

Saggio per il rilevamento del (1→3)- β -D-glucano nel siero

SAGGIO FUNGITELL®

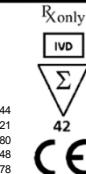
Istruzioni per l'uso



ASSOCIATES OF
CAPE COD
INCORPORATED

124 Bertrand E. Saint Jean Drive • East Falmouth, MA 02536 USA

Telefono: (508) 540-3444
Numero verde: (888) 395-2221
Fax: (508) 540-6680
Assistenza tecnica: (800) 848-3248
Assistenza clienti: (800) 525-8378



PN001268-it Rev13

REF FT001

2024-09-05



Per ottenere le istruzioni per l'uso nella propria lingua, visitare il sito www.accusa.com.

Questo prodotto è esclusivamente per uso diagnostico in vitro e per uso professionale.

1. Uso previsto

Fungitell® è un saggio colorimetrico a base di zimogeno della proteasi formulato per la determinazione qualitativa di (1→3)- β -D-glucano nel siero di pazienti con sintomi di micosi invasive o condizioni mediche che li predispongono a infezioni micotiche invasive. La concentrazione sierica del (1→3)- β -D-glucano, un importante componente della parete cellulare di vari miceti di rilievo dal punto di vista medico¹, può essere usata come ausilio nella diagnosi delle micosi e delle fungemie radicate.² Un risultato positivo non indica il genere di miceti responsabile dell'infezione.

I titoli di (1→3)- β -D-glucano devono essere usati contestualmente ad altre procedure diagnostiche quali culture microbiologiche, esame istologico di campioni biotici ed esami radiologici.

Importante

*Fornire le seguenti informazioni al medico richiedente: alcuni generi fungini, come *Cryptococcus*, che produce livelli esigui di (1→3)- β -D-glucano, possono non produrre livelli sierici di (1→3)- β -D-glucano sufficientemente elevati da consentire il rilevamento mediante il saggio.^{3,4} È stato osservato che le infezioni da zigomiceti *Mucorales* quali *Abysidina*, *Mucor* e *Rhizopus*^{4,5}, non noti per la produzione di (1→3)- β -D-glucano, generano titoli sierici di (1→3)- β -D-glucano esigui. Inoltre, *Blastomyces dermatitidis* allo stato di lievito produce livelli bassi di (1→3)- β -D-glucano e può quindi non essere rilevato dal saggio.⁵*

Questa dichiarazione deve essere allegata a tutti i referti dei risultati del saggio Fungitell®.

2. Sommario e spiegazione

L'incidenza delle micosi causate da agenti patogeni opportunisti è in aumento, in particolare tra i pazienti immunocompromessi.^{6,7,8} Le micosi invasive, in qualità di infezioni opportunistiche, sono frequenti tra i pazienti affetti da neoplasie hematologiche maligne e da AIDS e sono responsabili di un numero sempre maggiore di infezioni nosocomiali, in particolare tra i soggetti sottoposti a trapianto di organi e altri pazienti in terapia immunosoppressiva.^{9,10} Molte patologie micotiche vengono acquisite tramite inalazione di spore fungine provenienti da suolo, detriti vegetali, impianti di climatizzazione e/o superfici esposte. Alcuni miceti opportunisti sono presenti nella o sulla cute umana, nel tratto intestinale e nelle mucose.^{11,12} La diagnosi delle micosi invasive e delle fungemie si basa generalmente su tecniche diagnostiche o radiologiche di natura non specifica. Di recente, ai metodi diagnostici disponibili si sono aggiunti dei marcatori biologici di micosi.²

I patogeni micotici opportunisti includono *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acromonium spp.*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Exserohilum rostratum* e *Pneumocystis jirovecii*. Il (1→3)- β -D-glucano prodotto da questi e da altri organismi è rilevabile mediante il saggio Fungitell®.^{8,13,14}

3. Princípio della procedura

Il saggio Fungitell® misura il (1→3)- β -D-glucano sierico e si basa su una modifica del percorso del lisato di amebociti di *Limulus* (LAL).^{15,16,17,18} Figura 1. Il reagente Fungitell® è stato modificato in modo da eliminare la reattività alle endotossine batteriche e da reagire, quindi, esclusivamente con il (1→3)- β -D-glucano, tramite la tappa del meccanismo a cascata mediata dal fattore G. Il (1→3)- β -D-glucano attiva il fattore G, uno zimogeno della serin proteasi. Il fattore G attivato converte l'enzima procoagulante inattivo in enzima coagulante attivo, che a sua volta separa la para-nitroanilina (pNA) dal substrato cromogeno peptidico (Boc-Leu-Gly-Arg-pNA), liberando un cromoforo (la para-nitroanilina) che assorbe a 405 nm. Il saggio cinetico Fungitell® descritto in questa sede si basa sulla determinazione del tasso di aumento della densità ottica prodotto dal campione. Questo tasso viene interpretato in base a una curva standard che permette di stimare la concentrazione di (1→3)- β -D-glucano presente nel campione.

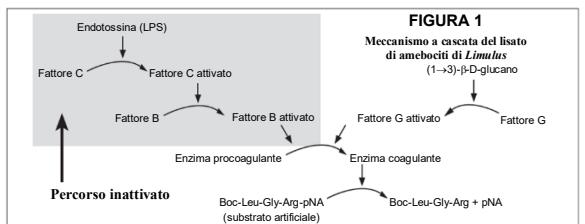


FIGURA 1
Mecanismo a cascata del lisato di amebociti di *Limulus*

(1→3)- β -D-glucano

Endotossina (LPS)

Fattore C attivato

Fattore B attivato

Enzima procoagulante

Fattore G attivato

Enzima coagulante

Boc-Leu-Gly-Arg-pNA
(substrato artificiale)

Boc-Leu-Gly-Arg + pNA

Percorso inattivato

42

CE

Fattore B

Fattore G

Fattore C

Fattore B

8.8 Aggiunta del reagente Fungitell® e procedura di incubazione della piastra

- A. Aggiungere 100 μ L di reagente Fungitell® a ciascuno dei pozetti (contenenti controlli negativi, standard e campioni), utilizzando la pipetta ripetitiva.
- B. Inserire la piastra nel lettore di micropiastra (stabilizzato a 37 °C), rimuovere il coperchio e agitare per 5-10 secondi. Se il lettore di micropiastra non è dotato della funzione di agitazione, è possibile ricorrere a un agitatore per micropiastra esterno.

Leggere la piastra **senza il coperchio** a 405 nm con sottrazione del background a 490 nm, per 40 minuti a 37 °C. Nota: se lo strumento non dà il tempo necessario per togliere il coperchio tra l'operazione di agitazione e quella di lettura, agitare la piastra senza coperchio per consentire la lettura senza il coperchio.

9. Calcolo dei risultati

Raccogliere i dati e analizzarli come segue. Esaminare i grafici cinetici dei campioni di test e controllare per identificare l'eventuale presenza di comportamenti diversi da un aumento regolare paragonabile a quello degli standard. Invaludare i tracciati indicanti interferenza ottica (ad es., i casi in cui gli andamenti cinetici non seguono quelli degli standard). Calcolare il tasso medio di variazione della densità ottica (unità di millassorbanza al minuto), per tutti i punti tra 0 e 40 minuti (il calcolo viene eseguito dal software). Interpolare le concentrazioni di (1→3)- β -D-glucano dei campioni in base alla curva standard (l'interpolazione viene eseguita dal software).

10. Controllo qualità

- Il coefficiente di correlazione (r) della curva standard (lineare/lineare) deve essere $\geq 0,980$.
 - I pozetti contenenti 25 μ L di LRW fungono da controlli negativi. I tassi di velocità (ad es. unità di millassorbanza al minuto) dei controlli negativi devono essere inferiori al 50% dei tassi standard più bassi. In caso contrario, il saggio deve essere ripetuto usando reagenti completamente nuovi.
 - Manipolazione dei campioni complessi. Se il tecnico osserva comportamenti cinetici inusuali durante l'analisi di un campione, ad es. un campione opaco, scolorito o torbido (come un campione macroscopicamente emolizzato, lipemic o contenente bilirubina in quantità eccessiva), il campione deve essere diluito con LRW e rianalizzato. Di questa diluizione è necessario tener conto ai fini della riferterazione dei risultati moltiplicando il risultato per il fattore di diluizione.
- Generalmente, il fattore di diluizione viene inserito durante la configurazione del software per il campione, e la correzione necessaria viene applicata automaticamente.**

Nota:

- Ciascun utilizzatore del saggio deve stabilire un programma di controllo di qualità che garantisca la competenza dei tecnici nell'esecuzione del saggio in base alle norme applicabili presso il laboratorio.
- Si consiglia di analizzare i campioni di controllo del siero (negativi, vicini al valore limite o nettamente positivi) nel contesto di ulteriori controlli di laboratorio e della buona prassi di laboratorio. Questi ulteriori controlli non sono inclusi nel kit Fungitell®.

11. Interpretazione dei risultati

RISULTATO NEGATIVO

Valori di (1→3)- β -D-glucano <60 pg/ml vengono interpretati come risultati negativi.

Il laboratorio che esegue il test deve informare il medico richiedente del fatto che non tutte le infezioni fungine evidenziano livelli elevati di (1→3)- β -D-glucano nel siero. Alcune specie fungine, come il genere *Cryptococcus*^{3,4}, producono livelli esigui di (1→3)- β -D-glucano. I Mucorales, come *Absidia*, *Mucor* e *Rhizopus*^{1,4}, in genere non producono (1→3)- β -D-glucano. Analogamente, *Blastomyces dermatitidis* allo stato di lievito produce bassi livelli di (1→3)- β -D-glucano, e i pazienti affetti da blastomicosi evidenziano generalmente livelli non rilevabili di (1→3)- β -D-glucano nell'ambito del saggio Fungitell^{1,5}.

RISULTATO INDETERMINATO

I valori compresi tra 60 e 79 pg/ml sono considerati inconcludenti. Si consiglia il prelievo e l'analisi di ulteriori campioni di siero. Una maggiore frequenza di prelievo e di analisi migliora l'utilità del saggio ai fini della diagnosi.

RISULTATO POSITIVO

I valori di (1→3)- β -D-glucano ≥ 80 pg/ml vengono interpretati come un risultato positivo. Un risultato positivo non definisce la presenza della malattia e deve essere utilizzato contestualmente ad altri esiti clinici per formulare la diagnosi.

12. Limitazioni del saggio

- Le sedi tissutali della micosi¹⁰, l'incapsulamento e la quantità di (1→3)- β -D-glucano prodotta da determinati miceti possono influire sulla concentrazione dell'analita nel siero. Una ridotta capacità di liberare (1→3)- β -D-glucano nel circolo ematico può compromettere il rilevamento di alcune micosi.
- Alcuni soggetti presentano livelli elevati di (1→3)- β -D-glucano che rientrano nella fascia indeterminata. In tali casi, si consiglia di procedere ad ulteriori test di sorveglianza.
- La frequenza dell'analisi dipenderà dal rischio relativo di micosi del paziente. Per i pazienti a rischio si consiglia il prelievo di campioni almeno due o tre volte alla settimana.

- Sono stati riscontrati risultati positivi nei pazienti emodializzati^{19,20,38}, in soggetti trattati con determinati prodotti del frazionamento ematico come albumina sierica e immunoglobuline^{23,25} e in campioni o soggetti esposti a garze e spugne chirurgiche contenenti glucano. Il ripristino dei livelli al basale di (1→3)- β -D-glucano nel siero richiede 3-4 giorni di tempo dopo l'esposizione a spugne e garze contenenti (1→3)- β -D-glucano in sede chirurgica.^{21,22} La tempestività di prelievo dei campioni dai pazienti chirurgici deve tener conto di questo fatto.
- Non sono accettabili campioni ottenuti con puntura del tallone o del polpastrello, in quanto la garza imbevuta di alcol usata sulla cute (e potenzialmente anche l'accumulo di sangue sull'epidermide) si è dimostrata essere fonte di contaminazione per i campioni. Gli studi condotti fino ad oggi non hanno evidenziato alcuna differenza tra i campioni prelevati attraverso una linea venosa o mediante puntura venosa.^{26,27}
- Per un'analisi completa dei fattori che contribuiscono ai falsi positivi di (1→3)- β -D-glucano, consultare Finkelman, M.A., *Journal of Fungi* (2021).³⁹
- I livelli di analisi sono stati stabiliti su soggetti adulti. I livelli normali e di cut-off per la popolazione infantile e pediatrica sono in fase di studio.^{26,29}

13. Caratteristiche delle prestazioni

13.1 Valori di cut-off e valori previsti

Uno studio prospettico multicentrico³¹ condotto per stabilire la sensibilità diagnostica e la specificità diagnostica del saggio Fungitell® (vedere l'analisi di confronto di seguito) ha dimostrato che i valori di beta glucano sono elevati in svariati micosi. In presenza di segni e sintomi a un livello di 80 pg/ml o superiore, il valore predittivo di positività di un soggetto per la micosi va dal 74,4% al 91,7%. In assenza di segni e sintomi a un livello inferiore a 60 pg/ml, il valore predittivo di negatività va dal 65,1% all'85,1%.

13.2 Prestazioni cliniche

È stato condotto uno studio prospettico multicentrico allo scopo di convalidare le caratteristiche delle prestazioni del saggio Fungitell^{19,21}. Il saggio è stato messo a confronto con altre metodiche standard di rilevamento (ovvero emocultura, esame istopatologico di campione biotípico e studi radiologici) di micosi e fungemie.

Trentocinquantanove (359) soggetti sono stati testati con il saggio. Ogni soggetto ha fornito un singolo campione. I soggetti a basso rischio comprendevano individui apparentemente sani e pazienti ricoverati presso centri clinici per motivi diversi dalle micosi. I soggetti sono stati arruolati presso sei centri clinici negli Stati Uniti. Quattro di questi centri clinici hanno eseguito il saggio, analizzando un totale di 285 campioni. ACC ha testato tutti e 359 i campioni due volte; a fini della determinazione delle prestazioni del saggio, però, ha usato solo il secondo set di risultati. I risultati di questo secondo set di analisi non hanno dimostrato alcuna differenza statistica da quelli del primo set.

• Sensibilità diagnostica

La sensibilità per l'intera popolazione di soggetti (359), inclusi i pazienti affetti da criptococcosi, è stata del 65,0% (intervallo di confidenza [IC] al 95% pari a 60,1-70,0%) (Tabella 1).

• Specificità diagnostica

La specificità è stata dell'81,1% (IC 77,1-85,2%). Quando sono stati presi in esame i 170 soggetti negativi all'infezione micotica e in condizioni di salute apparentemente buone, la specificità del saggio era dell'86,5% (IC 82,8%-90,1%). Con l'inclusione di altri 26 soggetti negativi per micosi ma affetti da altri disturbi, la specificità è passata all'81,1% (IC 77,1-85,2%).

Tabella 1 Risultati del test ACC al livello di cut-off di 60-80 pg/ml per centro

Centro	Conclamato/probabile Sensibilità ≥ 80 pg/ml		Specificità <60 pg/ml		Indeterminato $60-80$	Totale		
	Pos/ Clin. pos	Sensibilità	Valore predittivo positivo	Neg/ Clin. neg	Specificità	Valore predittivo negativo		
1	32/50	64,0	97,0	39/40	97,5	69,6	1	90
2	14/24	58,3	93,3	17/20	85,0	70,8	5	44
3	14/19	73,7	46,7	36/54	66,7	90,0	3	73
4	25/33	75,8	92,6	37/43	86,0	86,0	6	76
5	21/36	58,3	80,8	30/39	76,9	69,8	6	75
6	0/1	0,0	N/A	0/0	N/A	0,0	0	1
Totale	106/163	65,0	80,9	159/196	81,1	76,8	21	359

Rapportando i risultati ottenuti da ACC (359 campioni) e dai centri clinici (285 campioni) alla diagnosi clinica, la sensibilità è risultata del 64,3% (IC 58,8-69,9%) per ACC e del 61,5% (IC 55,9-67,2%) per i centri. La specificità è risultata dell'86,6% (IC 82,7-90,6%) per ACC rispetto al 79,6% (IC 74,9-84,3%) per i centri.

Candidosi

Durante lo studio prospettico, a 107 soggetti è stata diagnosticata con certezza una candidosi: 83 su 107 sono risultati positivi al saggio Fungitell®.

Dei 175 campioni forniti ad Associates of Cape Cod, Inc. dagli archivi della candidosi, 145 sono risultati positivi al saggio.

Aspergilloosi

Un totale di 10 soggetti è risultato positivo per l'aspergilloosi e 8 su 10 sono risultati positivi al saggio.

Fusariosi

Tre soggetti sono risultati positivi per la fusariosi e 2 su 3 sono risultati positivi al saggio.

Terapia farmacologica antimicotica

La presenza o l'assenza di terapia farmacologica antimicotica non ha avuto un effetto statisticamente significativo sulla sensibilità del saggio. 118 soggetti in terapia antimicotica sono stati accertati come positivi per infezione fungina invasiva. 82 sono risultati positivi al saggio (sensibilità del 69,5%; IC 61,2-77,8%). Inoltre, ventiquattro (24) soggetti accertati come positivi non erano sottoposti a terapia antimicotica. 18 sono risultati positivi al saggio (sensibilità del 75%; IC 57,7-92,3%).

13.3 Correlazione tra saggi

Quattro dei centri clinici hanno testato un totale di 285 campioni. I risultati dei centri clinici hanno dimostrato una correlazione quantitativa del 96,4% con i risultati ottenuti da Associates of Cape Cod, Inc. Le correlazioni di Associates of Cape Cod, Inc. rispetto ai singoli centri di analisi sono risultate comprese tra il 90,6% e il 99,2%.

13.4 Precisione

Il saggio Fungitell® è stato valutato relativamente alla precisione (ossia, ripetibilità e riproducibilità) utilizzando dieci (10) campioni diversi, ciascuno analizzato presso tre centri di analisi, in tre giorni diversi. La variazione intra-saggio era compresa tra lo 0,9% e il 28,9% ed è stata utilizzata per misurare la ripetibilità. I valori tra saggi erano compresi tra il 3,9% e il 23,8% e sono stati utilizzati per misurare la riproducibilità. I quattro (4) campioni negativi sono stati esclusi dai calcoli di ripetibilità e riproducibilità.

13.5 Intervallo di misurazione e linearità

I risultati sono espressi in pg/ml di siero e vanno da non rilevabile (<31 pg/ml) a >500 pg/ml; i risultati vengono stampati dal software o vengono letti in base alla curva standard. Per ottenere valori accurati oltre i 500 pg/ml è necessario diluire il campione con acqua per reagente LAL e ripetere il saggio. Come indicato nella sezione Controllo qualità, il coefficiente di correlazione (r) della curva standard (lineare o lineare) che copre l'intervallo di misurazione del saggio Fungitell® deve essere $\geq 0,980$ e i tassi della velocità (ad es. unità di millassorbanza al minuto) dei controlli negativi devono essere inferiori al 50% dei tassi standard più bassi. In caso contrario, il saggio deve essere ripetuto usando reagenti completamente nuovi.

13.6 Sostanze interferenti

Le seguenti condizioni del campione sono in grado di interferire con l'accuratezza dei risultati del saggio Fungitell®:

- Campioni scoloriti o torbidi, come quelli macroscopicamente emolizzati, lipemici o contenenti bilirubina in quantità eccessiva, possono causare interferenza ottica nel contesto del saggio. A seguito dell'analisi di campioni di questo tipo, i risultati devono essere esaminati per escludere interferenza ottica e/o andamenti cinetici insoliti.
- Livelli elevati di immunoglobulina G, come quelli riscontrati nel siero in presenza di melanoma multipli, possono provocare la formazione di precipitati nella miscela di reazione dopo l'aggiunta del reagente Fungitell® al siero pre-trattato.³⁰
- Ad oggi, non sono stati descritti altri fattori G attivanti (elementi di rilevamento del (1→3)- β -glucano) del reagente Fungitell® oltre al (1→3)- β -glucano. In alcuni studi, in cui sono state fatte asserzioni di reattività crociata, il trattamento del presunto materiale attivante con (1→3)- β -glucanasi purificata ha eliminato il segnale, dimostrando che l'attivazione osservata era dovuta alla contaminazione da (1→3)- β -glucano¹⁵. In seguito al rilascio di para-nitroanilina nella miscela di reazione Fungitell® può verificarsi anche una contaminazione da serin proteasi, ma queste vengono inattivate durante la procedura di pre-trattamento.

14. Meta-analisi

Inoltre, sull'utilità del (1→3)- β -D-glucano sierico nella diagnosi delle infezioni fungine invasive sono stati pubblicati numerosi studi "peer-reviewed", incluse meta-analisi delle prestazioni diagnostiche.^{32,33,34,35,36,37}

15. Legenda dei simboli

	Usare entro il		Consultare le istruzioni per l'uso
	Contenuto sufficiente per "N" test		Mandatario per l'UE
	Codice del lotto		Marchio CE

IVD	Dispositivo medico per uso diagnostico in vitro	R_{only}	Esclusivamente per l'uso su prescrizione
REF	N. di catalogo		Attenzione
			Tenere lontano dalla luce solare
			Fabbricante
CH REP	Mandatario svizzero		Importatore

16. Mandatari/importatore

EC REP	Emergo Europe, Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, Paesi Bassi
CH REP	Mandatario svizzero MedEnvoy Switzerland Gottardstrasse 28, 6302 Zug, Svizzera
Importatore	MedEnvoy Global B.V. Prinses Margrietplantsoen 33-Suite 123 2595 AM The Hague, Paesi Bassi

Sponsor austriaco:

Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park
201 Sussex Street, Sydney, NSW 2000, Australia

Nota: qualsiasi incidente grave verificatosi che sia riconducibile al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.

17. Informazioni di contatto

Sede centrale - Associates of Cape Cod, Inc.
Tel: (888) 395-2221 o (508) 540-3444 • Fax: (508) 540-8680
E-mail: custservice@accusa.com • www.accusa.com

Regno Unito/Europa - Associates of Cape Cod Int'l, Inc.

Unit 1 F/G/H Academy Business Park, Lees Road
Knowsley, Liverpool L33 7SA, Regno Unito
Tel: (44) 151-547-7444 • Fax: (44) 151-547-7400
E-mail: info@acciuuk.co.uk • www.acciuuk.co.uk

18. Cronologia delle revisioni

Modifiche da Rev 0 a Rev 11: modifica delle analisi (da triplicato a doppio); sostituzione dell'acqua di grado reagente con l'acqua per reagente LAL; combinazione dei componenti KCL e KOH nella soluzione alcalina di pre-trattamento; rimozione della micropiastra dal kit, che viene offerta come necessaria ma che non viene fornita; modifica del rappresentante CE e aggiunta dello sponsor austriaco; piccoli chiarimenti, formattazione, aggiunta di simboli, ulteriori sostanze interferenti. Rev 12: Rimozione di EC REP Emergo Europe. Rev 13: Aggiornamento dell'indirizzo del Regno Unito e rimozione della Germania. Aggiunta di MedEnvoy come importatore UE e rimozione di ACC Europe GmbH dalla Sezione 17. Correzione di errori grammaticali minori. Aggiornamento dei simboli utilizzati. Aggiunta del nome e dell'indirizzo del mandatario europeo, dell'importatore svizzero e del mandatario svizzero.

19. Bibliografia

- Odabasi, Z., Paetzick, V., Rodriguez, J., Chen, E., McGinnis, M., and Ostrosky-Zeichner, L. 2006. Differences in beta-D-glucan levels of culture supernatants of a variety of fungi. *Medical Mycology* 44:267-272.
- De Pauw, B., Walsh, T.J., Donnelly, J.P. et al. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institutes of Allergy and Infectious Disease Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin. Inf. Dis.* 46: 1813-1821.
- Miyazaki, T., Kohno, S., Mitutake, K., Masaaki, S., Tanaka, K.-I., Ishikawa, N., and Hara, K. 1995. *(1→3)- β -D-Glucan and fungal antig*

13. Litvinsev, A.P., Lindsley, M.D., Gade, L., Smith, R., Chiller, T., Lyons, J.L., Thakur, K.T., Zhong, S.X., Grgurich, D.E., Kerkering, T.M., Brandt, M.E., and Park, B.J. Utility of (1-3)- β -D-Glucan testing for diagnostics and monitoring response to treatment during the multistate outbreak of fungal meningitis and other infections. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53:618-25.
14. Odabasi, Z., Matriuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R., Ketchum, M., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2004. β -Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *CID* 39: 199-205.
15. Iwanaga, S., Miyata, T., Tokunaga, F., and Muta, T. 1992. Molecular mechanism of hemolymph clotting system in Limulus. *Thrombosis Res.* 68: 1-32.
16. Tanaka, S., Aketagawa, J., Takahashi, S., Tsumuraya, Y., and Hashimoto, Y. 1991. Activation of a Limulus coagulation factor G by (1-3)- β -D-Glucans. *Carbohydrate Res.* 218:167-174.
17. Saito, H., Yoshioka, Y., Uehara, N., Aketagawa, J., Tanaka, S., and Shibata, Y. 1991. Relationship between conformation and biological response for (1-3)- β -D-Glucans in the activation of coagulation factor G from Limulus 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., Furukoshi, M., Takahashi, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2001. Elevation of blood (1-3)- β -D-Glucan concentrations in hemodialysis patients. *Nephron* 89:15-19.
21. Kanamori, H., Kanemitsu, K., Miyasaka, T., Ameku, K., Endo, S., Aoyagi, T., Inden, K., Hatta, M., Yamamoto, N., Kunishima, H., Yano, H., Kaku, K., Hirakat, Y., and Kaku, M. 2009. Measurement of (1-3)- β -D-Glucan derived from different gauze types. *Tohoku J. Exp. Med.* 217: 117-121.
22. Mohr, J., Paetznick, V., Rodriguez, J., Finkelman, M., Cocanour, C., Rex, J., and Ostrosky-Zeichner, L. 2005. A prospective pilot survey of β -D-Glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) ICAAC Poster #M1-168.
23. Heiki J, Wagner D. β -D-Glucan kinetics for the assessment of treatment response in *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:118-22.
24. Tamura, H., Arimoto, Y., Tanaka, S., Yoshida, M., Obayashi, T., and Kawai, T. 1994. Automated kinetic assay for endotoxin and (1-3)- β -D-Glucan in human blood. *Clin. Chim. Acta* 226: 109-112.
25. Ogawa, M., Hori, H., Niiguchi, S., Azuma, E., and Komada, Y. 2004. False positive plasma (1-3)- β -D-Glucan following immunoglobulin product replacement in adult bone marrow recipient. *Int. J. Hematol.* 80: 97-98.
26. Racil, Z., Kocmanova, I., Lengerova, M., Weinbergrova, B., Buresova, L., Toskova, M., Winterova, J., Timinska, S., Rodriguez, I., and Mayer, J. Difficulties in using 1,3- β -D-gluc 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. Postoraro, B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi, M.A., Bello, G., Maviglia, R., Fadda, G., Sanguinetti, M., and Antonelli, M. 2011. Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1-3)- β -D-glucan assay, Candida score, and colonization index. *Crit Care* 15: R249.
28. Smith, P.B., Benjamin, D.K., Alexander, B.D., Johnson, M.D., Finkelman, M.A., and Steinbach, W.J. 2007. (1-3)- β -D-Glucan levels in pediatric patients: Preliminary data for the use of the beta-D-glucan test in children. *Clin. Vaccine Immunol.* 14: 924-925.
29. Goudjil, S., Kongo, G., Dasil, L., Imstouren, F., Cornu, M., Leke, A., and Chouaki, T. 2013. (1-3)- β -D-glucan levels in candidaemia infections in the critically ill neonate. *J. of Maternal-Fetal and Neonatal Med.* 26: 44-48.
30. Issa, N.C., Kao, S., Lynch, R.C., Guy, C., Hammars, 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. Multi-center clinical evaluation of the (1-3)- β -D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin. Inf. Dis.* 41: 299-305.
32. Karageorgopoulos, D.E., Vouloumanou, E.K., Ntziora, F., Michalopoulos, A., Rafailidis, P.I., Falagas, M.E. 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 Fungi 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 (ECL-3). *Clin Infect Dis.* 2012; 54:633-43.
35. Onishi, A.I., Sugiyama, D., Kogata, Y., Saegusa, J., Sugimoto, T., Kawano, S., Morimoto, A., Nishimura, K., Kumagai, S. Diagnostic accuracy of serum 1,3- β -D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 2012; 50:7-15.
36. Karageorgopoulos, D.E., Qu, J.M., Korbila, I.P., Zhu, Y.G., Vasiliou, V.A., Falagas, M.E. Accuracy of β -D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 19:39-49.
37. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong F4A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3- β -D-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *J Microbiol Immunol Infect.* 2015 Aug;48:351-61.
38. Wong, J., Zhang, Y., Patidar, A., Vilar, E., Finkelman, M., Farrington, K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artefact? Limitations of the Limulus Amebocyte Lysate Assay and Role of (1-3)- β -D-Glucan. *PLoS One.* 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.
39. Finkelman, M. Specificity Influences in (1-3)- β -D-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. *J. Fungi* (Basel) 2020 Dec 29;7(1):14.

Pubblicazioni di riferimento supplementari sono reperibili sul nostro sito web, Fungitell.com.

Una descrizione della guida rapida alla procedura di analisi può essere scaricata dal sito Fungitell.com:
https://www.fungitell.com/pdfs/Fungitell_ProcedureOutline_PR18-016.pdf