

Клиническое значение определения циркулирующего (1→3)-β-D-глюкана в крови пациентов при подозрении на инвазивную грибковую инфекцию

В.П. Пирумова¹, М.С. Гельфанд²

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва;

²Научный центр здоровья Университета штата Теннесси, Мемфис, США

Контакты: Валентина Петровна Пирумова v.pirumova@gmail.com

Инвазивные грибковые инфекции (ИГИ) представляют неоднородную группу заболеваний, чье клиническое значение возрастает за счет увеличения числа пациентов онкологического профиля, посттрансплантационных больных, пациентов с апластической анемией, врожденными и приобретенными дефектами иммунитета. Заболеваемость и смертность от грибковой инвазии продолжает держаться на высоком уровне, а доступные методы диагностики не всегда позволяют вовремя выявить инфекцию и изолировать возбудителя. «Золотым стандартом» определения ИГИ является микробиологическое и гистологическое исследование материала биопсии, выполнение которой на практике часто связано с высоким риском для пациента.

Надежные некультуральные методы раннего определения ИГИ должны улучшить существующую диагностическую ситуацию и сделать возможным более раннее принятие решений о назначении специфической противогрибковой терапии.

В данной статье мы предприняли попытку дать представление о преимуществах и ограничениях одного из таких тестов. В последние годы в доступной англоязычной литературе появляется все больше статей и обзоров литературы, посвященных определению циркулирующего (1→3)-β-D-глюкана (BDG), — преобладающего компонента клеточной стенки большинства патогенных грибов.

Несмотря на то, что данный тест обладает большим диагностическим потенциалом, рекомендовать его для рутинного использования у больных детского возраста с персистирующей фебрильной нейтропенией представляется преждевременным. Умеренная чувствительность и специфичность, недостаточность данных о критериях оценки у детей, временная задержка получения результатов (при условии проведения анализа в референс-лаборатории) и стоимость делают этот тест менее удобным с точки зрения принятия своевременного решения относительно постановки диагноза и инициации противогрибковой терапии. Данные результатов определения циркулирующего BDG могут быть интерпретированы только в составе общей картины клинического течения заболевания в сочетании с данными классических клинических, лабораторных и радиологических методов.

Ключевые слова: инвазивные грибковые инфекции, циркулирующий (1→3)-β-D-глюкан, бета-глюкан тест

Clinical value of blood circulating (1→3)β-D-glucan in patients with suspected invasive fungal infection

V.P. Pirumova¹, M.S. Gelfand²

¹Dmitry Rogachev Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Moscow;

²Health Science Center, The University of Tennessee, Memphis, USA

Invasive fungal infections (IFI) are a heterogeneous group of diseases, whose clinical significance is increased due to large number of cancer patients, patients with aplastic anemia, congenital or acquired immunity defects. Morbidity and mortality due to fungal infection remain high, and the available diagnostic methods do not always allow timely detect and isolate infection pathogen. Microbiological and histological examination of biopsy material is the “gold standard” of IFI diagnostic, but in practice it is often associated with high risk for patients.

Reliable nonculture methods of early IFI detection needed to improve current diagnostic and allowing an earlier decision of specific antifungal therapy.

This article presents the advantages and limitations of one of these tests. In recent years, many articles and reviews about circulating (1→3)β-D-glucan (BDG) detection (major cell wall component of most pathogenic fungi) has appeared in the available literature.

Despite that this test has a high diagnostic value, to recommend it for routine use in children with febrile neutropenia is premature. This test is less useful in making timely decision about diagnosis and start of antifungal therapy because of moderate sensitivity and specificity, the lack of evaluation criteria in children, late results (if detected in reference laboratory) and cost. BDG detection results can be interpreted only in conjunction with clinical course and data of routine laboratory and radiological methods.

Key words: invasive fungal infection, circulating (1→3)β-D-glucan, beta-glucan test

Введение

Инвазивные грибковые инфекции (ИГИ) представляют неоднородную группу заболеваний, чье клиническое значение возрастает за счет увеличения числа пациентов, относящихся к группам риска. В основном, это больные онкологического профиля, пациенты с апластической анемией, врожденными и приобретенными дефектами иммунитета, посттрансплантационные больные, включая тех, у кого развивается реакция «трансплантат против хозяина». Все состояния ятрогенной иммуносупрессии, длительный прием кортикостероидов создают условия для развития ИГИ [8].

Несмотря на постоянно совершенствующиеся методы диагностики и терапии, заболеваемость и смертность от ИГИ продолжает держаться на высоком уровне [8, 30].

«Золотым стандартом» определения ИГИ является микробиологическое и гистологическое исследование биопсийного материала [8, 22]. Отрицательные стороны инвазивных методов диагностики очевидны. Что же касается посевов крови, то обнаружить инвазивный кандидоз и фузариоз таким образом удастся только у 50 % больных [3, 27], а истинный инвазивный аспергиллез, по мнению разных авторов, не более чем у 10 % [4].

Надежные некультуральные методы раннего определения ИГИ, основанные на обнаружении грибковых антигенов, антител, нуклеиновых кислот, компонентов клеточных мембран, циркулирующих в сыворотке крови и других биологических жидкостях, должны улучшить существующую диагностическую ситуацию [29] и сделать возможным более раннее принятие решений о назначении специфической противогрибковой терапии. К подобным тестам относится определение уровня галактоманна (выявление инвазивного аспергиллеза), широко используемое в стационарах, где лечат пациентов групп риска [8].

Другим циркулирующим маркером ИГИ, использование которого одобрено Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (FDA), является (1→3)-β-D-глюкан (BDG) [1].

В последние годы в доступной англоязычной литературе появляется все больше статей и обзоров литературы, посвященных его определению, а специфических публикаций по этому вопросу на русском языке обнаружить не удалось.

В данной статье мы предприняли попытку дать представление о преимуществах и ограничениях данного теста.

Результаты

BDG — это компонент клеточной стенки большинства грибов. До недавнего времени считалось, что она целиком представляет собой инертную субстанцию, выполняющую, в основном, структурную функцию. Однако было показано, что под действием меха-

нических и химических воздействий клеточная стенка, не теряя сохранности содержимого (осмотической целостности), постоянно изменяется [30]. Главные структурные единицы клеточной стенки ответственные за данный процесс, — это полисахариды. Для большинства патогенных грибов основными являются маннан, хитин и глюкан. При этом последний преобладает у всех сапрофитных и патогенных грибов, за исключением *Mucor (Zygomycetes)*, *Blastomyces dermatitidis*, *Rhizopus*, *Cryptococcus sp.* [15, 30].

В середине XX века была предложена методика определения циркулирующего BDG, в основе которой лежала способность этого полисахарида активировать фактор G в коагуляционном каскаде мечехвоста (*horseshoe crab*). В сущности, это разновидность известного лимулюс амебоцитного лизатного (ЛАЛ) теста, который используется для выявления эндотоксинов. Метод был открыт группой ученых из Массачусетса (John Hopkins Marine Biological Laboratory). В 1956 г. при введении эндотоксина в кровотоки североамериканского мечехвоста (*Limulus polyphemus*) ими была документирована реакция внутрисосудистого свертывания. Позже было показано, что за запуск каскада свертывания ответственен профермент сериновой протеазы (фактор C), содержащийся в амебоцитах (аналог фагоцитов в кровотоке членистоногого) [6, 15].

В 1968 г. второй подобный профермент — фактор G — был определен ответственным за активацию ЛАЛ-каскада тромбообразования. Было показано, что в отличие от фактора C, этот профермент активируется без участия эндотоксина, а лишь в присутствии карбоксиметилированного бета-глюкана [6, 15]. На основании этого был разработан тест, направленный на определение циркулирующего (1→3)-BDG. Схематично структура современного теста выглядит следующим образом: (1→3)-BDG (находящийся в сыворотке крови) приводит к активации фактора G, который в свою очередь запускает ЛАЛ-каскад тромбообразования. При добавлении к реакции хромогенного п-нитроанилида (связанного с дипептидом), уровень BDG выше, чем 1 пг/мл можно определить спектрометрически: связанный с пептидом п-нитроанилид бесцветен, но при отщеплении он окрашивается в желтый цвет [11, 21]. Определяемое таким образом наличие BDG в сыворотке означает присутствие грибковой инвазии.

Для количественного определения уровня BDG в клинической практике в настоящее время доступно 2 вида тестов: Fungitell (он же Glucatell® Associates of Cape Cod, Inc., Falmouth, MA) основан на использовании ферментов амебоцитов мечехвоста *Limulus polyphemus*, в то время как Fungitec-G использует амебоциты *Tachypleus tridentatus* [7, 21].

Что касается пороговых значений, то согласно указаниям производителей для тестов, использующих *T. tridentatus* принят лимит в 20 пг/мл, а для исследований с использованием *L. polyphemus* — 80 пг/мл. При

этом в последнем случае отрицательным признается результат < 60 пг/мл, а уровень 60–79 пг/мл предлагают считать промежуточным [15].

В повседневной практике врачи все чаще сталкиваются с необычными грибковыми инфекциями. Среди причин можно назвать и улучшение микробиологических методов выделения организмов, и увеличение настороженности в отношении роли этих инфекций, и интенсивное использование противогрибковых препаратов, приводящее к появлению резистентных штаммов [2].

В исследовании, проведенном в 1978–1992 гг. на основании более 8000 аутопсий, был продемонстрирован значительный рост пропорции инвазивных инфекций, вызванных грибами, отличными от *Candida* и *Aspergillus* [25]. Большинство этих возбудителей было выявлено у больных с онкогематологическими заболеваниями и апластическими анемиями.

В настоящее время у пациентов, получивших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), основными возбудителями ИГИ являются плесневые (нитчатые) грибы, такие как *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Zygomycetes* [30]. Грибы рода *Candida* являются одними из четырех наиболее часто выделяемых организмов при бактериемиях, приводящих к смерти широкий круг пациентов, находящихся в стационаре [28].

Учитывая неугасающий интерес к методам раннего определения ИГИ, как в описаниях клинических случаев, так и в обзорных статьях, постоянно появляется информация о повышении уровня BDG в крови пациентов с кандидозом и аспергиллезом. Многократно показано, что BDG можно также обнаружить при инфекциях, вызванных *Fusarium sp.*, *Acremonium sp.*, *Trichosporon sp.*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Histoplasma capsulatum*, *Scedosporium prolificans*, при феогифомикозах (таких как *Acremonium*, *Phaeoacremonium* и *Fonsecaea*) у больных с инвазивным дерматофитозом, а также при фунгемии, вызванной *Blastoschizomyces capitatus* [15, 21, 22]. Стоит также отметить повышение уровня циркулирующего BDG в присутствии *Pneumocystis jiroveci* [15]. Опубликованные данные свидетельствуют о том, что BDG редко выявляется при криптококкозе, зигомикозе, а также неинвазивном кандидозе (в отсутствие системного заболевания) [15, 18, 23].

Существуют ситуации, при которых BDG бывает повышен в отсутствие ИГИ. Исторически, впервые ложноположительные результаты были получены у пациентов, находящихся на гемодиализе. Позже оказалось, что это правомерно лишь для той группы больных, которой гемодиализ проводится с использованием целлюлозных мембран (включая мембраны из синтетически модифицированной целлюлозы: «Купрофан», «Диацилл», «Влацефан»). Это не относится к полностью синтетическим мембранам (полисульфоновым, полиамидным и поливинилалкогольным) и связано с тем, что целлюлозосодержащие материалы непосредственно имеют в себе BDG [9, 15, 18].

BDG на значимом уровне может определяться у пациентов, получающих внутривенные иммуноглобулины, альбумин или другие компоненты крови, которые производят промышленным путем. В этом случае BDG высвобождается из целлюлозных фильтров, которые используют в процессе производства. Это утверждение не универсально: не все предприятия используют подобные материалы [13, 15].

По тем же причинам, образцы крови, подлежащие тестированию на циркулирующий BDG (от момента забора до момента окончания теста), не должны контактировать с медицинской марлей. Y. Kimura et al. [12] было доказано, что использование марлевых тампонов при полостных операциях также повышает уровень BDG, определяемый позже в крови. Заметив этот феномен клинически, Y. Kimura et al. затем подтвердили его в опыте с внутрибрюшинным введением мышам физиологического раствора, контактировавшего с марлей. J. Mohr et al. в своей работе [19] показали достоверное повышение BDG у пациентов в первые трое суток после полостных операций, также связав это с интраоперационным использованием марлевых тампонов.

Из антибактериальных препаратов в повышении BDG *in vivo* был замечен внутривенный амоксициллина клавуланат [16]. Это утверждение сохраняет свою актуальность при применении всех антибиотиков, источником получения которых являются низшие грибы. Хорошо известно, например, что уровень галактоманнана повышается в крови пациентов, получающих пиперациллина-тазобактам. Присутствие полисахарида в этом случае, скорее всего, объясняется непосредственным попаданием галактоманнана в антибиотик в процессе производства (а не присутствием спор грибов в лекарственном препарате) [26].

M. Marty et al. протестировали 44 антибактериальных препарата, доступных для применения во внутривенной форме, на наличие BDG (использовался тест Glucatell). Семь из них: колистин, эртапенем, цефазолин, триметоприм-сульфаметоксазол, цефотаксим, цефепим и ампициллина сульбактам показали присутствие BDG в концентрированном препарате в заводском флаконе.

При исследовании колистина, эртапенема, цефотаксима и цефепима в разведениях, применяемых для внутривенного введения, BDG определялся на уровне выше 80 пг/мл (т. е., согласно указаниям производителя теста, выше пороговых значений). Однако при разведении до концентраций, в которых эти препараты работают в плазме, наличие BDG зафиксировано не было [16].

Исследователи также отметили присутствие высоких концентраций BDG во внутривенном амоксициллина клавуланате и сообщили (ссылаясь на M.A. Mennik-Kersten) о получении ложноположительных результатов теста на определение BDG после назначения этого антибиотика. Логично будет предположить, что уровень

циркулирующего BDG может повышаться при применении противоопухолевых полисахаридов (лентинан, шизофиллан, полисахарид К), получаемых из различного рода грибов. Но убедительных доказательств этого пока нет. J.W. Pickering et al. сообщили о случае ложноположительного результата определения BDG у больного с бактериемией стрептококковой этиологии (*S. mitis*) [26]; M.A. Mennik-Kersten et al. описали повышение маркера в присутствии *Pseudomonas aeruginosa* [17].

Что касается динамического наблюдения, то стоит отметить, что клиренс BDG *in vivo* изучен недостаточно. Предполагается, что он зависит в основном от клубочковой фильтрации BG низкой молекулярной массы, в то время как молекулы большего размера задерживаются в печени и разрушаются купферовскими клетками. F.M. Marty и S. Коо описали несколько случаев повышенного уровня BDG у больных с доказанной ИГИ на протяжении нескольких месяцев и/или даже лет после успешной противогрибковой терапии. Эти пациенты страдали хронической печеночной недостаточностью на фоне муковисцидоза или имели хроническую печеночную реакцию «трансплантат против хозяина» [15]. Две группы авторов независимо друг от друга предприняли попытки выявить закономерности и сформулировать рекомендации по определению уровней BDG в плазме пациентов детского возраста.

V. Smith et al. с помощью теста Fungitell определяли уровень BDG у 120 детей (медиана возраста — 9,2 года), не относящихся к группам риска по возникновению ИГИ (не в состоянии иммуносупрессии, без известных очагов инфекции, без центрального венозного доступа, без недавнего хирургического лечения в анамнезе). Существенных различий по возрасту и полу не было. Медиана уровня циркулирующего BDG составила 68 (± 128) пг/мл. В 78 % случаев уровень BDG был < 60 пг/мл, у 7 % — в пределах 60–79 пг/мл. Что касается оставшихся 15 %, то у них BDG был ≥ 80 пг/мл. Пять наиболее высоких значений: 348 пг/мл (12 лет, девочка), 374 пг/мл (2 года, девочка), 491 пг/мл (14 лет, мальчик), 754 пг/мл (13 лет, девочка), 974 пг/мл (14 лет, мальчик) [28]. Выведенная авторами медиана уровня циркулирующего BDG у обследованных детей (68 пг/мл) оказалась выше, чем в мультицентровом исследовании уровней у здоровых взрослых, проведенном L. Ostrosky-Zeichner et al. (48 пг/мл) [23, 28], и выше, чем в исследовании Z. Odabasi, в котором у 30 здоровых взрослых средняя концентрация BDG составила 17+/-34 пг/мл, лишь с двумя случаями > 60 пг/мл (63 и 86 пг/мл) [22].

A. Mularoni et al., также используя тест Fungitell, описали 4 случая повышения BDG у детей (2 новорожденных с низкой массой тела — 12 и 20 дней жизни, 11-летняя реципиент аллогенной ТГСК, 14-летний мальчик с хронической реакцией «трансплантат против хозяина»), доказанных культурально и/или микроскопически. Согласно их данным, у всех пациентов BDG в плазме определялся на уровне > 523 пг/мл [20],

хотя выборка была мала и включала разнородные случаи, а также, несмотря на отсутствие группы контроля, полученная информация позволила авторам предположить вероятность более резкого повышения уровня BDG у детей и высказаться о необходимости дальнейших исследований.

Разумно предположить, что причины ложноположительных результатов у детей соответствуют таковым у взрослых. Однако специфических достоверных исследований по этому вопросу до настоящего времени не проводилось.

Лекарственный мониторинг — один из потенциальных способов использования теста на BDG [26]. Первыми данную возможность проверили С. Pazos et al. [24]. На примере 5 пациентов в состоянии нейтропении с доказанной ИГИ, получавших каспофунгин и/или амфотерицин В, авторы показали быстрое снижение уровня BDG ко 2-й неделе терапии и дальнейшее снижение ниже порогового — к 4-й неделе. У пациентов, не ответивших на терапию, напротив, уровень BDG продолжал повышаться. Быстрое снижение в плазме циркулирующего BDG на фоне лечения у пациента с пневмоцистной пневмонией отметили N. Kavagishi et al. [10]. Однако этих наблюдений недостаточно для формирования рекомендаций.

Заключение

Незвизрая на высокое отрицательное доказательное значение, чувствительность теста остается низкой, а отрицательный результат не позволяет с уверенностью исключить наличие ИГИ. Данные определения уровня циркулирующего BDG могут быть интерпретированы только в составе общей картины клинического течения заболевания в сочетании с данными классических клинических, лабораторных и радиологических методов.

Это согласуется с рекомендациями относительно использования теста определения циркулирующего BDG для диагностики ИГИ у гематологических пациентов высокого риска, озвученными на 3-ей Европейской конференции по инфекциям при лейкемии (ЕСIL-3) [14]: на основании критериев, принятых Американским обществом инфекционных болезней (IDSA) (таблица), данные, позволяющие рекомендовать тест, обладают умеренной доказательностью (B(II)).

По результатам метаанализа, проведенного F. Lamothe et al. [13], выяснилось, что лучшего диагностического значения и большей однородности теста можно достичь при использовании двух последовательных определений BDG. Но четких указаний на этот счет не сформулировано.

Ни один метаанализ не был основан на данных применения BDG у больных детского возраста.

Определение BDG при подозрении на ИГИ, вызванную не *Mucor*, *Blastomyces dermatitidis*, *Rhizopus* или *Cryptococcus sp.*, может иметь диагностическую ценность, однако в настоящее время в научном сооб-

Критерии оценки рекомендаций (на основании критериев, принятых Американским обществом инфекционных болезней (IDSA))

Сила рекомендации	Качество данных
(А) Высокая достоверность данных, подтверждающих рекомендации к использованию	(I) Данные получены из более чем одного, должным образом рандомизированного, контролируемого исследования
(В) Умеренная достоверность данных, подтверждающих рекомендации к использованию	(II) Данные получены из более чем одного хорошо организованного клинического исследования без рандомизации; из когортного или «случай-контроль» аналитического исследования (предпочтительно из более чем одного центра); из многих исследований серии случаев; или данные, полученные от драматического исхода неконтролируемого эксперимента
(С) Слабая достоверность данных, подтверждающих рекомендации к использованию	(III) Данные основаны на мнении экспертов, клиническом опыте, сообщениях экспертных комитетов

шестве нет единого мнения относительно критериев оценки результатов теста. Проведение дальнейших исследований необходимо для возможности формулирования рекомендаций [18, 22, 30].

При наличии надежных критериев оценки результатов определение циркулирующего BDG может быть актуально для врачей, имеющих дело с больными в состоянии нейтропении. Выполненный у иммунокомпromетированного пациента с фебрильной лихорадкой, сохраняющейся на фоне приема антибактериальных препаратов, тест смог бы помочь в принятии решений относительно тактики специфической противогрибковой терапии в более короткие сроки. Доступность и скорость выполнения влияют на клиническое значение теста. Своевременное изменение лечебной тактики возможно только при условии, что результаты теста будут доступны не позднее 24–48 ч с момента его отправки.

Что касается сравнения BDG с другими тестами для определения ИГИ, такими как маннан, галактоманнан и антимагманн, — некоторые авторы показали более низкую чувствительность метода при похожей специфичности [13]. При этом немногочисленные наблюдения применения BDG как в качестве монотеста, так и в комбинации с другими тестами на выявление ИГИ, не позволили авторам сделать конкретных заключений о преимуществах какой-либо тактики [5, 13].

В литературе практически отсутствуют данные относительно выявления BDG в ином биологическом материале, нежели кровь (например, бронхоальвеолярный лаваж, ликвор, биопсийный материал). Исследования в этом направлении представляются перспективными с точки зрения потенциального использования теста.

Подводя итог, можно заключить, что, несмотря на то, что определение циркулирующего (1→3)-BDG представляется многообещающим диагностическим тестом, в настоящее время рекомендовать его для рутинного использования у больных детского возраста с персистирующей фебрильной нейтропенией невозможно. В то время как стратегия назначения эмпирической противогрибковой терапии или изменение клинической тактики на основании данных компьютерной томографии вместе с определением галактоманнана успешно применяются в онкологии и гематологии, место анализа на BDG остается неопределенным.

Умеренная чувствительность и специфичность, недостаточность данных о критериях оценки у детей, временная задержка в получении результатов (при условии проведения анализа в референс-лаборатории) и стоимость делают этот тест менее удобным с точки зрения принятия своевременного решения относительно противогрибковой терапии у детей в состоянии фебрильной нейтропении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Масчан А.А., Клясова Г.А., Веселов А.В. Обзор рекомендаций Американского общества по инфекционным болезням по лечению аспергиллеза. *Клин микробиол и антимикроб химиотер* 2008;10(2):96–143.
2. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Самочатова Е.В. Сопроводительная терапия и контроль инфекций при гематологических и онкологических заболеваниях. М.: Медпрактика-М, 2006.
3. Boutati E.I., Anaissie E.J. Fusarium, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: ten years' experience at a cancer center and implications for management. *Blood* 1997;90:999–1008.
4. Girmenia C., Nucci M., Martino P. Clinical significance of *Aspergillus fungaemia* in patients with haematological malignancies and invasive aspergillosis. *Br J Hematol* 2001;114(1):93–8.
5. Hachem R.Y., Kontoyiannis D.P., Chemaly R.F. et al. Utility of galactomannan enzyme immunoassay and (11→3)-b-D-glucan in diagnosis of invasive fungal infections: low sensitivity for *Aspergillus fumigatus* infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol* 2009;47:129–33.
6. Hope W.W., Walsh T.J., Denning D.W. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2005;5:609–22.

7. Hossain M.A., Miyazaki T., Mitsutake K. Comparison between Wako-WB003 and Fungitec G tests for detection of (1-->3)- β -D-glucan in systemic mycosis. *J Clin Lab Anal* 1997;11:73-7.
8. Karageorgopoulos D.E., Vouloumanou E.K., Ntziora F. et al. β -d-Glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2011;52(6):750-77.
9. Kato A., Takita T., Furuhashi M. Elevation of blood (103)- β -D-glucan concentrations in hemodialysis patients. *Nephron* 2001;89:15-9.
10. Kawagishi N., Miyagi S., Satoh K. et al. Usefulness of beta-D glucan in diagnosing *Pneumocystis carinii* pneumonia and monitoring its treatment in a living-donor liver-transplant recipient. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007;14:308-11.
11. Kedzierska A., Kochan P., Pietrzyk A. et al. Current status of fungal cell wall components in the immunodiagnosics of invasive fungal infections in humans: Galactomannan, mannan and (1-3)- β -D-glucan antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26:755-66.
12. Kimura Y., Nakao A., Tamura H. et al. Clinical and experimental studies of the Limulus test after digestive surgery. *Surg Today* 1995;25:790-4.
13. Lamoth F., Cruciani M., Mengoli C. et al. Beta-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). *Clinical Infect Dis* 2012; 54(5):633-43.
14. Marchetti O., Lamoth F., Mikulska M. et al. ECIL recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic SCT recipients. *BMT* 2012;47:846-54.
15. Marty F.M., Koo S. Role of (1-->3)-beta-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol* 2009; 47(suppl 1):233-40.
16. Marty F.M., Lowry C.M., Lempitski S.J. et al. Reactivity of (1-->3)-beta-d-glucan assay with commonly used intravenous anti-microbials. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3450-3.
17. Mennik-Karsten M.A., Ruegebrink D., Verwei P.E. *Pseudomonas aeruginosa* as a cause of 1,3-beta-D-glucan assay reactivity. *Clin Infect Dis* 2008;46:1930-1.
18. Miyazaki T., Kohno S., Mitsutake K. et al. Plasma (1-->3)-beta-D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. *J Clin Microbiol* 1995;33:3115-8.
19. Mohr J., Paetznick V.L., Rodriguez J.R. et al. A prospective pilot survey of B-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) (Abstract M-168). 45th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 2005; Washington, DC.
20. Mularoni A., Furfaro E., Faraci M. et al. High levels of b-D-Glucan in immunocompromised children with proven invasive fungal disease. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17(5):882-3.
21. Obayashi T., Yoshida M., Mori T. et al. Plasma (1-->3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet* 1995;345:17-20.
22. Odabasi Z., Mattiuzzi G., Estey E. et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis* 2004;39:199-205.
23. Ostrosky-Zeichner L., Alexander B.D., Kett D.H. et al. Multicenter clinical evaluation of the (1-->3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis* 2005;41:654-9.
24. Pazos C., Pontón J., Del Palacio A. Contribution of (1-->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: A comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol* 2005;43:299-305.
25. Person A.K., Kontoyiannis D.P., Alexander B.D. Fungal infections in transplant and oncology patients. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:439-59.
26. Pickering J.W., Sant H.W., Bowles C.A. et al. Evaluation of a (1-->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2005;43:5957-62.
27. Segal B.H., Almyroudis N.G., Battiwala M. et al. Prevention and early treatment of invasive fungal infection in patients with cancer and neutropenia and in stem cell transplant recipients in the era of newer broad-spectrum antifungal agents and diagnostic adjuncts. *Clin Infect Dis* 2007;44:402-9.
28. Smith P.B., Benjamin D.K. Jr, Alexander B.D. et al. Quantification of 1,3-beta-d-glucan levels in children: preliminary data for diagnostic use of the beta-glucan assay in a pediatric setting. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14(7):924-5.
29. Verweij P.E., Figueroa J., Van Burik J. et al. Clinical applications of nonculture based methods for the diagnosis and management of opportunistic and endemic mycoses. *Med Mycol* 2000;38:161-71.
30. Wright W.F., Overman S.B., Ribes J.A. (1-3)- β -D-Glucan assay: a review of its laboratory and clinical application. *Lab Med* 2011;42(11):679-85.