

Assay voor (1→3)-β-D-glucaan in serum	
<b>FUNGITELL®-ASSAY</b>	
<b>Gebruiksaanwijzing</b>	
 <p><b>ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED</b></p> <p>124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02556 VS</p>	Telefoon: (508) 540-3444 Gratis: (888) 395-2221 Fax: (508) 540-8680 Technische ondersteuning: (800) 848-3248 Klantenservice: (800) 525-8378
	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">      </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div>
PN001268-ri rev12	REF F1001
2023-06-13	

Ga naar www.acciusa.com voor de gebruiksaanwijzing in uw taal.

*Dit product is uitsluitend bestemd voor professioneel gebruik bij in-vitrodiagnostiek.*

#### 1. Beoogd gebruik

De **Fungitell®**-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 schimmels<sup>1</sup>, kan worden gebruikt als hulpmiddel bij de diagnose van diepe mycosen en fungemieën<sup>2</sup>. Een positief resultaat geeft niet aan door welk schimmelgeslacht de infectie mogelijk veroorzaakt wordt.

(1→3)-β-D-glucaaniters moeten worden gebruikt in combinatie met andere diagnostische procedures, zoals een microbiologische kweek, histologisch onderzoek van biopsimonsters en radiologisch onderzoek.

<p><b>Belangrijk</b></p> <p>Verstrek deze informatie aan de aanvragende arts: <i>Bij bepaalde schimmels, zoals het geslacht Cryptococcus dat zeer lage (1→3)-β-D-glucaanconcentraties produceert, is het mogelijk dat de (1→3)-β-D-glucaanconcentratie in serum niet hoog genoeg is voor detectie door de assay<sup>1,4</sup>. Bij infecties met schimmels van de orde Mucorales, zoals Absidia, Mucor en Rhizopus<sup>5,6</sup>, waarvan niet bekend is dat ze (1→3)-β-D-glucaan produceren, is ook waargenomen dat ze lage (1→3)-β-D-glucaaniters in serum produceren. Bovendien produceert de gistfase van Blastomyces dermatitidis weinig (1→3)-β-D-glucaan, waardoor het mogelijk niet door de assay wordt gedetecteerd<sup>7</sup>.</i></p> <p>Voeg deze verklaring toe als u de resultaten van de Fungitell®-assay rapporteert.</p>
--

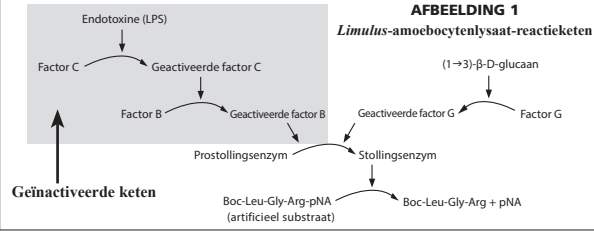
#### 2. Samenvatting en uitleg

Er is een toenemende incidentie van schimmelinfecties door opportunistische pathogenen, vooral bij patiënten met een gecompromiteerd immuunsysteem<sup>7,8</sup>. Invasieve schimmelziekten, zoals opportunistische infecties, komen vaak voor bij patiënten met hematologische maligniteiten en aids. Ze zijn een verklaring voor een groeiend aantal nosocomiale infecties, vooral bij ontvangers van een orgaantransplantaat en andere patiënten die met immunosuppressiva behandeld worden<sup>9</sup>. Veel schimmelziekten worden opgelopen door het inademen van schimmelsporen uit de bodem, plantaardig detritus, luchtbehandelingssystemen en/of blootgestelde oppervlakken. Sommige opportunistische schimmels bevinden zich in/op de menselijke huid, het darmkanaal en de slijmvliezen<sup>11,2</sup>. 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 methoden<sup>1</sup>.

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®-assay worden gedetecteerd<sup>10,11,14</sup>.

#### 3. Werkingsprincipe

De Fungitell®-assay meet (1→3)-β-D-glucaan. De assay is gebaseerd op een wijziging van de reactieketen van het *Limulus*-amoebocytenlysaat (LAL)<sup>15,16,17,18</sup>, Afbeelding 1. Het Fungitell®-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 paranitroanilide (pNA) afsplitjt van het chromogene peptidesubstraat, Boc-Leu-Gly-Arg-pNA, waardoor de chromofoor paranitroaniline ontstaat die bij 405 nm absorbeert. De hieronder beschreven kinetische Fungitell®-assay is gebaseerd op de bepaling van de snelheid van de door een monster geproduceerde toename in optische dichtheid. Deze snelheid wordt vergeleken met een kalibratielijm om schattingen van de (1→3)-β-D-glucaanconcentratie in het monster te verkrijgen.



#### 4. Met de Fungitell®-kit meegeleverde materialen

De Fungitell®-kit is bestemd voor gebruik bij in-vitrodiagnostiek. De volgende met elke kit meegeleverde materialen zijn voldoende voor de assay van 110 wells op twee microtiterplaten (55 wells op elke plaat):

- Fungitell®-reagens, een gelyofiliseerd LAL specifiek voor (1→3)-β-D-glucaan (twee flesjes). *Het Fungitell®-reagens bestaat uit amoebocytenlysaat van Limulus (d.w.z. degenkrab) en het colorimetrische substraat Boc-Leu-Gly-Arg-pNA. Het bevat geen eiwitten van mens of zoogdieren.*
- Pyrosol®-reconstitutiebuffer (twee flesjes). Extra flesjes Pyrosol-reconstitutiebuffer (catalogusnummer BC051) zijn apart verkrijgbaar. *De buffer bestaat uit 0,2 M Tris-buffer.*
- Glucaanstandaard, gelyofiliseerd (1→3)-β-D-glucaan van Pachyman (twee flesjes). *Hoeveel reagenswater moet worden toegevoegd, wordt aangegeven op het etiket van het flesje. De glucaanstandaard is gekalibreerd ten opzichte van een interne referentiestandaard.*
- LAL-reagenswater (LRW) (twee flesjes)
- Opmerking:** 20 ml water van reagenskwaliteit en LAL-reagenswater in glazen flesjes zijn equivalent.
- Alkalische voorbehandelingsoplossing (twee flesjes) die *0,125 M KOH en 0,6 M KCl bevat*

Alle hierboven vermelde materialen, met uitzondering van de standaard, zijn vrij van storende (1→3)-β-D-glucaanconcentraties.

#### 5. Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Alle materialen moeten vrij zijn van storend glucaan.

- Pipetpunten\* (250 µl – cat.nr. PPT25, 1000 µl – cat.nr. PPT10)
- Pipetten waarmee een volume van 5–25 µl en 100–1000 µl kan worden afgegeven
- Repeteerpipet met spuitpunten waarmee 100 µl kan worden afgegeven
- Reageerbuisjes\* voor het voorbereiden van een standaardreeks (kalibratielijm) en het combineren van reagentia voor serumbehandeling. (12 x 75 mm – cat.nr. TB240 of 13 x 100 mm – cat.nr. TB013)
- 37 °C-incubator-plaatlezer geschikt voor aflezing bij 405 nm (bij voorkeur in staat tot het bewaken van een dubbele golflegte, bij zowel 405 als 490 nm) met een dynamisch bereik van ten minste 2,0 extinctie-eenheden, samen met geschikte software voor computergebaseerde kinetische assays.
- Steriele, glucaanvrije buisjes voor het aliquoteren van monsters. Buisjes die gecertificeerd RNase-, DNase- en pyrogeenvrij zijn, kunnen worden gebruikt.
- Parafilm®
- Microplaten met 96 wells\* **Opmerking:** De Fungitell®-assay is gevalideerd met platen met de volgende kenmerken: polystyreen, steriel, niet-gecoat, platte bodem, vrij van storend bètaglucaan conform ACC-specificaties en apart verpakt.

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

#### 6. Opslag van reagentia

- Bewaar alle reagentia zoals geleverd, bij 2–8°C in het donker.
- Gereconstitueerd Fungitell®-reagens moet worden bewaard bij 2–8 °C en binnen 2 uur worden gebruikt. Het gereconstitueerde Fungitell®-reagens kan ook gedurende maximaal 20 dagen bij -20 °C worden ingevroren en één keer worden ontdooid en 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 chirurgical masker als er kans is op besmetting door aerosolen.
- Opmerking:** Gebruik geen kits waarvan de inhoud beschadigd is.
- 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 alle componenten van de Fungitell®-kit zijn te downloaden van de website van ACC: www.acciusa.com.

#### 7.1 Voorzorgsmaatregelen voor de procedure

- De Fungitell®-assay vereist strikte aandacht voor 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.
- Pas goede laboratoriumpraktijken toe volgens de lokale voorschriften. Deze assay is gevoelig voor verontreiniging en onnauwkeurig pipetteren.
- Zorg dat de omgeving waarin de assay wordt uitgevoerd, schoon is.

- Denk eraan dat de Fungitell®-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: cellulosebevattende materialen zoals gaas, papieren doekjes en karton, glazen pipetten met wattenproppen en pipetpunten met cellulosefilters. Chirurgisch gaasverband en sponzen kunnen ook grote hoeveelheden (1→3)-β-D-glucaan afscheiden<sup>21,2</sup>. Zie het hoofdstuk Beperingen van de test voor andere patiëntgerelateerde bronnen van verontreiniging.
- 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. Monsternaam: 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 geëtiketteerd worden volgens de erkende praktijken van de instelling.

#### 8. Procedure

##### 8.1 Instrumentinstelling en testprogrammering

Instellingen kunnen variëren afhankelijk van de gebruikte instrumenten en software. In het algemeen geldt het volgende: Stel de plaatlezersoftware zo in dat gegevens worden verzameld in de modus Vmean. Raadpleeg de handleiding van de software zodat u de juiste instellingen gebruikt om te zorgen dat de berekende waarde de gemiddelde snelheid van de verandering in optische dichtheid is voor al de verzamelde gegevenspunten. Stel het afleesinterval van de detector in op het door de software en/of het instrument toegestane minimum gedurende de testperiode van 40 minuten. De golflegte-instellingen in de software moeten 405 nm zijn minus de achtergrond bij 490 nm. Het wordt aanbevolen beide golflengen te gebruiken, maar als aflezing bij dubbele golflegte niet beschikbaar is, leest u de test af bij 405 nm en onderzoekt u de kinetische curve van elk patiëntenmonster op tekenen van verstering (zie paragraaf 9.0 voor meer informatie). De incubatietemperatuur moet op 37 °C worden ingesteld. Het mengen (schudden van de plaat) moet worden ingesteld op 5 à 10 seconden voorafgaand aan de aanvang van de aflezing. Selecteer de curve-fitinstelling ‘lineair/lineair’ of equivalent. De aflezing moet zonder enige vertraging beginnen.

#### 8.2 Bereiding van de glucaanstandaard die in de kit is meegeleverd.

- Los één flesje glucaanstandaard op met het volume LRW dat op het flesje staat vermeld, om een oplossing van 100 pg/ml te maken. Vortex de oplossing ten minste 30 seconden bij matige tot matig hoge snelheid om de standaard te reconstitueren (oplossing 1). De glucaanoplossing moet bij 2–8 °C worden bewaard en moet binnen drie dagen worden gebruikt. Stap b t/m e hieronder zijn een voorbeeld van een bereidingsschema voor een kalibratielijm.
- Bereid 50 pg/ml standaard (oplossing 2) door 500 µl LRW te mengen met 500 µl van oplossing 1 in een glucaanvrij buisje (oplossing 2). Gedurende ten minste 10 seconden vortexen.
- Bereid 25 pg/ml standaard (oplossing 3) door 500 µl LRW te mengen met 500 µl van oplossing 2 in een glucaanvrij buisje (oplossing 3). Gedurende ten minste 10 seconden vortexen.
- Bereid 12,5 pg/ml standaard (oplossing 4) door 500 µl LRW te mengen met 500 µl van oplossing 3 in een glucaanvrij buisje (oplossing 4). Gedurende ten minste 10 seconden vortexen.
- Bereid 6,25 pg/ml standaard (oplossing 5) door 500 µl LRW te mengen met 500 µl van oplossing 4 in een glucaanvrij buisje (oplossing 5). Gedurende ten minste 10 seconden vortexen.

#### 8.3 Open de alkalische voorbehandelingsoplossing.

De alkalische voorbehandelingsoplossing zet glucanen met een drievoudige helix om in enkelstrengs glucanen<sup>17,19</sup> die reactiever zijn in de assay. Daarnaast dient de alkalische pH om de serumproteasen en -remmers die de assay kunnen verstoren, te inactiveren.<sup>20</sup>

Voer het flesje af (volgens laboratoriumprocedures) tenzij het in een latere test wordt gebruikt. In dat geval moet het worden afgedekt met Parafilm. Gebruik hiervoor de zijde van de Parafilm die naar het papieren schutvel was gekeerd.

#### 8.4 Microtiterplaat opzetten

Zet de indeling van de microtiterplaat op in de software, met de standaarden (Std), negatieve controles (Neg) en 21 monsters (Spl). De volgende indeling wordt aanbevolen:

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

Voer de standaardconcentraties in de software-instellingen respectievelijk in als 500, 250, 125, 62,5 en 31 pg/ml.

Denk eraan dat de ingevoerde standaardconcentraties vijfmaal zo groot zijn als de concentraties die in paragraaf 8.2 hierboven zijn bereid. Dit komt doordat het gebruikte volume van de standaard in de assay 25 µl per well is, wat vijfmaal het volume van het gebruikte serummonster is (zie paragraaf 8.5 b hieronder). Het serummonster is in feite dus vijfvoudig verdund ten opzichte van de standaard. Deze verduunning wordt gecompenseerd door de standaardconcentraties met vijf te vermengvuldigen.

**Opmerking:** De buitenste wells mogen worden gebruikt als is aangeoond dat de prestaties van de buitenste wells vergelijkbaar zijn met die van de binnenste wells.

**Opmerking:** De negatieve controles worden niet gebruikt in de kalibratielijm.

#### 8.5 Toevoeging van serum en alkalische voorbehandelingsoplossing.

- Ontdooi bevroren serummonsters bij kamertemperatuur. Vortex alle monsters goed gedurende ten minste 30 seconden op de snelheidsinstelling matig tot matig hoog.
- Breng 5 µl van het serummonster over in elk van de daarvoor bestemde wells (Uk), ten minste in tweevoud. Herhaal deze stap voor elk serummonster.
- Voeg 20 µl van de alkalische voorbehandelingsoplossing aan elke well met serum toe. Zorg dat het serum en de voorbehandelingsdruppels met elkaar in contact komen. Opmerking: Stap b en c kunnen worden uitgevoerd in omgekeerde volgorde afhankelijk van de voorkeur van de technicus. Opmerking: Om onbedoelde verontreiniging te voorkomen, moet het deksel van de microplaat worden teruggeplaatst nadat de monsters en reagentia aan de wells zijn toegevoegd.
- Schud de plaat gedurende 5 à 10 seconden om de inhoud van de wells goed te mengen (u kunt hiervoor de schudfunctie van de plaatlezer gebruiken) en laat de monsters vervolgens gedurende 10 minuten bij 37 °C incuberen in de incubator-plaatlezer.

#### 8.6 Reconstitutie van het Fungitell®-reagens.

Opmerking: Dit kan gemakkelijk worden uitgevoerd terwijl de voorbehandelingsincubatie bezig is. Consequente timing van de reconstitutie verhoogt de reproduceerbaarheid omdat de Fungitell®-reactie begint na de reconstitutie, weliswaar op een laag niveau.

Reconstitueer één flesje Fungitell®-reagens door eerst 2,8 ml LRW en vervolgens 2,8 ml Pyrosol-reconstitutiebuffer toe te voegen met gebruik van de 1000µl-pipet. Dek het flesje af met Parafilm. Gebruik hiervoor de zijde van de Parafilm die naar het papieren schutvel was gekeerd. Zwenk het flesje voorzichtig om de inhoud volledig op te lossen. Niet vortexen.

#### 8.7 Toevoeging van de negatieve controles en de glucaanstandaarden.

Aan het einde van voorbehandelingsincubatie voor het serum (paragraaf 8.5 d) neemt u de plaat uit de incubator-plaatlezer en voegt u de standaarden en negatieve controles aan de plaat toe. Aanbevolen concentratiepatroon van de standaard:

- Voeg 25 µl LRW toe aan well G2 en G3.
- Voeg 25 µl van standaardoplossing 5 van 6,25 pg/ml toe aan well F2 en F3, geëtiketteerd als 31,25 pg/ml.
- Voeg 25 µl van standaardoplossing 4 van 12,5 pg/ml toe aan well E2 en E3, geëtiketteerd als 62,5 pg/ml.
- Voeg 25 µl van standaardoplossing 3 van 25 pg/ml toe aan well D2 en D3, geëtiketteerd als 125 pg/ml.
- Voeg 25 µl van standaardoplossing 2 van 50 pg/ml toe aan well C2 en C3, geëtiketteerd als 250 pg/ml.
- Voeg 25 µl van standaardoplossing 1 van 100 pg/ml toe aan well B2 en B3, geëtiketteerd als 500 pg/ml.

#### 8.8 Toevoeging van Fungitell®-reagens en plaatincubatieprocedure.

- Voeg met de repeteeerpipet 100 µl Fungitell®-reagens toe aan elke well (met negatieve controles, standaarden en monsters).
- Plaats de plaat in de microplaatlezer (ingesteld op 37 °C), verwijder het deksel en schud gedurende 5 à 10 seconden.

Lees de plaat **zonder het deksel** bij 405 nm minus 490 nm af, gedurende 40 minuten bij 37 °C. Opmerking: Als de plaatlezer u geen tijd geeft om het deksel eraf te halen tussen schudden en aflezen, schudt u met het deksel eraf om te zorgen dat er zonder het deksel erop wordt afgelezen.

#### 9. Bereken de resultaten.

Verzamel de gegevens en analyseer ze als volgt: Bestudeer de kinetische curven van de testmonsters en controleer of er patronen zijn die anders zijn dan een gelijkmatige toename vergelijkbaar met die van de standaarden. Invalideer curven die wijzen op optische verstering (bijv. als hun kinetische patronen afwijken van deze van de standaarden). Bereken de gemiddelde snelheid van de verandering in optische dichtheid (milli-extinctie-eenheden per minuut) voor alle punten tussen 0 en 40 minuten (uitgevoerd door de software). Leid de (1→3)-β-D-glucaanconcentratie van monsters af op basis van de kalibratielijm (uitgevoerd door de software).

#### 10. Kwaliteitscontrole

- De correlatiecoëfficiënt (r) van de kalibratielijm (lineair vs. lineair) moet ≥ 0,980 zijn.
- De wells met 25 µl LRW zijn de negatieve controles. Negatieve controles moeten waarden voor de snelheid (bijv. milli-extinctie-eenheden per minuut) hebben die minder dan 50% van de laagste standaard snelheden bedragen. Als dit niet het geval is, moet de assay worden herhaald met allemaal nieuwe reagentia.
- Afhandeling van complexe monsters. Als de analist ongebruikelijke kinetiek waarmeemt in een test van een monster, bijv. een monster dat nevelig, niet van de juiste kleur of troebel is (zoals monsters die zwaar gehemolyseerd of lipemisch zijn of een overmaat aan bilirubine bevatten), moet het monster met LRW worden verdund en opnieuw worden getest. De verduunning moet worden verrekend bij het rapporteren van de resultaten door het resultaat te vermengvuldigen met de verduunningsfactor. **Meestal wordt de verduunningsfactor ingevoerd tijdens de softwareconfiguratie voor het monster en wordt de correctie automatisch toegepast.**

**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®-kit.

**11. Interpretatie van de resultaten**

**NEGATIEF RESULTAAT**

(1→3)-β-D-glucaanwaarden < 60 pg/ml worden geïnterpreteerd als negatieve resultaten.

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* à 4, produceren zeer lage (1→3)-β-D-glucaanconcentraties. Van Mucorales, zoals *Absidia*, *Mucor* en *Rhizopus*<sup>14</sup>, is niet bekend dat ze (1→3)-β-D-glucaan produceren. Evenzo produceret *Blastomyces dermatitidis* in de gistfase weinig (1→3)-β-D-glucaan en vertonen blastomycetosepatiënten meestal geen detecteerbare (1→3)-β-D-glucaanconcentraties in de Fungitell®-assay<sup>1</sup>.

**ONBEPAALD RESULTAAT**

Waarden van 60 tot 79 pg/ml worden beschouwd als niet-eenduidig. Het verdient aanbeveling aanvullende monsters af te nemen en de sera te testen. Veelvuldige monstermensen en tests verhogen het nut van de assay voor de diagnose.

**POSITIEF RESULTAAT**

(1→3)-β-D-glucaanwaarden ≥ 80 pg/ml worden geïnterpreteerd als positief resultaat.

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 weefselocaties van de schimmelinfectie<sup>10</sup>, 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 vertonen een verhoogde (1→3)-β-D-glucaanconcentratie die in het onbepaalde bereik valt. 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 monstermaatsfrequentie van ten minste twee tot drie keer per week aanbevolen voor risicopatiënten.
- Er zijn positieve resultaten gevonden bij hemodialysepatiënten<sup>19,20,38</sup>, proefpersonen die met bepaalde gefractioneerde bloedproducten zoals serumalbumine en immunoglobulinen zijn behandeld<sup>21,39</sup>, 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<sup>21,22</sup>. Bij de timing van de monstername bij patiënten die een operatie hebben ondergaan, moet hiermee dus rekening worden gehouden.
- 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 infuuslijn of via venapunctie<sup>26,27</sup>.
- Zie Finkelman, M.A., Journal of Fungi (2021)<sup>39</sup> voor uitgebreide informatie over factoren die bijdragen tot fout-positieve 1→3)-β-D-glucaan-resultaten.
- Er zijn testconcentraties vastgesteld bij volwassen proefpersonen. De normale en afkapconcentraties bij baby's en kinderen worden nog onderzocht<sup>28,29</sup>.

**13. Prestatiekenmerken**

**13.1 Afkapwaarden en verwachte waarden**

In een multicenter, prospectief onderzoek<sup>31</sup>, uitgevoerd ter bepaling van de diagnostische gevoeligheid en diagnostische specificiteit van de Fungitell®-assay (zie vergelijkende tests hieronder), is aangetoond dat de βétglucaanwaarden 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%.

**13.2 Klinische prestaties**

Er is een multicenter, prospectief onderzoek uitgevoerd om de prestatiekenmerken van de Fungitell®-assay te valideren<sup>31</sup>. De test is vergeleken met andere gebruikelijke detectiemethoden (d.w.z. bloedkweek, histopathologisch onderzoek van biopsiemonsters en radiologische tekenen) voor mycosen en fungemiëen.

Driehonderdnegenvijftig (359) proefpersonen zijn met de assay getest. Van iedere proefpersoon is één monster verkregen. De proefpersonen met laag risico omvatten schijnbaar gezonde personen evenals proefpersonen in de klinische centra die in het ziekenhuis waren opgenomen om andere redenen dan een schimmelinfectie. Proefpersonen werden bij zes klinische centra in de Verenigde Staten geworven. Vier van de klinische centra hebben de assay uitgevoerd en hebben in totaal 285 monsters getest. ACC heeft alle 359 monsters tweemaal getest, maar heeft alleen de tweede set resultaten gebruikt om de prestaties van de assay te bepalen. De resultaten van de tweede set analyses waren statistisch niet verschillend van de eerste set.

• **Diagnostische gevoeligheid**

De gevoeligheid voor de gehele populatie proefpersonen (359), inclusief cryptococosepatiënten, was 65,0% (60,1%–70,0% 95%-betrouwbaarheidsinterval [BI]) (tabel 1).

• **Diagnostische specificiteit**

De specificiteit was 81,1% (77,1%–85,2% BI). Bij analyse van de 170 proefpersonen die negatief testten voor een schimmelinfectie en blijkaar gezonde personen waren, was de specificiteit 86,5% met de assay (82,8%–90,1% BI). Wanneer de extra 26 patiënten die negatief testten voor een schimmelinfectie, maar andere aandoeningen hadden, in de analyse werden meegenomen, is een specificiteit van 81,1% waargenomen (77,1%–85,2% BI).

<b>Tabel 1</b>	<b>ACC-testresultaten bij de afkapconcentratie van 60-80 pg/ml per centrum</b>							
Centrum	Aange toende/waarschijnlijke sensitiviteit ≥ 80 pg/ml		Specificiteit < 60 pg/ml			Tweijeflachting 60 ≤ X < 80	Totaal	
	Pos/klin. pos	Gevoeligheid	Positieve voorspellende waarde	Neg/klin. neg	Specificiteit			Negatief voorspellende waarde
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.v.t.	0/0	N.v.t.	0,0	0	1
Totaal	106/163	65,0	80,9	159/196	81,1	76,8	21	359

Bij vergelijking van de door ACC en door klinische centra verkregen resultaten (respectievelij 359 en 285 monsters) met klinische diagnose is de gevoeligheid 64,3% (58,8%–69,9% BI) voor ACC en 61,5% (55,9%-67,2% BI) voor de centra. De specificiteit is 86,6% (82,7%–90,6% BI) voor ACC tegenover 79,6% (74,9%–84,3% BI) voor de centra.

**Candidiasis**

Er waren 107 proefpersonen voor wie het prospectieve onderzoek met candidiasis een positieve diagnose gaf. Drieëntachtig (83) van de 107 waren positief volgens de Fungitell®-assay.

Associates of Cape Cod, Inc. kreeg honderdvijfenzeventig monsters uit de candidiasisbank. Honderdvijfveertig (145) van de 175 waren positief volgens de assay.

**Aspergillose**

In totaal 10 proefpersonen waren positief voor aspergillose. Acht (8) van de 10 waren positief volgens de assay.

**Fusariose**

Drie proefpersonen waren positief voor fusariose. Twee (2) van de 3 waren positief volgens de assay.

**Behandeling met schimmelwerende geneesmiddelen**

De aanwezigheid of afwezigheid van een behandeling met schimmelwerende geneesmiddelen had geen statistisch significant effect op de gevoeligheid van de assay. Honderdachttien (118) proefpersonen testten positief voor invasieve schimmelinfectie en waren in behandeling met schimmelwerende geneesmiddelen. Tweeëntachtig (82) waren positief volgens de assay (gevoeligheid 69,5%; 61,2%–77,8% BI). Vierentwintig (24) proefpersonen testten daarnaast positief, maar waren niet in behandeling met schimmelwerende geneesmiddelen. Achttien (18) waren positief volgens de assay (gevoeligheid 75%; 57,7%–92,3% BI).

**13.3 Testcorrelaties**

In totaal zijn 285 monsters getest in vier klinische centra. De resultaten van de centra correleerden kwantitatief 96,4% met de resultaten van Associates of Cape Cod, Inc. De correlaties tussen de resultaten van Associates of Cape Cod, Inc. met de verschillende testcentra varieerden van 90,6% tot 99,2%.

**13.4 Precisie**

De Fungitell®-assay is geëvalueerd op precisie (d.w.z. herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid) met behulp van tien (10) verschillende monsters die elk door drie testcentra op drie verschillende dagen werden getest. De variatie binnen assays varieerde van 0,9% tot 28,9% en fungeerde als maat voor de herhaalbaarheid. De waarden tussen assays varieerden van 3,9% tot 23,8% en fungeerden als maat voor de reproduceerbaarheid. De vier (4) negatieve monsters werden van beide analyses uitgesloten.

**13.5 Meete bereik en lineariteit**

De resultaten worden uitgedrukt in pg/ml serum en variëren van niet-detecteerbaar (< 31 pg/ml) tot > 500 pg/ml en worden door de software afgedrukt of van de kalibratielij afgelezen. Voor nauwkeurige waarden boven 500 pg/ml moet het monster worden verdund met LAL-reagenswater en opnieuw worden getest. Zoals aangegeven in het hoofdstuk Kwaliteitscontrole moet de correlatiecoëfficiënt (r) van de kalibratielij (lineair vs. lineair) die het meetbereik van de Fungitell®-assay bestrijkt, ≥ 0,980 zijn en moeten de negatieve controles waarden voor de snelheid (bijv. milli-extinctie-eenheden per minuut) hebben die minder dan 50% van de laagste standaardsnelheid bedragen. Als dit niet het geval is, moet de assay worden herhaald met allemaal nieuwe reagentia.

**13.6 Storende stoffen**

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

• Monsters die niet van de juiste kleur of troebel zijn, zoals monsters die zwaar gehemolyseerd of lipemisch zijn 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® aan het voorbehandelde serum<sup>30</sup>.

• Op het moment van schrijven van deze tekst is geen andere activerende factor G ((1→3)-β-glucaanetectie-element) van het Fungitell®-reagens beschreven dan (1→3)-β-glucaan. In sommige onderzoeken, waarin beweringen over kruisreactiviteit zijn gedaan, is het signaal geïmmineerd door behandeling van het veronderstelde activerende materiaal met gezuiverd (1→3)-β-glucanase, wat aantoonde dat de waargenomen activering was veroorzaakt door verontreiniging van (1→3)-β-glucaan<sup>15</sup>. Verontreiniging van serineproteasen kan ook leiden tot het vrijkomen van paranitroaniline in Fungitell®-reactiemengsels, maar deze worden 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<sup>24,35,36,37</sup>.

**15. Verklaring van symbolen**

	‘Uiterste gebruiksdatum’		‘Gebruiksaanwijzing raadplegen’
	‘Bevat voldoende voor ‘N’ tests’		‘Gemachtigde’
	‘Batchcode’		‘CE-markering’
	‘Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnose’		‘Uitsluitend voor gebruik op voorschrift’
	‘Catalogusnr.’		‘Let op’
	‘Temperatuurlimieten’		‘Niet blootstellen aan zonlicht’
	‘Fabrikant’		

**16. Gemachtigden**

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: +1 (888) 395-2221 of +1 (508) 540-3444 • Fax: +1 (508) 540-8680  
E-mail: custservice@acciusa.com • www.acciusa.com

**Verenigd Koninkrijk**

**Associates of Cape Cod Int'l, Inc.**  
Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool L33 7RX, Verenigd Koninkrijk  
Tel: +44 151-547-7444 • Fax: +44 151-547-7400  
E-mail: info@acciu.co.uk • www.acciu.co.uk

**Europa**

**Associates of Cape Cod Europe GmbH**

Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Duitsland

Tel: +49 61 05-96 10 0

**18. Revisiegeschiedenis**

Rev. 0 naar 11: Testen in drievoud gewijzigd in testen in tweevoud. Water van reagenskwaliteit vervangen door LAL-reagenswater. De KCl- en KOH-component gecombineerd in de alkalische voorbehandelingsoplossing. Microplaat verwijderd uit de kit en aangegeven als benodigd maar niet meegeleverd item. EU-gemachtigde gewijzigd en Australische opdrachtgever toegevoegd. Kleine verduidelijkingen, opmaak, toevoeging van symbolen, aanvullende storende stoffen. Rev. 12: EG-vertegenwoordiger Emergo Europe verwijderd.

**19. Literatuur**

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

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. Livintseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Gergely, 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 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 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., Iden, 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 βglucan (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. Raecil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., WINTEROVA, J., Timisna, 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. Posteroar B., De Pascale, G., Tambarello, 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., Kongofo, G., Dusol, L., Imestourens, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. J. of Maternal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-48.

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. Karaeorgopoulos 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 (ECLIL-3). Clin Infect Dis. 2012; 54:633-43.

35. Onishi AI, 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. Karaeorgopoulos DE, Qu JM, Korblia IP, Zhu YG, Vasiliou 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, Hang JP, Zhang L, Wang F, Zhang DC, Gong FH. 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;