipete įleisdami 2,8 ml LAL reagentinio vandens (angl. „LAL Reagent Water“; LRW) ir po to įleisdami 2,8 ml „Pyrosol“ buferinio tirpiklio. Buteliuką uždenkite „Parafilm“ juostele, klijuodami prie apsauginio popieriaus priklipinta „Parafilm“ puse. Atsargiai pasukiokite buteliuką, kad turinys visiškai ištirptų – neplakite sukūrine maišykle.

#### 8.7 Neigiamos kontrolės ir gliukano etaloninių tirpalų pridėjimas.

Pasibaigęs serumo pirminio apdorojimo inkubacija (8.5 d. skyrus), išimkite plokštelę iš inkubacinio plokštelių analizatoriaus ir į ją išpilkite etaloninius ir neigiamos kontrolės tirpalus. Rekomenduojama etalonų koncentracijų paskirstymo schema:

- Išleiskite 25 μL LRW į G2 ir G3 šulinėlius.
- Išleiskite 25 μL 6,25 pg/ml 5 etaloninio tirpalo į F2 ir F3 šulinėlius, pažymėtus kaip 31,25 pg/ml.
- Išleiskite 25 μL 12,5 pg/ml 4 etaloninio tirpalo į E2 ir E3 šulinėlius, pažymėtus kaip 62,5 pg/ml.
- Išleiskite 25 μL 25 pg/ml 3 etaloninio tirpalo į D2 ir D3 šulinėlius, pažymėtus kaip 125 pg/ml.
- Išleiskite 25 μL 50 pg/ml 2 etaloninio tirpalo į C2 ir C3 šulinėlius, pažymėtus kaip 250 pg/ml.
- Išleiskite 25 μL 100 pg/ml 1 etaloninio tirpalo į B2 ir B3 šulinėlius, pažymėtus kaip 500 pg/ml.

#### 8.8 „Fungitell“<sup>®</sup> reagento pridėjimas ir plokštelės inkubavimo procedūra.

- Naudodami graduotą (dozatoriaus) pipetę, į kiekvieną šulinėlį (su neigiamos kontrolės ir etaloniniais tirpalais bei mėginiais) įleiskite po 100 μL „Fungitell“<sup>®</sup> reagento.
- Plokštelę įdėkite į mikroplokštelių analizatorių (subalansuotą iki 37 °C), uždengtą dangčiu, ir papurtykite 5–10 sekundžių.

Plokštelę analizuokite, **neuždengtą dangčiu**, 40 minučių 37 °C temperatūroje esant 405 nm bangos ilgiu atimant 490 nm. Pastaba: Jei prietaisas nesuteikia laiko nuimtį dangčių tarp purtymo ir analizavimo, purtykite be dangčio, kad užtikrintumėtė galimybę analizuoti be dangčio.

#### 9. Apskaiciuokite rezultatus.

Duomenis registruokite ir analizuokite tokiu būdu: Analizuokite tiriamųjų mėginių kinetines schemas ir stebėkite, ar kinetinėje kreivėje nėra nukrypimų nuo nuoseklaus kilimo, atitinkančio etalonų kreivės pobūdį. Atmeskite grafikus, kurie rodo optinių trukdžių įtaką (pvz., jų kinetinės kreivės neatitinka etaloninių mėginių). Apskaiciuokite vidutinį optinio tankio pokyčio greitį (mili-absorbcijos vienetais per minutę) visiems duomenų taškams nuo 0 iki 40 minučių (atlieka programinė įranga). Interpoliuokite mėginio (1→3)-β-D-gliukano koncentracijas pagal standartinę kreivę (atlieka programinė įranga).

#### 10. Kokybės kontrolė

- Koreliacijos koeficientas (r) lyginant su standartine kreive (tiesinė lyginant su tiesine) turi būti ≥0,980.
- Šulinėliai, kuriuose įpilta 25 μL LRW, skirti neigiamai kontrolei. Neigiamos kontrolės reakcijos greičio (mili-absorbcijos vienetais per minutę) faktinės vertės neturi siekti 50 % mažiausios koncentracijos etalono reakcijos greičio. Jei taip nėra, tyrimą reikia pakartoti naudojant visus naujus reagentus.
- Sudėtingų mėginių tvarkymas. Laborantui pastebėjus neįprastų kinetikos apraiškų tiriant mėginį, pavyzdžiui, mėginį, kuris yra neskaidrus, pakitusios spalvos arba drumstas (pvz., stiprus hemolizės ar lipemijos poveikis arba bilirubino perteklius), toį mėginį būtina atskiesti LRW ir ištirti dar kartą. Pateiktai rezultatui, reikia atsižvelgti į skiedimą ir padauginuti rezultatą iš praskiedimo koeficiento. **Paprastai praskiedimo koeficientas įvedamas programuojant mėginio parametrus ir korekcija vyksta automatiškai.**

**Pastaba:**

- Kiekvienas tyrimo naudotojas turi įdiegti kokybės kontrolės programą, kad būtų užtikrinta šių tyrimų veikimo kokybės atitikties vietoje taikomiems nominiams reikalavimams.
- Rekomenduojama tirti kontrolinius serumo mėginius (neigiamus, artimus ribinei vertei arba labai teigiamus), atsižvelgiant į tolesnius laboratorinius patikrinimus ir gerą laboratorinę praktiką. Jie neįtraukti į „Fungitell<sup>™</sup> rinkinį.

#### 11. Rezultatų interpretavimas NEIGIAMAS REZULTATAS

< 60 pg/ml (1→3)-β-D-gliukano vertės yra interpretuojamos kaip neigiami rezultatai.

Tyrimą atliekanti laboratorija turi informuoti siuntimą išrašiusį gydytoją, kad ne visos grybelinės infekcijos sukelia (1→3)-β-D-gliukano koncentracijos padidėjimą serume. Kai kurie grybeliai, pvz., *Cryptococcus*3,4 genties, gamina labai mažai (1→3)-β-D-gliukano. Nėra žinoma, kad *Mucorales*, pvz., *Absidia*, *Mucor* ir *Rhizopus*<sup>1</sup>, gamintų (1→3)-β-D-gliukaną. Panašiai, *Blastomyces dermatitidis* grybeliai mielienėje gamina mažai (1→3)-β-D-gliukano, todėl (1→3)-β-D-gliukano koncentracija blastomikozės pacientų mėginiuose „Fungitell<sup>™</sup>“ tyrimo metodu paprastai neaptinkama<sup>4</sup>.

#### NEAPIBRĖŽTAS REZULTATAS

Vertės nuo 60 iki 79 pg/ml laikomos neaiškiosiomis. Rekomenduojama dar kartą paimti ir iširti serumo mėginius. Dažnai imant ir tiriant mėginius, padidėja tikslesnės diagnozės tikimybė.

#### TEIGIAMAS REZULTATAS

≥80 pg/ml (1→3)-β-D-gliukano vertės yra interpretuojamos kaip teigiami rezultatai. Teigiamas rezultatas neapibrėžia ligos buvimo, todėl nustatant diagnozę turi būti vertinamas kartu su kitais klinikiniais rodikliais.

#### 12. Tyrimo metodo apribojimai

- Šios analitės koncentracijai serume gali turėti įtakos grybelinės infekcijos išplitimo vietos audiniuose<sup>2</sup>, inkapsuliacija ir tam tikrų grybelių gaminamas (1→3)-β-D-gliukano kiekis. Esant mažesniam gebėjimui (1→3)-β-D-gliukanui patekti į kraujotaką, gali sumažėti tikimybė aptikti kai kurias grybelines infekcijas.
- Kai kurių žmonių padidėjusi (1→3)-β-D-gliukano koncentracija patenka į neapibrėžties sritį. Tokiais atvejais rekomenduojama atlikti papildomus stebėjimo tyrimus.
- Pacientų mėginių tyrimų dažnumas priklauso nuo santykinės grybelinės infekcijos rizikos. Rizikos grupės pacientų mėginius rekomenduojama imti bent du-tris kartus per savaitę.
- Teigiami rezultatai nustatyti hemodializės pacientu<sup>10,18</sup>, asmenų, gydymų tam tikrais kraujo frakcijų produktais, pvz., seroalbuminu ir imunoglobulinais<sup>2,25</sup>, taip pat asmenų, turėjusių sąlytį su gliukanu užteršta marle ir chirurginiais tamponais, mėginiuose. Po chirurginio sąlyčio su (1→3)-β-D-gliukanu užterštais tamponais ir marle turi praėti 3–4 dienos, kol pacientų serume atsistato pradinė (1→3)-β-D-gliukano koncentracija<sup>12</sup>. Todėl planuojant operuotų pacientų mėginių ėmimo laiką, į tai reikia atsižvelgti.
- Mėginiai, gauti paėmus kapiliarinį kraują iš kulno ar piršto, yra nepriimtini, nes nustatyta, kad alkoholiu svulvyta marlė, naudojama dūrio vietai paruošti (ir galimai ant odos paviršiaus nutėkėjęs kraujas), užteršia mėginius. Iki šiol atliktoose tyrimuose skirtingų tarp mėginių, paimtų per įstatytą ilgaliaikį kateterį ir veninės punkcijos būdu, nenustatyta<sup>26,27</sup>.
- Įsamią veiksnių, prisidedančių prie 1→3)-β-D-gliukano klaidingai teigiamų rezultatų, apžvalgą žr. Finkelman, M.A., „Journal of Fungi“ (2021 m.).
- Tiriamųjų koncentracijų normos nustatytos suaugusiesiems. Normalios ir ribinės kėdikių bei vaikų koncentracijos tiriamos<sup>28,29</sup>.

#### 13. Metrologinės charakteristikos

##### 13.1 Ribinės ir numatomos vertės

Daugiacentris, perspektyvinis tyrimas<sup>31</sup>, atliktas siekiant nustatyti „Fungitell<sup>™</sup>“ tyrimo diagnostinį jautrumą ir diagnostinį specifiskumą (žr. palyginimo tyrimą žemiau), parodė, kad beta gliukano vertės yra padidėjusios sergant įvairiomis grybelinėmis infekcijomis. Kai požymių ir simptomų pasireiškia esant 80 pg/ml ar didesnei koncentracijai, prognozinė vertė, kad tiriamasis pacientas užsikrėtęs grybeline infekcija, svyruoja nuo 74,4 iki 91,7 %. Kai požymių ir simptomų nebuvo esant mažesnei kaip 60 pg/ml koncentracijai, neigiamos prognozės vertės svyravo nuo 65,1 % iki 85,1 %.

#### 13.2 Klinikinis efektyvumas

Buvo atliktas daugiacentris, perspektyvinis tyrimas, skirtas „Fungitell<sup>™</sup>“ tyrimo metodo metrologinėms charakteristikoms patvirtinti<sup>31</sup>. Tyrimas buvo palygintas su kitais standartiniais mikozijų ir fungemijų nustatymo metodais (t. y., kraujo pasėlių, histopatologinių biopstatų tyrimų ir radiologinio įvertinimo metodais).

Šiuo tyrimo metodu buvo iširti trys šimtai penkiasdešimt devyni (359) tiriamieji. Iš kiekvieno tiriamojo paimta po vieną mėginį. Tarp mažos rizikos tiriamųjų buvo tariamai sveiki asmenys ir tie klinikinių centrų pacientai, kurie buvo paguldyti į ligoninę dėl kitų nei grybelinė infekcija priežasčių. Tiriamųjų atranka buvo vykdoma šešiuose Jungtinių Valstijų klinikiniuose centruose. Keturiuose iš tų klinikinių centrų iš viso iširti 285 mėginiai taikant šį tyrimo metodą. ACC visus 359 mėginius ištryė po du kartus, bet metodo metrologinėms charakteristikoms nustatyti rėmėsi tik antrąja rezultatų serija. Antrosios analizių serijos rezultatai statistiškai nesiskyrė nuo pirmosios serijos.

- Diagnostinis jautrumas**
Metodo jautrumas visose tiriamųjų populiacijose (359), įskaitant kriptokokozės pacientus, buvo 65,0 % ((60,1–70,0 % 95 % pasiklivomo intervalas (PI)) (1 lentelė).
- Diagnostinis specifiskumas**
Specifiskumas buvo 81,1 % (77,1-85,2 % PI). Išanalizavus 170 tiriamųjų, kuriems nebuvo nustatyta grybelinė infekcija, ir kurie, sprendžiant iš išvaizdos, buvo sveiki asmenys, specifiskumas buvo 86,5 % (82,8 % – 90,1 % PI). Papildomai įtraukus dar 26 tiriamuosius, kuriems nebuvo nustatyta grybelinės infekcijos, bet nustatyta kitų sutrikimų, specifiskumas buvo 81,1 % (77,1 % – 85,2 % PI).

1 lentelė	ACC tyrimų rezultatai pagal tyrimo centrus, esant 60-80 <span> </span> pg/ml slenkstinei aptikimo koncentracijai							
	Irodytas / tikėtinas Jautrumas ≥80 <span> </span> pg/ml		Specifiskumas <60 <span> </span> pg/ml					
Tyrimo centras	Teig. / klin. teig.	Jautrumas	Teigiama prognozinė vertė	Neig. /klin. neig.	Specifiskumas	Neigiamas prognozinė vertė	Iš viso	
								Neapibrėžtas (60⇒X<80)
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	0/0	N	0,0	0	1
Iš viso	106/163	65,0	80,9	159/196	81,1	76,8	21	359

Kai rezultatai, gauti ACC (359 mėginių) ir klinikiniuose centruose (285 mėginių), lyginami su klinikine diagnoze, ACC aptikimo jautrumas yra 64,3 % (58,8 % – 69,9 % PI), o tyrimo centrų – 61,5% (55,9 % – 67,2 % PI). ACC nustatytas specifiskumas yra 86,6 % (82,7 % – 90,6 % CI), palyginus su 79,6 % (74,9 % – 84,3 % CI) tyrimo centruose

#### Kandidozė

Perspektyvino tyrimo metu 107 tiriamiesiems buvo nustatyta teigiama kandidozės diagnozė. 83 iš 107 teigiamų rezultatų gauti „Fungitell<sup>™</sup>“ tyrimo metodu.

„Associates of Cape Cod, Inc.“ buvo pateikti šimtas septyniasdešimt penki kandidozių bibliotekos mėginiai. 145 iš 175 teigiamų rezultatų gauti šiuo tyrimo metodu.

#### Aspergiliozė

Iš viso 10 tiriamųjų mėginiai aspergiliozei nustatyti buvo teigiami. 8 iš 10 tyrimo metu buvo teigiami šiuo tyrimo metodu.

#### Fuzariozė

Trijų tiriamųjų mėginiai fuzariozei nustatyti buvo teigiami. 2 iš 3 tyrimo metu buvo teigiami šiuo tyrimo metodu.

#### Gydymas priešgrybeliniais vaistais

Gydymo priešgrybeliniais vaistais buvimas ar nebuvimas neturėjo statistiškai reikšmingo poveikio tyrimo jautrumui. 118 tiriamųjų mėginiai buvo teigiami invazinės grybelinės infekcijos ir priešgrybelinio gydymo metu. 82 buvo teigiami šiuo tyrimo metodu (jautrumas, 69,5 %; 61,2 % – 77,8 % PI). Be to, dvidešimt keturių (24) tiriamųjų rezultatai buvo teigiami, bet tiriamieji nebuvo gydomi jokių priešgrybeliniu gydymu. 18 buvo teigiami šiuo tyrimo metodu (jautrumas, 75 %; 57,7 % – 92,3 % PI).

#### 13.3 Tyrimų koreliacija

Keturiuose iš klinikinių centrų šiuo metodu iš viso iširti 285 mėginiai. Tyrimų centruose atliktų tyrimų rezultatai 96,4 % kiekybiškai koreliavo su „Associates of Cape Cod, Inc.“ rezultatais. „Associates of Cape Cod, Inc.“ rezultatų koreliacija su kitais tyrimų centrais svyravo nuo 90,6 % iki 99,2 %.

#### 13.4 Glaudumas

„Fungitell<sup>™</sup>“ tyrimo tikslumas (t. y. pakartojamumas ir atkuriamumas) buvo įvertintas naudojant dešimt (10) skirtingų mėginių, kurių kiekvienas buvo tiriamas trijose tyrimo vietose tris skirtingas dienas. Svyravimas tyrimė siekė nuo 0,9 % iki 28,9 % ir buvo pakartojamumo matas. Svyravimas tarp tyrimų serijų siekė nuo 3,9 % iki 23,8 % ir buvo atkuriamumo matas. Iš abiejų analizių buvo atmesti visi keturi (4) neigiami mėginiai.

#### 13.5 Matavimo diapazonas ir tiesiskumas

Rezultatai yra išreikšti serumo pg/ml; jie apima sritį nuo neaptinkamos koncentracijos (< 31 pg/ml) iki > 500 pg/ml ir gali būti išpausdinami programinės įrangos arba nuskaitymi iš standartinės kreivės. Norint gauti tikslias 500 pg/ml viršijančios koncentracijos vertes, mėginį reikia atskiesti reagentiniu vandeniu (LRW) ir tyrimą pakartoti. Kaip nurodyta kokybės kontrolės skyriuje, standartinės kreivės (tiesinės ir tiesinės), apimančios „Fungitell<sup>™</sup>“ tyrimo matavimo diapazoną, koreliacijos koeficientas (r) turi būti ≥0,980, o neigiamų kontrolių reakcijos greičio (pvz., mili-absorbcijos vienetai per minutę) vertės mažesnės nei 50 % žemiausio etaloninio reakcijos greičio. Jei taip nėra, tyrimą reikia pakartoti naudojant visus naujus reagentus.

#### 13.6 Trukdančiosios medžiagos














- „Fungitell<sup>™</sup>“ tyrimo rezultatų tikslumui gali turėti įtakos šios mėginių būklės:
  - Pakitusi spalva arba drumstumas, pvz., stipriai hemolizės paveiktų, lipemiskųjų arba bilirubino prisotintų mėginių, gali sukelti optinius trukdžius atliekant tyrimą. Jei tokie mėginiai analizuojami, tyrimo rezultatus reikia atidžiai patikrinti, ar nematyti optinių trukdžių ir (arba) neįprastų kintinių nuokrypių požymių.

- Padidėjusi imunoglobulino G koncentracija, kokia galėtų būti serume, pavyzdžiui, dėl daugybės mielomos, gali sukelti nuoseklas reakcijos mišinyje į iš anksto apdorotą serumą pridėjus „Fungitell<sup>™</sup>“ reagento<sup>30</sup>.
- Šio dokumento parengimo metu nebuvo aprašytas joks kitas „Fungitell<sup>™</sup>“ reagento aktyvinantis G faktorius ((1→3)-β-gliukaninio elementas) nei (1→3)-β-gliukanas.. Kai kuriuose tyrimuose, kuriuose buvo patvirtintas kryžminis reaktyvumas, tariamos aktyvinančios medžiagos adporojimas išsgrįnaita (1→3)-β-gliukanaze pašalino signalą, parodydama, kad pastebėtas aktyvinimas įvyko dėl užteršimo (1→3)-β-gliukanu<sup>1</sup>. Dėl serino proteazių užteršimo „Fungitell<sup>™</sup>“ reakcijos mišiniuose taip pat gali išsiskirti parantiroanilinas, tačiau jie yra inaktyvinami pirminio adporojimo proceso metu.

#### 14. Metaanalizė

Be to, serumo (1→3)-β-D-gliukano taikymo invazinėms grybelinėmis ligomis diagnozuoti tema paskelbta daug recenzuotų tyrimų, įskaitant diagnostinio efektyvumo metaanalizes<sup>22,34,35,37</sup>.

#### 15. Simbolių reikšmės

	„Tinka iki“		„Skaityti naudojimo instrukciją“
	„Pateiktų medžiagų pakanka n tyrimų“		„Igaliotasis atstovas“
	„Partijos kodas“		„CE ženklas“
	„In vitro diagnostikos medicinos priemonė“		„Tik pagal receptą“
	„Katalogo Nr.“		„Atsargiai“
	„Temperatūros ribos“		„Saugoti nuo saulės spindulių“
	„Gamintojas“		

#### 16. Igaliotasis atstovas

Užsakovas Australijoje: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park 201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australija

**Pastaba:** Apie rimtą incidentą, susijusį su priemone, pranešama gamintojui ir valstybės narėis, kurioje yra naudotojas ir (arba) pacientas, kompetentingai institucijai.

#### 17. Kontaktinė informacija

##### Įmonės būstinė

##### Associates of Cape Cod, Inc.

124 Bernard E. Saint Jean Drive, East Falmouth, MA 02536-4445 JAV

Tel.: (888) 395-2221 arba (508) 540-3444 • Faksas: (508) 540-8680

El. paštas: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

#### Jungtinė Karalystė

##### Associates of Cape Cod Int’l, Inc.

Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool L33 7RX, Jungtinė Karalystė

Tel.: (44) 151–547–7444 • Faksas: (44) 151–547–7400

El. paštas: info@acciuک.ou.uk • www.acciuک.ou.uk

#### Europa

##### Associates of Cape Cod Europe GmbH

Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Vokietija

Tel.: (49) 61 05–96 10 0

#### 18. Peržiūrų istorija

0–11 red.: Trijų egzempliorių tyrimas pakeistas į dublikatų tyrimą. Reagentinės klasės vanduo pakeistas LAL reagentiniu vandeniu. KCL ir KOH komponentai sujungti į šarminį pirminio adporojimo tirpalą. Iš rinkinio pašalinta mikroplokštelė; ji reikalinga, bet nepridedama. Pakeistas EK atstovas ir pridėtas Australijos rėmėjas. Smulkūs paaiškinimai, formatavimas, simbolių papildymas, papildomos trukdančios medžiagos.
12 red.: Pašalinta: atstovas ES „Emergo Europe“.

#### 19. Literatūros šaltiniai

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-galactan 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.
- 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.
- 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.

10. Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. *Transp. 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 Anaisie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. *Clin. Chest Med.* 30: 295-306.

13. Livintseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grurich, D.E., Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnosis 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., Aketagawa, 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 hemolymp 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* amoebocyte 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 Internationall* 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* 99:15-19.

21. Kanamoto, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Aneku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hata, M., Yamamoto, N., Kimishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakati, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauge 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-gluacan (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. Raici, Z., Koemanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, L., 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. Postergaur, D. De Pascale, G., Tambarello, M., Torelli, R., Pennisi, M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sangunetti, 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-gluacan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-gluacan test in children. *Clin. Vaccine Immunol.* 14: 924-925.

29. Goudji, S., Kongolo, G., Dusol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-gluacan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. *J. of Maternal-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-gluacan assays for patients with multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia. *J. Clin. Micro*