

<b>Test ke stanovení (1→3)-β-D-glukanu v séru</b>	
<b>FUNGITELL® STAT</b>	
<b><i>Návod k použití</i></b>	
 <p><b>ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED</b> 124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA</p>	<p>Telefon: (508) 540-3444 Bezplatná linka: (888) 395-2221 Fax: (508) 540-8680 Technická podpora: (800) 848-3248 Zákaznický servis: (800) 525-8378</p>
	
	

PN002603-CS Rev002

11-03-2020

**Návod k použití ve vašem jazyce najdete na adrese [www.acciusa.com](http://www.acciusa.com).**

**ÚČEL POUŽITÍ**

Fungitell® STAT je kolorimetrický test na proteázu na bázi zymogenu pro kvalitativní detekci (1→3)-β-D-glukanu v séru pacientů se symptomy invazivního plišňového onemocnění nebo pacientů se zdravotním stavem predisponujícím u pacienta invazivní plišňové onemocnění. Koncentraci (1→3)-β-D-glukanu, hlavní komponenty buněčné stěny různých medicínsky významných plisní v séru, lze použít jako pomůcku v diagnostice perzistentních mykóz a fungemií<sup>8</sup>. Pozitivní výsledek neurčuje, který rod plísně byl mohl způsobovat infekci.

Hodnoty indexu (1→3)-β-D-glukanu je třeba používat ve spojení s jinými diagnostickými postupy, jako je mikrobiologická kultura, histologické vyšetření vzorků z biopsie a radiologické vyšetření.

**SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ**

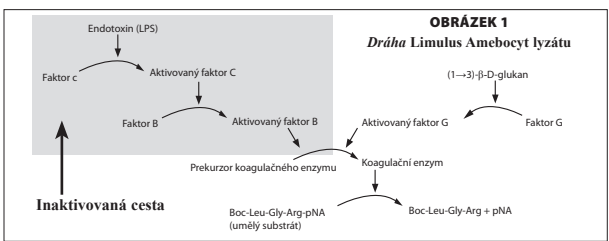
Existuje zvýšená incidence plišňových infekcí oportunními patogeny, zejména u pacientů s oslabenou imunitou<sup>3,4,5</sup>. Invazivní plišňová onemocnění, jako oportunní infekce, jsou běžná u pacientů s hematologickými nádorovými onemocněními a AIDS a jsou odpovědná za rostoucí počet nozokomiálních infekcí, zejména mezi příjemci transplantovaných orgánů a jiními pacienty užívajícími imunosupresivní léčbu<sup>6,7</sup>. Mnoho plišňových onemocnění vzniká vdechováním plišňových spor pocházejících z půdy, zbytků rostlin, klimatizačních systémů a/nebo exponovaných povrchů. Některé oportunní plisně jsou přítomné na lidské kůži nebo v ní, ve sřevech a na sliznicích<sup>8</sup>. Diagnóza invazivních mykóz a fungemií je obvykle založena na nespecifické diagnostice nebo radiologických technikách. Nedávno k dostupným diagnostickým metodám přibýly biologické markery plišňové infekce<sup>2</sup>.

Mezi oportunní plišňové patogeny patří *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acremonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum*, a *Pneumocystis jirovecii*. (1→3)-β-D-glukan produkovaný těmito a dalšími organismy lze detekovat testem Fungitell® STAT<sup>3,8,9,11</sup>.

**PRINCIP PROCEDURY**

Test Fungitell® STAT je modifikací formátu testu Fungitell®. Test Fungitell® STAT byl vyvinut jako odpověď na potřebu formátu testu k jednorázovému použití a menší velikosti soupravy vzhledem k formátu 96jamkové desičky testu Fungitell®.

Test Fungitell® STAT měří kvalitativně (1→3)-β-D-glukan. Test je založen na modifikaci dráhy amebocytového lyzátu z ostrorepa (LAL) <sup>12,13,14,15</sup>, **obrázek 1**. Reagencie Fungitell® STAT je modifikovaná pro eliminaci reaktivity bakteriálního endotoxinu tak, aby reagovala pouze na (1→3)-β-D-glukan prostřednictvím strany dráhy zprostředkované faktorem G. (1→3)-β-D-glukan aktivuje faktor G, zymogen serinové proteázy. Aktivovaný faktor G přeměňuje neaktivní prekursor koagulačního enzymu na aktivní koagulační enzym, který štěpí para-nitroanilid (pNA) z Boc-Leu-Gly-Arg-pNA a vytváří chromofor, para-nitroanilin (pNA), který absorbuje při 405 nm. Kinetický test Fungitell® STAT, popsany níže, je založený na stanovení rychlosti zvyšování optické hustoty vyvolané vzorkem. Tato rychlost je porovnávána se zvyšováním optické hustoty standardu Fungitell® STAT Standard k produkci hodnoty indexu. Hodnota indexu tohoto vzorku pacienta je kvalitativně interpretována jako negativní, neurčitelný nebo pozitivní výsledek podle rozsahů uvedených v **tabulce 1** níže.



**TABULKA 1 ROZSAHY INDEXU FUNGITELL® STAT**

Výsledek	Hodnota indexu
Negativní	≤ 0,74
Neurčitelný	0,75 – 1,1
Pozitivní	≥ 1,2

**MATERIÁLY DODÁVANÉ S VÝROBKEM FUNGITELL® STAT**

Výrobek Fungitell® STAT je určen k *in vitro* diagnostickému použití. Následující materiály dodávané s každým produktem postačují pro celkem 10 reakcí (na základě 10 lahviček reagencie Fungitell® STAT). Každý produkt také obsahuje 5 lahviček standardu Fungitell® STAT a může tedy podporovat až pět běhů testu, když je v každém běhu testována 1 lahvička standardu Fungitell® STAT Standard a 1 lahvička vzorku pacienta. Alternativně lze provádět test jedné lahvičky standardu Fungitell® STAT a maximálně 9 vzorky pacientů.

- Reagencie Fungitell® STAT, lyofilizovaná reagencie LAL, specifická pro (1→3)-β-D-glukan LAL (10 lahviček) *Fungitell® STAT neobsahuje rušivé hladiny (1→3)-β-D-glukanu.*
- Standard Fungitell® STAT (5 lahviček) s rekonstitučním objemem specifickým pro číslo šarže na štítku
- Návod k použití
- Rychlý vizuální průvodce

**POTŘEBNÉ, AVŠAK NEDODÁVANÉ MATERIÁLY**

Všekré materiály nesmí obsahovat rušivý glukan. Skleněný materiál musí být depyrogenovaný suchým horkem nejméně 7 hodin při teplotě minimálně 235 °C (nebo validním ekvivalentem), aby byl považován za vhodný k použití.

- LAL reagenční voda\* (lahvička 5,5 ml, katalogové č. W0051-10)
- Alkalický roztok pro předběžné ošetření 0,125 M KOH a 0,6 M KCl \* (lahvička 2,5 ml, katalogové č. APS51-5 )
- Pipety pro pipetování objemů 20-200 µl a 100-1000 µl
- Pipetovací špičky\* (250 µl katalogové č. PPT25 a 1000 µl katalogové č. PPT10)
- Dlouhé pipetovací špičky\* (20-200 µl, katalogové č. TPT50)
- Testovací zkumavky\* pro přípravu vzorku pacienta a kombinaci reagentii k přípravě roztoku séra k předběžnému ošetření. (12 x 75 mm, katalogové č. TB240-5)
- Čtečka zkumavek a software pro kinetický test
  - Automatická 8jamková čtečka inkubačních zkumavek Lab Kinetics (přístroj PKF08) a software Beta Glucan Analytics (BG Analytics™), dodávaný Associates of Cape Cod, Inc. (ACC) katalogové č. PKF08-PKG\*\* **nebo**
  - Čtečka inkubačních (37 °C) zkumavek, schopná odečítat při 405 nm a 495 nm s rozsahem nejméně 0 – 1,0 jednotek absorbance a pro přizpůsobení zkumavkám o průměru 12 mm, ve spojení s vhodným počítačovým softwarem pro kinetický test, schopným monitorovat a analyzovat reakční kinetiku a podporovat kontrolu kritérií, uvedených v sekci kontrola kvality návodu k použití.
- Sterilní skladovací zkumavky se šroubovacím víčkem neobsahující glukan pro alikvotování vzorků (většina zkumavek, které jsou certifikované jako neobsahující RNAázu, DNAázu a apyrogenní, neobsahuje rušivé hladiny (1→3)-β-D-glukanu).

9.Parafilm®

*\*Tyto výrobky, dodávané Associates of Cape Cod, Inc. (ACC), jsou certifikovány jako neobsahující rušivé glukany.*

*\*\*Výjsnky uživatelských příruček k softwaru BG Analytics™ a přístroji PKF08 si lze pořídit stažením z webových stránek ACC: [www.acciusa.com](http://www.acciusa.com).*

**Pozor** - skleněné piety s vatovou zátkou a špičky mikropipet s filtrem z celulózy jsou potenciálními zdroji kontaminace glukanem.

**VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ**

*Tento výrobek je pro IN VITRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ.*

*Test Fungitell® STAT vyžaduje důslednou pozornost technice a testovacímu prostředí. Důkladné vyškolení technika v metodě testu a vyhnutí se kontaminaci prostředí jsou zásadně důležité faktory pro účinnost testu.*

- Některé druhy plisní produkují velmi nízké hladiny (1→3)-β-D-glukanu, které test Fungitell® STAT obvykle nedetekuje. Patří mezi ně rod Cryptococcus<sup>9,17</sup> a rovněž Mucorales jako například Absidia, Mucor a Rhizopus<sup>17</sup>. Navíc Blastomyces dermatitidis ve své kvasinkové formě produkuje nízké hladiny (1→3)-β-D-glukanu a proto není obvykle reagentií Fungitell® STAT detekována<sup>18</sup>.
- Nepipetujte žádné materiály ústy. Nekuřte, nejzte a nepijte v oblastech, kde se manipuluje se vzorky a s reagentiemi ze soupravy. Dodržujte firemní a místní bezpečnostní předpisy.
- K provedení testu zajistěte čisté prostředí. Používejte materiály a reagencie certifikované jako materiály a reagencie bez detekovatelných hladin (1→3)-β-D-glukanu na pozadí. Upozorňujeme, že glukan, stejně jako plišňová kontaminace z lidského těla, oděvů, nádob, vody a vzdušného prachu, mohou způsobovat rušení testu Fungitell® STAT. Celulózové materiály, jako gáza, papírové utěrky a lepenka, mohou přispívat k obsahu (1→3)-β-D-glukanu v prostředí, kde se test provádí.
- Nepoužívejte materiály po datu expirace.

5.Zabarvené nebo zakalené vzorky, např. vysoce hemolyzované, lipemické nebo obsahující nadměrné množství bilirubinu, mohou opticky interferovat s testem. Při testování takových vzorků je třeba výsledky testu zkontrolovat z hlediska optické interference a/nebo neobvyklých kinetických vzorů.

6.Při manipulaci se vzorky pacientů používejte vhodný ochranný oděv a bezpudrové rukavice.

7.Sérum hemodialyzovaných pacientů může obsahovat vysoké hladiny (1→3)-β-D-glukanu při použití určitých celulózových dialyzačních membrán<sup>19,20,18</sup>. Hemodialýza s membránami z triacetátu celulózy, polysulfonu nebo polymethylmethakrylátu tento test patrně neruší.

8.Chirurgické gázy a houby mohou uvolňovat vysoké hladiny (1→3)-β-D-glukanu, které mohou přispět k přechodnému pozitivnímu výsledku testu Fungitell® způsobenému kontaminací, jak bylo pozorováno u pacientů po chirurgickém zákroku<sup>21,22</sup>.

9.Produkty frakcionace krve, např. nitrožilní imunoglobulin a albumin, mohou také obsahovat zátěž (1→3)-β-D-glukanu, která při injekci nebo infuzi zvýší titry (1→3)-β-D-glukanu v séru na řadu dní<sup>23</sup>.

10. Výrobky s poškozeným obsahem nepoužívejte.

11. Materiály vystavené potenciálně kontaminovaným tekutinám (obsahujícím patogeny) je nutno zlikvidovat způsobem v souladu s místními předpisy.

**UCHOVÁVÁNÍ REAGENCIÍ**

Uchovávejte všechny reagencie v původním obalu při teplotě 2-8 °C v temnu. Reagentii Fungitell® STAT Reagent a standard Fungitell® STAT je třeba použít do 1 hodiny po rekonstituci.

**MANIPULACE SE VZORKY**

- Odběr vzorku: Vzorky krve k přípravě séra se mohou odebírat do sterilních zkumavek na přípravu séra nebo do zkumavek pro separaci séra (SST)
- Uchování vzorků: Vzorky séra se mohou před provedením testu přechodně uchovávat při teplotě 2°C–8°C, nebo se mohou dlouhodobě skladovat zmrazené při teplotě -20 °C nebo nižší.
- Označování vzorků: Vzorky séra mají být jasně označeny podle schválených postupů zdravotnického zařízení.

**POSTUP**

Rychlý vizuální průvodce se souhrnem postupu automatického přístroje PKF08 a softwaru BG Analytics™ je také součástí balení výrobku Fungitell® STAT.

Řada kroků, popsaných v proceduře níže, je automatizovaných při použití přístroje PKF08 a softwaru BG Analytics™ a zahrnuje: nastavení přístroje, kontrolu kvality a interpretaci výsledků. Viz uživatelskou příručku k softwaru BG Analytics™ nebo kontaktní údaje výrobce pro další informace.

***Poznámka:***

- Používejte správné laboratorní postupy podle vašich místních předpisů. Tento test je citlivý na kontaminaci a přesnost pipetování.*
- Doporučuje se provádět kroky 3-5 a 7 v digestoři pro biologickou bezpečnost pro zvýšení bezpečnosti operátora při práci se vzorky pacientů a omezení možnosti kontaminace environmentálním (1→3)-β-D-glukanem v průběhu postupu.*
- Pro omezení zbytečných pohybů skleněné lahvičky v digestoři pro biologickou bezpečnost i mimo ni se doporučuje umístit vortexové zařízení do digestoře pro biologickou bezpečnost (pokud je zachováno zásadně důležité proudění vzduchu).*
- Doporučuje se používat dlouhé pipetovací špičky, které napomáhají zabránit zkřížené kontaminaci mezi lahvičkami.*
- Standard Fungitell® STAT (červené víčko a štítek s červenou čarou) je třeba vždy zpracovávat za stejných podmínek a současně se vzorky pacientů. To je zásadně důležité, protože výsledkem testu je index (vzorek/standard) rychlosti kinetické reakce (nebo sklon OD/s) ze vzorku pacienta a standardu Fungitell® STAT.*
- V průběhu postupu se doporučuje používat 2 stojany na zkumavky, jeden pro lahvičky k přípravě vzorků (kroky 4-6) a jeden pro lahvičky s reagentiemi (kroky 7-8). To pomůže zabránit možnosti záměny lahviček a zkřížené kontaminace v průběhu postupu.*
- Doporučuje se umístit standard Fungitell® STAT Standard do definované a konzistentní polohy ve stojanu na zkumavky, v inkubátoru a čtečce. Při používání přístroje PKF08 a softwaru BG Analytics™ použijte první jamku zleva, označenou “Standard”.*
- Na konci každého kroku míchání vizuálně zkontrolujte, zda je roztok homogenně promíchán.*
- Nemíchejte reagentii Fungitell® STAT nadměrně. Na jakémkoli vortexovém zařízení se doporučuje maximální nastavení 2000 RPM. Nevortexujte déle než 5 sekund.*

**1. Nastavení přístroje**

Nastavení se může lišit u různých přístrojů a softwaru. Obecně je třeba splnit následující podmínky:

Přístroj musí být schopen dosáhnout a udržovat teplotu 37 °C±1 °C. Přístroj a software musí být schopny odečítat optickou hustotu v průběhu času (kinetika) při dvou vlnových délkách. Konkrétně je třeba tyto vlnové délky nastavit na 405 nm a 495 nm. Nastavte kinetický režim a dobu odečítání 40 minut (2400 sekund). Nastavte interval odečítání kinetiky na minimum umožněné přístrojem/softwarem v průběhu 40minutového období testu a na spuštění odečtů při vložení vzorku. Prostudujte si příručku k softwaru a zjistěte, jak vypočítat rychlost (sklon) měření ze sady dat. Pro účely tohoto testu je toho obecně dosaženo provedením lineární regrese kinetických dat v rámci navrženého časového rámce. Nastavte provedení výpočtu lineární regrese v rozsahu od 1900 do 2400 sekund s použitím funkce softwaru "fezů". Odečet by měl začít bez jakékoli prodlevy.

**2. Potvrďte specifické informace pro číslo šarže standardu Fungitell® STAT**

- Objemy roztoku pro rekonstituci a předběžné ošetření specifické pro číslo šarže jsou uvedeny na štítku balení standardu Fungitell® STAT, na certifikátu o analýze výrobku Fungitell® STAT a jsou k dispozici na webové stránce ACC. Tyto informace budou potřebné k provedení kroku 5 níže.
- Doporučuje se před zahájením postupu si všimnout informací specifických pro číslo šarže v rychlém vizuálním průvodci, dodávaném s výrobkem Fungitell® STAT.

***Poznámka:** Každý výrobek (pár standard Fungitell® STAT a reagencie Fungitell® STAT) jsou testovány a uvolňovány nezávisle. Proto je důležité si všimat informací specifických pro číslo šarže pro každý pár a používat je.*

**3. Označení zkumavek**

- Označte jednu prázdnou zkumavku pro každý vzorek pacienta, který má být testován.
- Označte jednu zkumavku s reagentii Fungitell® STAT pro každý vzorek pacienta, který má být testován.
- Označte jednu zkumavku s reagentii Fungitell® STAT pro standard Fungitell® STAT.

**4. Příprava zkumavek na vzorky pacientů**

- Vortexujte vzorky pacientů nejméně 20 sekund pro zajištění homogenity.
  - Poznámka:** Postup zmrazení může vyvolat heterogenitu vzorku z důvodu odebrání vody rostoucím krystalem ledu a tím vyloučením rozpustěných látek.*
- Do patřičně označené prázdné zkumavky přidejte vzorek pacienta a alkalický roztok k předběžnému ošetění v poměru 1:4. Doporučené objemy jsou 50 µl vzorku pacienta a 200 µl alkalického roztoku k předběžnému ošetění.
  - Poznámka:** Alkalický roztok k předběžnému ošetění přeměňuje glukany s trojitou šroubovicí na jednovláknové glukany<sup>14,15</sup>, které jsou v testu reaktivnější. Kromě toho alkalické pH slouží k inaktivaci sérových proteáz a inhibitorů, které mohou interferovat s testem<sup>1</sup>.*
- Vortexujte 15 sekund a zakryjte.

**5. Připravte zkumavku na standard Fungitell® STAT**

- Rekonstitujte jednu lahvičku standardu Fungitell® STAT objemem reagenční vody LAL specifickým pro číslo šarže a vortexujte 15 sekund.
- Přidejte objem alkalického roztoku k předběžnému ošetění specifický pro číslo šarže.
  - Poznámka:** Objemy roztoku pro rekonstituci a předběžné ošetění specifické pro číslo šarže jsou uvedeny na štítku balení standardu Fungitell® STAT, v certifikátu o analýze výrobku Fungitell® STAT a jsou k dispozici na webové stránce ACC.*
- Vortexujte 15 sekund a zakryjte.

**6. Předběžné ošetření před inkubaci v čteče zkumavek**

Inkubujte zkumavky se vzorky pacientů (z kroku 4) a lahvičku standardu Fungitell® STAT (z kroku 5) 10 minut při teplotě 37 °C.

**7. Příprava zkumavek s reagentiemi Fungitell® STAT**

- Rekonstitujte každou lahvičku s reagentii Fungitell® STAT (označenou v kroku 3 výše) s 300 µl reagenční vody LAL.
- Jemně vortexujte **ne déle** než 5 sekund.
  - Poznámka:** Reagencie Fungitell® STAT obsahuje řadu aktivních proteinů požadovaných pro test a doporučuje se zacházet s roztokem jemně. Na jakémkoli vortexovém zařízení se doporučuje maximální nastavení 2000 RPM. Nemíchejte nadměrně.*
- Na konci ošetření před inkubaci:
  - Přenešte 75 µl roztoku každého vzorku pacienta do příslušné zkumavky s reagentii Fungitell® STAT.
  - Přenešte 75 µl standardu Fungitell® STAT do příslušné zkumavky s reagentii Fungitell® STAT.
  - Vortexujte všechny zkumavky **ne déle než** 5 sekund a zakryjte je.

**8. Spuštění běhu testu**

- Vložte zkumavky do čtečky zkumavek a zkontrolujte, zda je každá z nich ve správné jamce.
- Spusťte odečet kinetiky na dobu 40 minut při teplotě 37 °C.

**9. Projděte kritéria kontroly kvality**

*Viz sekci kontroly kvality níže a **obrázek 2**.*

**10. Interpretace výsledků**

*Viz sekci Interpretace výsledků níže a **obrázek 3**.*

**LKVIDACE LAHVIČKY NA KONCI POSTUPU**

- Doporučuje se zlikvidovat otevřené lahvičky od alkalického roztoku k předběžnému ošetění a od reagenční vody LAL v souladu s vašimi laboratorními postupy. Nepoužívejte tyto materiály k více než jednomu běhu testu, aby nedošlo ke kontaminaci.

- Jako součást výroby produktu jsou reagencie Fungitell® STAT a standard Fungitell® STAT uvolňovány jako párová šarže a proto se nemají používat komponenty reagencie Fungitell® STAT a standardu Fungitell® STAT z různých výrobních šarží. Proto když jsou spotřebovány všechny lahvičky s reagentii Fungitell® STAT z balení, doporučuje se zlikvidovat všechny případně zbývající lahvičky se standardem Fungitell® STAT.

**KONTROLA KVALITY**

- Pro všechna čísla jamek** potvrďte přiřazení standardu nebo čísla vzorku Fungitell® STAT

**• Pro výsledek standardu Fungitell® STAT**

- musí mít korelační koeficient (r) hodnotu ≥ 0,980 a
- sklon musí být v očekávaném rozsahu sklonu 0,00010 – 0,00024 OD/s.

*Pokud výsledek standardu Fungitell® STAT nespĺňuje kritéria č. 1 a č. 2, test je neplatný a všechny vzorky je třeba otéstovat znovu.*

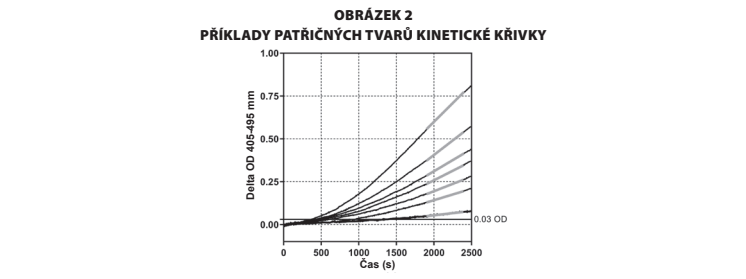
**• Pro všechny výsledky vzorků pacientů:**

- A. Určete, zda je výsledek mimo rozsah indexu testu**
- Výsledek je patrně mimo rozsah na pozitivní straně pokud:
    - Průsečík s osou Y je kladný a
    - Kinetická křivka prochází 0,4 OD za dříve než 1000 sekund.
  - Výsledek je patrně mimo rozsah na negativní straně pokud:
    - Kinetická křivka je pozitivní za 500 sekund a
    - Má na konci testu OD >0,03 a <0,07.

*Pokud výsledek vzorku splňuje obě kritéria pro pozitivní nebo negativní výsledek mimo rozsah, není potřeba provést obecná kritéria QC nže a **řemá** být počítána hodnota indexu. Všechny výsledky mimo rozsah na pozitivní straně je třeba hlásit jako "pozitivní" a všechny výsledky mimo rozsah na negativní straně je třeba hlásit jako "negativní".*

**B. Jestliže výsledek nespĺňuje kritéria mimo rozsah, ověřte obecnou QC:**

- kinetická křivka musí být pozitivní za 500 sekund,
- kinetická křivka musí mít na konci testu OD ≥ 0,03,
- sklon musí být numericky pozitivní,
- korelační koeficient (r) musí být ≥ 0,980 a
- kinetická křivka musí mít tvar rostoucí vzhůru, v souladu s příklady uvedenými na **obrázku 2**.

Pokud výsledek vzorku nespňuje **všechna** obecná kritéria QC č. 1-5, výsledek vzorku je neplatný a vzorek je nutno testovat znovu. Alternativně je třeba použít jinou metodu.


Kontrolní vzorky (negativní, hladina v blízkosti mezních hodnot testu nebo vysoce pozitivní hladiny) pro ověření, zda reagencie a testy fungují správně. Každý uživatel testu musí vymezit program kontroly kvality pro zajištění odbornosti v provádění testů v souladu s předpisy platnými pro jejich lokalitu.

**INTERPRETACE VÝSLEDKŮ**

Výsledky testu Fungitell® STAT je třeba použít jako pomůcku při diagnostice invazivní plíšňové infekce. Rychlosti pro vzorek pacienta a standard Fungitell® STAT jsou odvozeny z výpočtu sklonu (rychlosti) mezi 1900 a 2400 z delta OD 405 - 495 nm results. Výsledky indexu Fungitell® STAT jsou odvozeny dělením rychlosti (sklonu) vzorku pacienta rychlostí (sklonem) standardu Fungitell® STAT (viz *obrázek 3*). Výsledky indexu se pohybují přibližně od 0,4 do 3,5 a pokrývají celou křivku standardu (31 – 500 pg/ml) predikátu Fungitell®. Hodnoty indexu Fungitell® STAT je třeba interpretovat jak je popsáno níže:

**NEGATIVNÍ VÝSLEDEK**

Hodnoty indexu ≤ 0,74 jsou interpretovány jako negativní výsledky.

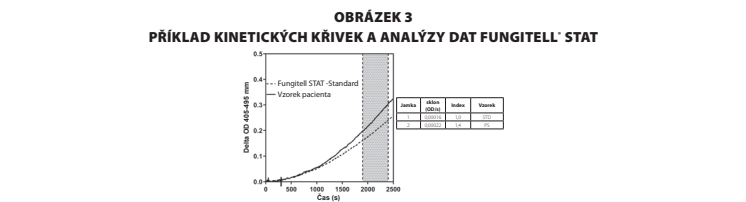
**NEURČITELNÝ VÝSLEDEK**

Hodnoty indexu od 0,75 do 1,1 naznačují pozitivní plíšňovou infekci. Doporučuje se další odběr vzorku a testování. Časté odběry vzorků a testování zlepšují užitečnost pro diagnózu.

**POZITIVNÍ VÝSLEDEK**

Hodnoty indexu ≥ 1,2 jsou interpretovány jako pozitivní výsledek. Pozitivní výsledek znamená, že byl detekován (1→3)-β-D-glukan. Pozitivní výsledek nedefinuje přítomnost choroby a je třeba jej používat v spojení s jinými klinickými nálezy pro stanovení diagnózy

Laboratoř provádějící test by měla informovat objednavajícího lékaře, že ne všechny plíšňové infekce vyvolávají zvýšené hladiny (1→3)-β-D-glukanu v séru. Některé plísně, jako je rod *Cryptococcus*<sup>6,17</sup> produkují velmi nízké hladiny (1→3)-β-D-glukanu. O *Mucorales*, jako je *Absidia*, *Mucor* a *Rhizopus*<sup>11</sup> není známo, že by produkovaly (1→3)-β-D-glukan. Podobně *Blastomyces dermatitidis*, ve své kvasinkové fázi, produkuje málo (1→3)-β-D-glukanu, a pacienti s blastomykózou obvykle mají nedetekovatelné hladiny (1→3)-β-D-glukanu v testu Fungitell® STAT<sup>14</sup>.



Oblast zvlázněná šedě je oblast určování sklonu (1900 až 2400 sekund (s)), nepřerušovaná čára je příklad vzorku pacienta (PS) a čárkovaná čára je standard Fungitell® STAT. Sklon vzorku (tj. 0.00022 OD/s) dělený sklonem 80 pg/ml standardu Fungitell® STAT (tj. 0.00016 OD/s) vede k indexu 1,4 pro vzorek. Sklon a rychlost jsou v této aplikaci synonyma

**OMEZENÍ TESTU**

1. Místa tkáně s plíšňovou infekcí<sup>10</sup>, zapouzdření a množství (1→3)-β-D-glukanu produkované určitými plísněmi může ovlivnit koncentraci tohoto analytu v séru. Snížená schopnost přispívat k obsahu (1→3)-β-D-glukanu v krevním řečišti může snížit schopnost detekovat určitě plíšňové infekce. *Cryptococcus spp.* produkují nízké hladiny (1→3)-β-D-glukanu<sup>6,17</sup>. O *Mucorales*, včetně *Absidia spp.*, *Mucor spp.* a *Rhizopus spp.* není známo, že by produkovaly (1→3)-β-D-glukan<sup>17</sup> *Blastomyces dermatitidis*, v kvasinkové fázi produkuje málo (1→3)-β-D-glukanu a výsledky testu jsou obvykle negativní<sup>11</sup>. Tyto informace je třeba poskytnout na žádajícímu lékaři.

2. Některé osoby mají hodnoty indexu (1→3)-β-D-glukanu spadající do oblasti neurčitelné. V takových případech se doporučuje další pozorovací testování.

3. Frekvence testování pacienta bude záviset na relativním riziku plíšňové infekce. Pro rizikové pacienty se doporučuje četnost odběru vzorků nejméně dvakrát až třikrát za týden.

4. Pozitivní výsledky byly nalezeny u hemodialyzovaných pacientů<sup>19,20</sup>, subjektů léčených určitými frakcionovanými krevními produkty, jako je sérový albumin a imunoglobuliny nebo vystavených gáze a chirurgickým houbám obsahujícím glukau. Pacienti vyžadují 3 – 4 dny pro obnovu výchozích hodnot sérového (1→3)-β-D-glukanu po chirurgické expozici houbám a gáze obsahující (1→3)-β-D-glukan<sup>21,22</sup>. Podle toho je třeba zohlednit načasování odběru vzorků chirurgických pacientů.

5. Vzorky získané metodami vpichu z paty nebo prstu jsou nepřijatelné, protože bylo prokázáno, že gáza nasáklá alkoholem používaná k přípravě místa vpichu (a potenciálně ke sdrůžování krve z povrchu kůže) kontaminuje vzorky. V dosavadních studích nebyly pozorovány žádné rozdíly mezi krví získanou odběrem z tepný a venepunkci<sup>23,26</sup>.

6. Testovací hladiny byly stanovovány u dospělých subjektů. Normální hladiny a hladiny blízko limitu pro kojence a pediatrické pacienty se zkoumají<sup>27,28</sup>.

**INTERFERUJÍCÍ LÁTKY**

Následující stavy vzorku mohou rušit dosažení správného výsledku testu Fungitell® STAT:

- Hemolýza
- Turbidita vzorku způsobená lipémií
- Přítomnost vizuálně zjevného bilirubinu
- Zakalené sérum
- Zvýšené hladiny imunoglobulinu G v séru, jako mohou být u mnohočetných melanomů, mohou mít za následek precipitaci v reakční směsi při přidání přípravku Fungitell® STAT k předběžně ošetřenému séru<sup>29</sup>.

**OČEKÁVANÉ HODNOTY**

V multicentrické studii prováděné ke stanovení výkonových charakteristik testu Fungitell (predikát) bylo zjištěno, že jsou hodnoty β-glukanu zvýšené u rizných plíšňových infekci. Když jsou přítomny příznaky a symptomy při hladině 80 pg/ml nebo vyšší, prediktivní hodnota, že je subjekt pozitivní na plíšňovou infekci se pohybuje od 74,4 až 91,7 %. Za nepřítomnosti příznaků a symptomů a při hladině nižší než 60 pg/ml se negativní prediktivní hodnoty pohybovaly od 65,1 % do 85,1 %.

Hodnoty testu Fungitell® STAT pro index β-glukanu ≥ 1,2 jsou interpretovány jako pozitivní výsledek v uspořádání s predikátem mezi hodnoty produktu Fungitell® 80 pg/ml, zatímco hodnoty indexu ≤ 0,74 jsou interpretovány jako negativní výsledky v uspořádání s predikátem mezi hodnoty produktu Fungitell® 60 pg/ml.

**VÝKONOVÉ CHARAKTERISTIKY**

**METODA SROVNÁVACÍHO TESTOVÁNÍ**

Identifikované zmrazené vzorky séra pacientů odebrané pro rutinní klinickou péči o zamýšlenou populaci a získané v laboratoři Beacon Diagnostics® Laboratory, Inc pro testování predikátu Fungitell® byly použity k účelu studie porovnání metod. Beacon Diagnostics® Laboratory, Inc je licencovanou laboratoří Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) jako součást ACC. Populace 488 deidentifikovaných vzorků séra pacientů byla zařazena do studie s koncentracemi (1→3)-β-D-glukanu distribuovanými po celém rozsahu predikované křivky přípravku Fungitell®. Tyto vzorky obsahovaly 309 vzorků spadajících do negativní zóny predikovaných výsledků testu Fungitell®, 143 vzorků spadajících do pozitivní zóny predikátu Fungitell® a 36 vzorků spadajících do neurčitelné zóny predikátu Fungitell® (*tabulka 2*). Všechny vzorky byly v příběhu studie testovány s použitím testů Fungitell® STAT i Fungitell®. Když vzorky spadaly do neurčitelné zóny Fungitell® STAT, byly z analýzy vyloučeny, zůstalo 290 vzorků pro analýzu negativní procentní shody a 119 vozků pro analýzu pozitivní procentní shody

		<b>TABULKA 2</b> <b>VÝKON FUNGITELL® STAT V POROVNÁNÍ S FUNGITELL®</b>			
		<b>Predikát Fungitell®</b>			
		Negativní	Neurčitelný	Pozitivní	Celkem
<b>Fungitell® STAT</b>	Negativní	283	17	1	301 (61,7 <span> </span> %)
	Neurčitelný	19	17	24	60 (12,3 <span> </span> %)
	Pozitivní	7	2	118	127 (26,0 <span> </span> %)
Celkem		309 (63,3 <span> </span> %)	36 (7,4 <span> </span> %)	143 (29,3 <span> </span> %)	488 (100 <span> </span> %)
		<b>NPA: 97,6<span> </span>%*</b> (283/290) <b>95% CI:</b> (95,4, 99,9)		<b>PPA: 99,2<span> </span>%*</b> (118/119) <b>95% CI:</b> (95,4, 99,9)	

 \*Neurčitelné (tj. ekvivalentní) výsledky nezařazené do analýzy: pokud jsou všechny neurčitelné výsledky považovány za neshodné výsledky (např. falešně pozitivní nebo falešně negativní), výkon je následující: PPA - 73,8 % (118/160), 95% CI: (66,4 %, 80,0 %); NPA - 91,0 % (283/311), 95% CI: (87,3 %, 93,7 %)

**NEGATIVNÍ PROCENTNÍ SHODA**

Dvě stě osmadesát tři (283) z 290 vzorků bylo negativních při testování s predikátem prostředkem Fungitell® a bylo rovněž negativní v testu Fungitell® STAT. Vypočítaná procentní shoda negativních (NPA) s predikátovou metodou byla 97,6 % (95% interval spolehlivosti: 95,4 %, 99,9 %) (**Tabulka 2**)

**POZITIVNÍ PROCENTNÍ SHODA**

Sto osmáct (118) ze 119 vzorků bylo pozitivních při testování s predikátem prostředku Fungitell® a bylo rovněž pozitivní v testu Fungitell® STAT. Vypočítaná procentní shoda pozitivních (PPA) s predikátovou metodou Fungitell® byla 99,2 % (95% interval spolehlivosti: 95,4 %, 99,9 %) (**Tabulka 2**)

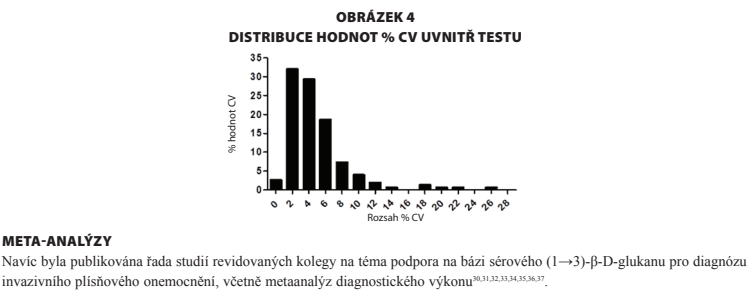
**STUDIE REPRODUKOVATELNOSTI**

Test Fungitell® STAT byl vyhodnocován na reprodukovatelnost naočkováním lidského séra *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)-β-D-glukan k produkcí pětičlenného panelu sestávajícího z nízkého negativního vzorku, vysokého negativního vzorku (bezprostředně pod spodním limitem 0,74), neurčitelného (ekvivalentního) vzorku, nízkého pozitivního vzorku (bezprostředně nad horní limitní hodnotou 1,2) a vysokého pozitivního vzorku (~2x nad horní limitní hodnotou 1,2). Panel byl distribuován do tří laboratoří CLIA k testování s použitím testu Fungitell® STAT. Každá laboratoř poskytla 150 datových bodů (tj. 5 vzorků x triplikát na běh testu x dva operátoři provádějící běh testu denně x 5 dní) pro celkem 450 datových bodů. Průměrné hodnoty indexu ve studii, které jsou uvedeny v **tabulce 3** níže, jsou odvozeny od dat poskytnutých třemi laboratořemi. Ve sloupci Procenta pozitivních je uveden procentní podíl vzorků pro daný člen panelu, spadající do pozitivní zóny. Ve třech laboratořích byly výsledky Procenta pozitivních 1,1 % pro nízký negativní vzorek, 0 % pro vysoký negativní vzorek, 3,3 % pro neurčitelný vzorek, 96,7 % pro nízký pozitivní vzorek a 100 % pro vysoké pozitivní vzorky.

<b>Člen panelu</b>	<b>Průměrný index</b>	<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>% CV</b>	<b>Procenta pozitivních (Počet pozitivních/počet testovaných)</b>
Nízký negativní	0,55	0,10	20,4 <span> </span> %	1,1 <span> </span> % (1/90)
Vysoký negativní	0,75	0,08	11,1 <span> </span> %	0 <span> </span> % (0/90)
Neurčitelný	0,94	0,10	11,1 <span> </span> %	3,3 <span> </span> % (3/90)
Nízký pozitivní	1,6	0,30	18,7 <span> </span> %	96,7 <span> </span> % (87/90)
Vysoký pozitivní	2,6	0,40	15,4 <span> </span> %	100 <span> </span> % (90/90)

**PŘESNOST**

Variace uvnitř testu (tj. %CV) se pohybovala od 0,4 % do 26,8 % a hodnoty variace mezi testy se pohybovaly od 11 do 20,4 %. Pro rozsah variace uvnitř testu je distribuce rozsahu % CV uvedena níže na **obrázku 4**. Celkově bylo 94 % hodnot CV 10 % nebo méně a 75 % hodnot CV bylo 6 % nebo méně.



**META-ANALÝZY**

Navíc byla publikována řada studií revidovaných kolegy na téma podpora na bázi sérového (1→3)-β-D-glukanu pro diagnózu invazivního plíšňového onemocnění, včetně metaanalýz diagnostického výkonu<sup>10,11,32,33,34,35,36,37</sup>.

**LEGENDA K SYMBOLŮM**

	"Použitelnost"		"Teplotní omezení"
	"Obsah vystačí na N testů"		"Výrobce"
	"Kód šarže"		"Přečtete si návod k použití"
	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek		"Autorizovaný zástupce"
	"Katalogové číslo"		"Označení CE"

<sup>R</sup>Xonly “Pouze na lékařský předpis”

	<b>ASSOCIATES OF CAPE COD INCORPORATED</b>	Telefon: (508) 540-3444
	124 Bernard E. Saint Jean Drive • E. Falmouth, MA 02536 USA	Bezplatná linka: (888) 395-2221
		Fax: (508) 540-8680
	Associates of Cape Cod Europe GmbH, Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Německo	Technická podpora: (800) 848-3248
	Associates of Cape Cod Europe GmbH, Opelstrasse 14, D-64546 Mörfelden-Walldorf, Německo	Zákaznický servis:(800) 525-8378

Zástupce pro Spojené Království: Associates of Cape Cod, Int'l., Inc, Deacon Park, Moorgate Road, Knowsley, Liverpool, L33 7RX, Spojené Království

Australský zadavatel: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park, 201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Austrálie

**Literatura:**

- Odabasi, Z., Paetznick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. Medical Mycology 44: 267-272.
- De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Concensus Group. Clin. Inf. Dis. 46: 1813-1821.
- Walsh, T.J., Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infectious Dis. 1999: 1:247-261.
- Fishman, J.A., Rubin, R.H. Infection in organ-transplant recipients. New England Journal of Medicine. 1998: 338:1741-1751.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H. Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horichi, A., Ito, A., Yamaguchi, H., Shimada, K., and Kawai, T. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 345: 17-20.
- Fridkin, S.K. and Jarvis, W.R. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin. Micro. Rev. 9: 499-511.
- Alexander, B., Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. Transpl. Infectious Dis. 2002: 4 (Suppl. 3):32-37
- Lass-Flori, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 52: 197-205.
- Nucci, M. and Anaissie, E. 2009. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation and solid organ transplantation - Focus on aspergillosis. Clin. Chest Med. 30: 295-306.
- Litvinseva, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhang, S.X., Grigurich, D.E.,

Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)-β-D-glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. J. Clin. Microbiol. 2015; 53:618-25.

- Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, P., Finkelman, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. CID 39: 199-205.
- Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in *Limulus*. Thrombosis Res. 68: 1-32.
- Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1→3)-β-D-Glucans. Carbohydrate Res. 218:167-174.
- Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1→3)-β-D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus ameboocyte lysate and host-mediated antitumor activity. Demonstration of single-helix conformation as a stimulant. Carbohydrate Res. 217:181-190.
- Aketagawa, J., Tanaka, S., Tamura, H., Shibata, Y., and Saito, H. 1993. Activation of Limulus coagulation factor G by several (1→3)-β-D-Glucans: Comparison of the potency of glucans with identical degree of polymerization but different conformations. J. Biochem 113:683-686.
- Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Maesaki, S., Tanaka, K-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. Plasma (1→3)-β-D-Glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J. Clinical Microbiol. 33: 3115-3118.
- Binder, U., Maurer, E., and Lass-Flori, C. 2014. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. Lin. Microbiol. Infect. 20 (Suppl.6): 60-66.
- Girouard, G., Lachance, C., and Pelletier, R. 2007. Observations of (1→3)-β-D-Glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by *Histoplasma* or *Blastomyces*. J. Med. Mycology 56: 1001-1002.
- Kanda, H., Kubo, K., Hamasaki, K., Kanda, Y., Nakao, A., Kitamura, T., Fujita, T., Yamamoto, K., and Mimura, T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1→3)-β-D-Glucan level. Kidney International 60: 319-323.
- Kato, A., Takita, T, Furuhashi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1→3)-β-D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. Nephron 89:15-19.
- Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoayagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakata, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1→3)-β-D-Glucan derived from different gauge types. Tohoku J. Exp. Med. 217: 117-121.
- Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Coenour, 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) ICAC Poster #M-168.
- Held J, Wagner D.β-D-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in Pneumocystis jirovecii pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2011;17:1118-22.
- Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1→3)-β-D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. Int. J. Hematol. 80: 97-98.
- Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergerova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timilsina, S., Rodriguez, I., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3- {beta}-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. J. Med. Microbiol. 2010; 59:1016-22.
- 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.
- 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.
- Goudjil, S., Kongolo, G., Dusol, L., Imestouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1→3)-β-D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. J. of Materernal-Fetal and Neonatal Med. 26: 44-48.
- Issa, N.C., Koo, S., Lynch, R.C., Gay, C., Hammond, S.P., Baden, L.R., Ghorbail, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.
- 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.
- He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. J Microbiol Immunol Infect; 2015 Aug;48:351-61.
- Wong J, Zhang Y, Patidar A, Vilar E, Finkelman M, Farrington K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artefact? Limitations of the Limulus Ameboocyte 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.