

การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อราและโรคติดเชื้อ แอสเปอร์จิลลัส แบบลูกกลมในระยะแรก

■ กัญญา ปรีชาศุทธิ์*

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ

บทนำ

โรคติดเชื้อราแบบลูกกลม (Invasive fungal disease, IFD)

ปัจจุบันอัตราการติดเชื้อราแบบลูกกลมในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำเช่น ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัด ผู้ป่วยเอดส์ ผู้ป่วยที่มีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำเป็นเวลานานรวมทั้งจากการติดเชื้อในโรงพยาบาลพบมากขึ้น ยีสต์ที่พบว่าเป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อในกลุ่มผู้ป่วยดังกล่าว ได้แก่ *Candida* spp. และ *Cryptococcus* spp. สำหรับโมลด์ ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. เป็นต้น¹⁻⁴ สำหรับในประเทศไทยจากการศึกษาย้อนหลัง 10 ปี (ค.ศ.1997-2006) จากผลการตรวจชิ้นเนื้อหลังเสียชีวิตจำนวน 155 ตัวอย่าง ในผู้ป่วยที่ถูกวินิจฉัยว่า ติดเชื้อราแบบลูกกลมในโรงพยาบาลรามาริบัติ พบในผู้ป่วย hematopoietic malignant มากที่สุด (31%) เชื้อที่พบว่าเป็นสาเหตุคือ *Aspergillus* spp. และ *Candida* spp. ตำแหน่งที่พบการติดเชื้อมากที่สุดคือ ปอด (74.8%) ระบบทางเดินอาหาร (28.4%) และสมอง (26.5%) การตรวจวินิจฉัยที่บอกว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อราแบบลูกกลมก่อนเสียชีวิต (ante mortem diagnosis) คิดเป็น 63.9%⁵ ซึ่งแสดงถึงระยะการตรวจพบการติดเชื้อล่าช้า ไม่สามารถรักษาได้ทัน หรือตรวจไม่พบสาเหตุของการติดเชื้อ เนื่องจากโรคที่เป็นอยู่ก่อนการติดเชื้อทำให้ยากต่อการวินิจฉัย

เกณฑ์มาตรฐาน (Gold standard) จาก EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group) ในการตรวจยืนยันการติดเชื้อราแบบลูกกลมคือ การตรวจพบชิ้นส่วนของโมลด์หรือยีสต์ในสิ่งส่งตรวจโดยตรงหรือพบการเจริญของเชื้อราจากวิธีเพาะเลี้ยง⁶ เกณฑ์ดังกล่าวทำให้สิ่งส่งตรวจที่ได้ต้องมาจากอวัยวะหรือบริเวณที่มีการติดเชื้อ (invasive specimen) ซึ่งบางกรณีมีความเสี่ยงร่วมด้วยเช่น การเก็บชิ้นเนื้อจากไตหรือปอดและหากต้อง ยืนยันการติดเชื้อราจากวิธีเพาะเลี้ยงต้องใช้เวลาอย่างน้อย 3 วันหรืออาจนานกว่า 1-2 สัปดาห์ และวิธีการเพาะเลี้ยง เชื้อมีความไว (sensitivity) ต่ำอาจทำให้ตรวจไม่พบเชื้อก่อโรคได้ ดังนั้นการตรวจหาสาเหตุของการติดเชื้อทางอ้อมจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อราแบบลูกกลมในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยง เช่น การตรวจหาระดับ β -D-glucan หรือ galactomannan ที่เพิ่มขึ้นในสิ่งส่งตรวจเลือด⁶ ข้อดีของวิธีนี้คือ ใช้วินิจฉัยการติดเชื้อราแบบลูกกลมในผู้ป่วยก่อนที่จะแสดงอาการโดยใช้ร่วมกับผลตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นเพื่อป้องกันการติดเชื้อ ทราบผลการตรวจภายใน 3 ชั่วโมง และใช้สิ่งส่งตรวจเลือดเป็นหลัก

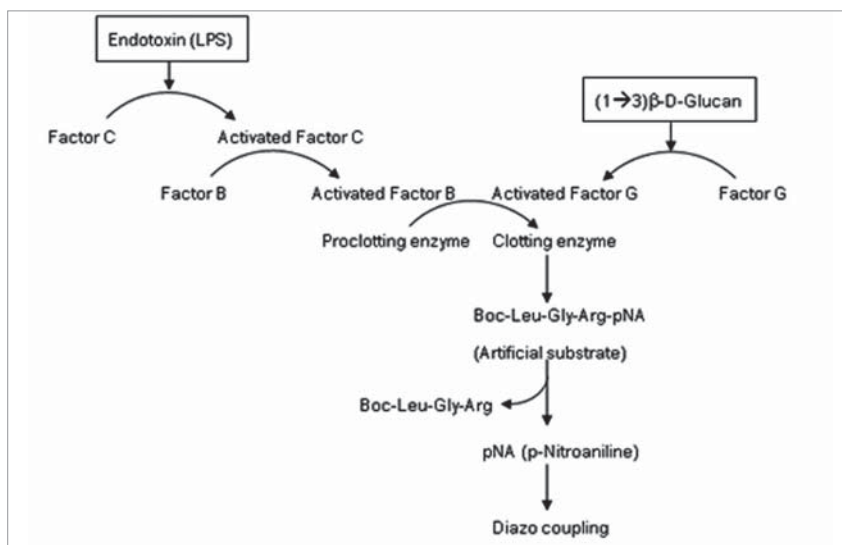
บทความนี้กล่าวถึงชุดตรวจที่ใช้ตรวจหาระดับ β -D-glucan และ galactomannan ในสิ่งส่งตรวจ ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในโรงพยาบาลของประเทศแถบยุโรป เพื่อช่วยการวินิจฉัยการติดเชื้อราแบบลูกกลมระยะเริ่มต้น ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยง

β-D-Glucan assay

β-D-Glucan (BDG) เป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์เชื้อยีสต์และโมลด์ที่สามารถตรวจพบในซีรัมยกเว้น *Zygomycetes* และ *Cryptococci* เป็นการตรวจทางอ้อมที่เป็นที่ยอมรับเพื่อช่วยวินิจฉัยโรคติดเชื้อราแบบลูกกลมในผู้ป่วยที่ผลการวินิจฉัยอยู่ในข่ายน่าจะเป็น (probably) หรืออาจเป็นไปได้ (possible) ตามเกณฑ์ของ EOSTC/MSG6 ชุดตรวจแรกถูกพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1992 โดย Obayashi T ปัจจุบันคือชุดตรวจ Fungitec G test MK (Seikagaku Corporation, Tokyo, Japan)^{7,8} ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1996 เช่นเดียวกับ Fungitell (Associates of Cape Cod, MA, USA) ซึ่งเป็นอีกหนึ่งชุดตรวจที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาในสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 2004^{9,10} นอกจากนี้ยังมีชุดตรวจที่พัฒนาและผลิตขึ้นในประเทศญี่ปุ่นอีก 2 ชุดตรวจ คือ β-glucan test Wako (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)¹¹ และ β-glucan test Maruha (Maruha Nichiro Foods, Tokyo, Japan)¹²

หลักการตรวจ

ใช้หลักการของ Limulus amoebocyte lysate (LAL) ซึ่งสกัดมาจากเลือด (amoebocyte) ของแมงดาทะเล (*Limulus polyphemus* หรือ *Tachypleus tridentatus*) โดยทั่วไป endotoxin (หรือ lipopolysacchride, LPS) และ BDG สามารถกระตุ้น coagulation cascade ของ LAL ได้ผ่านทาง Factor C และ Factor G และตรวจปฏิกิริยาการเกิดสีหรือความขุ่น แต่หลักการของสองชุดตรวจนี้มีการกำจัด Factor C ใน LAL ทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจำเพาะสำหรับ BDG เท่านั้นที่สามารถกระตุ้น Factor G (รูปที่ 1)⁸ และวัดปฏิกิริยาการเกิดสีใน 96-well plate



รูปที่ 1 Limulus amoebocyte lysate pathway^{8,10}

สิ่งส่งตรวจ

เป็นซีรัมหรือพลาสมา แนะนำให้เก็บสิ่งส่งตรวจอย่างน้อย 2 ครั้ง/สัปดาห์ขึ้นกับความถี่ในการติดเชื้อของผู้ป่วยซีรัมที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง ซีรัมขุ่น ซีรัมที่มีสีจากบิลิรูบินสามารถรบกวนผลการตรวจได้¹⁰

วิธีการตรวจ

ทำตามวิธีตรวจของแต่ละบริษัท สำหรับชุดตรวจ Fungitell จะทราบผลการตรวจภายใน 1 ชั่วโมง

การแปลผล

ค่าที่ได้แสดงเป็นหน่วยฟิโคกรัมต่อมิลลิลิตรของซีรัม (pg/ml) โดยคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งทำควบคู่กับการตรวจในชุดตรวจ Fungitell หากระดับ BDG < 60 pg/ml แปลผลเป็นลบ (negative result) หากค่าที่ตรวจได้ > 80 pg/ml แปลผลเป็นบวก (positive result) ซึ่งผลบวกนี้ควรใช้ประกอบกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ รวมทั้งอาการของผู้ป่วยร่วมด้วยในการบ่งชี้การติดเชื้อ สำหรับค่าที่ได้ระหว่าง 60-79 pg/ml เป็นค่าที่ไม่สามารถแปลผลได้ (indeterminate result) แนะนำให้ติดตามส่งซีรัมตรวจเพิ่มในแต่ละชุดตรวจจะมีค่า cut-off ต่างกันไป เช่น Fungitec G test MK มีค่า cut-off 20 pg/ml และ β-Glucan test Wako ให้ค่า cut-off อยู่ที่ 11 pg/ml

ข้อจำกัด

วิธีนี้ไม่สามารถบอกโรคติดเชื้อ Cryptococcosis ได้เนื่องจากเชื้อสร้างแคปซูลล้อมรอบทำให้ปริมาณของ BDG ที่พบในกระแสเลือดมีน้อยมากหรือตรวจไม่พบและองค์ประกอบส่วนใหญ่ของแคปซูลเป็น glucuronoxylomannan (GXM) และ

galactoxylomannan (GalXM) ซึ่งไม่สามารถกระตุ้น Factor G ได้รวมทั้งการติดเชื้อในกลุ่ม *Zygomycetes* เช่น *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.*, *Absidia spp.* เนื่องจากผนังเซลล์ของเชื้อในกลุ่มนี้มี BDG น้อย¹³ และผลการตรวจด้วยวิธีนี้ไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อก่อโรคได้

จากรายงานของ Yoshida K และคณะเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจหา BDG ที่ใช้ในประเทศญี่ปุ่นกับชุดตรวจ Fungitell โดยตรวจพลาสมา ของคนไข้จำนวน 121 ตัวอย่างที่เก็บไว้หลังจากตรวจหา BDG แล้ว ช่วงระหว่าง เม.ย.-มิ.ย. 2003 ใน Kawasaki Medical School Hospital

พบว่า Fungitell มีความไว (sensitivity) มากที่สุด รองลงมาคือ Fungitec G test MK ในขณะที่ชุดตรวจ Wako และ Maruha มีความจำเพาะ (specificity) สูงกว่าชุด ตรวจ Fungitell และ Fungitec G test MK14 ดังแสดงในตารางที่ 1 นอกจากนี้ยังพบว่า ผลบวกของการตรวจ BDG ในซีรัมพบ ได้ในผู้ติดเชื้อ Invasive aspergillosis, Candidemia และ จากการติดเชื้อ Pneumocystis jiroveci, Fusarium, Trichosporon, Acremonium และ Histoplasma capsulatum¹⁵ จากการศึกษาย้อนหลังโดย

รวม รวม ผลการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราแบบลูกกลม โดยใช้การตรวจ BDG จากงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในฐานข้อมูล PubMed, Scopus และ Cochrane จำนวน 16 งาน วิจัยที่อยู่ในเกณฑ์ในการรวบรวมครั้งนี้ ซึ่ง Karageorgopoulos DE และคณะ ให้ข้อสรุปว่า การตรวจ BDG มีความไว 76.8% ความจำเพาะ 85.3% และสามารถจำแนกกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อราแบบลูกกลมออกจากผู้ไม่ติดเชื้อได้¹⁶

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพชุดตรวจ BDG ทั้ง 4 ชุดตรวจ¹⁴

ชุดตรวจ	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value)	ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value)
Fungitell	83.3% (10/12)	92.6% (88/95)	58.8% (10/17)	97.8% (88/90)
Fungitec G-MK	75.0% (9/12)	91.6% (87/95)	52.9% (9/17)	96.7% (87/90)
β-Glucan Wako	41.7% (5/12)	98.9% (94/95)	83.3% (5/6)	93.1% (94/101)
β-Glucan Maruha	41.7% (5/12)	96.8% (92/95)	62.5% (5/8)	92.9% (92/99)

แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า การตรวจ BDG เพื่อวินิจฉัย Invasive aspergillosis ให้ผลบวกปลอมในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงที่มีการทำฟอกเลือดล้างไตโดยผ่านเซลล์โลสเมมเบรน ผู้ป่วยที่ได้รับ อิมมูโนกลอบูลิน อัลบูมิน หรือส่วนประกอบของเลือดที่ผ่านแผ่นกรองเซลล์โลสที่มี β-glucan และการได้รับยาปฏิชีวนะ amoxicillin-clavulanic acid ทางหลอดเลือดดำ¹⁷ ดังนั้นการผลการตรวจที่ได้จึงต้องคำนึงถึงปัจจัยดังกล่าวด้วย

การวินิจฉัยโรคติดเชื้อแอสเปอร์จิลลัสแบบลูกกลม ใช้หลักเกณฑ์เดียวกับการติดเชื้อราแบบลูกกลมตามเกณฑ์ของ EOSTC/MSG ซึ่งหากพบเชื้อจากสิ่งส่งตรวจโดยตรงจากการ ย้อมหรือจากการเพาะเชื้อ จัดเป็นผู้ป่วยที่ติดเชื้อแน่นอน (proven) ในกรณีนี้ผู้ป่วยจัดอยู่ในประเภทน่าจะติดเชื้อ (probable) หรืออาจเป็นไปได้ที่มีการติดเชื้อ (possible) ควรได้รับการวินิจฉัยทางอ้อมเพิ่มเติมเช่น การตรวจหา galactomannan หรือ β-D-glucan⁶

โรคติดเชื้อแอสเปอร์จิลลัสแบบลูกกลม

(Invasive aspergillosis, IA)

กลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อแอสเปอร์จิลลัสแบบลูกกลม (Invasive aspergillosis, IA) โดยทั่วไปได้แก่ ผู้ป่วยมะเร็งที่จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลลดลงต่ำลงเป็นเวลานาน ผู้ป่วยมะเร็งที่รับเคมีบำบัด ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกหรืออวัยวะ นอกจากนี้ ยังพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ตับไม่ทำงาน โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) เบาหวานและโรคเป็นกลุ่มเสี่ยงที่พบเพิ่มขึ้น^{18,19} การศึกษาโรคติดเชื้อแอสเปอร์จิลลัสแบบลูกกลมในประเทศไทยซึ่งเป็นการศึกษาย้อนหลังในช่วงปี ค.ศ. 2000-2005 จากประวัติผู้ป่วยในโรงพยาบาลรามาริบิตี จำนวน 94 ราย เป็นผู้ป่วย ลูคีเมียแบบเฉียบพลันมากที่สุด (30%) และมีความเสี่ยงในการติดเชื้อ เนื่องจากปริมาณเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลต่ำ (39%) เคมีบำบัด (34%) ได้รับคอร์ติโคสเตียรอยด์ (25%) อวัยวะที่พบการติดเชื้อ คือ ปอด (68%) ไชนัส (17%) และตา (8%) เชื้อที่เป็นสาเหตุหลักคือ Aspergillus fumigatus พบอัตราการเสียชีวิตถึง 47%²⁰

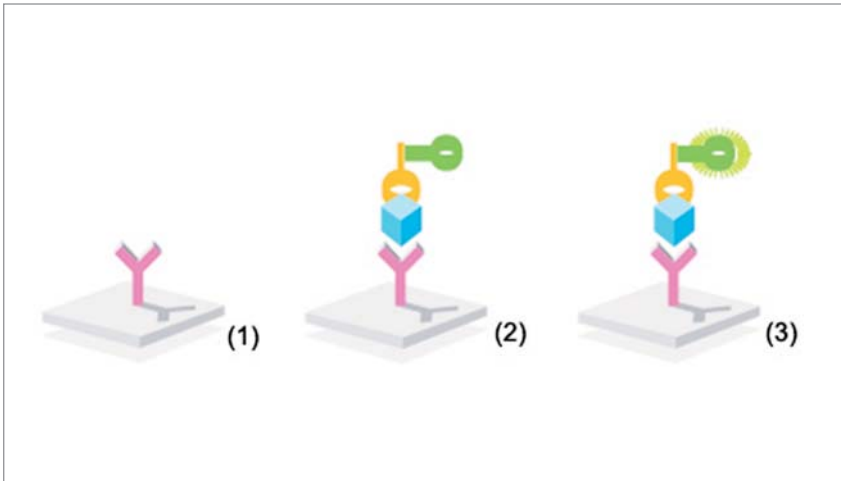
Galactomannan assay

Galactomannan (GM) จัดเป็น heat-stable heteropolysaccharide ที่พบในผนังเซลล์ของเชื้อ *Aspergillus* และ *Penicillium* ทุกสปีชีส์ มีหลายประเทศในทวีปยุโรปใช้การตรวจหา GM ในซีรัมมาเกือบ 10 ปี เพื่อช่วยวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อเนื่องจาก *Aspergillus* spp. โดยเฉพาะโรคติดเชื้อแอสเปอร์จิลลัสแบบลูกกลม²¹ เมื่อปี ค.ศ. 2007 มีรายงานการตรวจหา GM ในผู้ป่วยเอดส์ที่ติดเชื้อ *Penicillium marneffeii* ซึ่งพบว่าให้ผลบวกมากกว่า 70%²² ชุดตรวจที่ใช้ตรวจหา GM ในซีรัมคือ Platelia™ *Aspergillus* EIA (Bio-Rad Laboratory Inc.)²³

หลักการตรวจ

ในชุดตรวจ Platelia™ *Aspergillus* EIA ใช้หลักการ Sandwich enzyme immunosorbent assay (EIA) โดยไม่มีโมโนโคลนอลแอนติบอดี EB-A2 จากหนูซึ่งจำเพาะกับ β(1,5)-linked galactofuranoside side-chain ของ GM เป็นตัวจับกับ GM แอนติเจน

ที่พบในซีรัมซึ่งติดอยู่ใน microplate (รูปที่ 2 (1)) หากในซีรัมมี GM จะถูกจับไว้และอีกด้านถูกจับไว้ด้วยโมโนโคลนอล แอนติบอดีที่เชื่อมกับเอนไซม์ Horseradish peroxidase (HRP) (รูปที่ 2 (2)) หลังจากเติมสารตั้งต้นของเอนไซม์สามารถวัด ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นได้ (รูปที่ 2 (3))²³



รูปที่ 2 หลักการของ sandwich EIA²³

สิ่งส่งตรวจ

เป็นซีรัมและแนะนำให้ตรวจอย่างน้อย 2 ครั้งต่อสัปดาห์หรือขึ้น อยู่กับความเสี่ยงในการติดเชื้อของผู้ป่วยสิ่งส่งตรวจที่ใช้มาก เป็นอันดับรองลงมาคือ น้ำล้างปอด (bronchoalveolar lavage fluid, BAL fluid)²⁴ นอกจากนี้ ยังมีรายงานการใช้สิ่งส่งตรวจอื่นๆ เช่น น้ำเจาะไขสันหลัง ปัสสาวะและน้ำในช่องท้อง²⁵

วิธีตรวจ

ทำตามวิธีของชุดตรวจ สำหรับ *Platelia™ Aspergillus* GM ทราบผลการตรวจภายใน 3 ชั่วโมง

การแปลผล

ค่าที่ได้รายงานออกมาเป็น GM index ใช้ค่า cut-off ที่ GM index > 1.5 แต่จากหลายงานวิจัยพบว่าที่ค่า cut-off > 1.5 ซึ่งมีความจำเพาะสูงแต่ค่าความไวต่ำ ไม่สอดคล้องวัตถุประสงค์ในการตรวจที่ต้องการทราบผลการติดเชื้อให้เร็วที่สุดก่อนแสดงอาการ ดังนั้นปัจจุบันค่า cut-off ที่องค์การอาหารและยาของสหรัฐฯ รับรองอยู่ที่ 0.5 ซึ่งมีค่าความไวมากขึ้นแต่ลดความจำเพาะลงเล็กน้อย^{26,27} ซึ่งในงานวิจัยของ Marr KA และคณะ รายงานว่าผลการตรวจที่ใช้ cut-off > 0.5 ให้ค่าความไวและความจำเพาะประมาณ 80% และให้ผลบวกก่อนแสดงอาการประมาณ 1-2 สัปดาห์²⁷ ขณะที่ในประเทศแถบยุโรปใช้ค่า cut-off ที่ 0.721

ข้อจำกัด

การตรวจด้วยวิธีนี้ไม่สามารถบอกสปีชีส์ของเชื้อได้และมีรายงานว่า *Platelia™ Aspergillus* GM ให้ผลบวกปลอมในผู้ป่วยที่ได้รับยา amoxicillin-clavulanic acid, piperacillin-tazobactam^{28,29} และในกลุ่มผู้ป่วยเด็ก³⁰ สาเหตุของการเกิดผลบวกปลอมนี้กำลังอยู่ในการศึกษาวิจัย จากรายงานการใช้ *Platelia™ Aspergillus* GM ในประเทศไทยที่ใช้ตรวจหาโรค ติดเชื้อ แอสเพอร์จิซิลลัสแบบลูกกลมในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของการสร้างเม็ดเลือด เช่น acute myeloid leukemia (AML), acute lymphocyte leukemia (ALL), aplastic anemia (AA), chronic myeloid leukemia (CML) และอยู่ในเกณฑ์ปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลล์ต่ำ ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างปี ค.ศ. 2002-2004 จำนวน 44 ราย พบว่าที่ค่า cut-off > 0.75 มีความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิกของผู้ป่วย

และมีค่าความไว 94.1% และความจำเพาะ 78.8% และสามารถติดตามผลการรักษาในผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา ค่า GM index ลดลงแต่ในกรณีที่ผู้ป่วยเสียชีวิตค่า GM index ยังคงสูงอยู่³¹

บทวิจารณ์/ข้อสังเกต

การตรวจหาการติดเชื้อราแบบลูกกลมด้วยวิธีทางอ้อมนี้ยังไม่จัดเป็นวิธีตรวจทั่วไปในห้องปฏิบัติการในแถบประเทศกำลังพัฒนาและในประเทศไทย ส่วนมากยังใช้วิธีมาตรฐาน คือ การเพาะเชื้อและตรวจหาชิ้นส่วนของเชื้อราจากการย้อมสิ่งส่งตรวจ อาจด้วยสาเหตุของจำนวนผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงมีน้อย รวมทั้งความต้องการของแพทย์ในการใช้ผลตรวจเพื่อวินิจฉัย การติดเชื้อยังไม่เป็นที่แพร่หลาย แต่เมื่อพิจารณาถึงประโยชน์จากการใช้ชุดตรวจดังกล่าวที่ทำให้ทราบผลการติดเชื้อได้เร็วขึ้นและยังสามารถใช้ติดตามผลการรักษา รวมทั้งอาจนำมาปรับใช้กับผู้ติดเชื้อเอช ไอ วี ที่มีความเสี่ยงในการติดเชื้อ *P. marneffei* และเชื้อ *Candida* spp. ในกระแสเลือดและโรคติดเชื้ออุบัติใหม่ (emerging disease) ได้แก่ sino-orbital หรือ cerebral aspergillosis และ *Aspergillus* endophthalmitis ซึ่งมีสาเหตุเนื่องจากเชื้อ *Aspergillus* spp. และพบเพิ่มขึ้นในแถบทวีปเอเชีย แต่พบได้น้อยในแถบประเทศทางตะวันตก¹⁹ ก็จะช่วยให้การวินิจฉัยทำได้เร็วขึ้นและสามารถปรับใช้ยาปฏิชีวนะได้ถูกต้องและลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยลงได้

เอกสารอ้างอิง

1. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ, et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis*. 2010; 50(8): 1091-100.
2. Neofytos D, Fishman JA, Horn D, Anaissie E, Chang CH, Olyaei A, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2010; 12(3): 220-9.
3. Perlroth J, Choi B, Spellberg B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol*. 2007; 45(4): 321-46.
4. Enoch DA, Ludlam HA, Brown NM. Invasive fungal infections: a review of epidemiology and management options. *J Med Microbiol*. 2006; 55(Pt 7): 809-18.
5. Larbcharoensub N, Srisuma S, Ngernprasertsri T, Aroonroch R, Chongtrakool P, Santanirand P, et al. Invasive fungal infection in Ramathibodi Hospital: a ten-year autopsy review. *J Med Assoc Thai*. 2007; 90(12): 2630-7.
6. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(12): 1813-21.
7. Obayashi T, Yoshida M, Tamura H, Aketagawa J, Tanaka S, Kawai T. Determination of plasma (1-->3)-beta-D-glucan: a new diagnostic aid to deep mycosis. *J Med Vet Mycol*. 1992; 30(4): 275-80.
8. Obayashi T, Yoshida M, Mori T, Goto H, Yasuoka A, Iwasaki H, et al. Plasma (1-->3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet*. 1995; 345(8941): 17-20.
9. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, 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(2): 199-205.
10. Fungitell Assay.; Available from: <http://www.acciusa.com/clinical/fungitell/index.html>.
11. Mori T, Ikemoto H, Matsumura M, Yoshida M, Inada K, Endo S, et al. Evaluation of plasma (1-->3)-beta-D-glucan measurement by the kinetic turbidimetric Limulus test, for the clinical diagnosis of mycotic infections. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997; 35(7): 553-60.
12. Mahura Nichiro Inc.; Available from: <http://www.food.maruha-nichiro.co.jp/english/ffcd/product/pro01200.html>
13. Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, 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(5): 654-9.
14. Yoshida K, Shoji H, Takuma T, Niki Y. Clinical viability of Fungitell, a new (1-->3)-beta-D-glucan measurement kit, for diagnosis of invasive fungal infection, and comparison with other kits available in Japan. *J Infect Chemother*. 2011.
15. Yoshida M, Obayashi T, Iwama A, Ito M, Tsunoda S, Suzuki T, et al. Detection of plasma (1 --> 3)-beta-D-glucan in patients with *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces* and *Acremonium* fungaemias. *J Med Vet Mycol*. 1997; 35(5): 371-4.
16. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2011; 52(6): 750-70.

17. Marty FM, Koo S. Role of (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol.* 2009;47 Suppl 1: S233-40.
18. Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 1998 Apr; 26(4): 781-803.
19. Chakrabarti A, Chatterjee SS, Das A, Shivaprakash MR. Invasive aspergillosis in developing countries. *Med Mycol.* 2010; 49 Suppl 1: S35-47.
20. Kiertiburanakul S, Thibbadee C, Santanirand P. Invasive aspergillosis in a tertiary-care hospital in Thailand. *J Med Assoc Thai.* 2007; 90(5): 895-902.
21. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5(10): 609-22.
22. Huang YT, Hung CC, Liao CH, Sun HY, Chang SC, Chen YC. Detection of circulating galactomannan in serum samples for diagnosis of *Penicillium marneffeii* infection and cryptococcosis among patients infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(9): 2858-62.
23. Platelia Aspergillus EIA.; Available from: <http://www.bio-rad.com/diagnostics>.
24. Husain S, Clancy CJ, Nguyen MH, Swartzentruber S, Leather H, LeMonte AM, et al. Performance Characteristics of the Platelia Aspergillus Enzyme Immunoassay for Detection of Aspergillus Galactomannan Antigen in Bronchoalveolar Lavage Fluid. *Clin Vaccine Immunol.* 2008; 15: 1760-63.
25. Klont RR, Mennink-Kersten MA, Verweij PE. Utility of Aspergillus antigen detection in specimens other than serum specimens. *Clin Infect Dis.* 2004; 39(10): 1467-74.
26. Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4(6): 349-57.
27. Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis.* 2004; 190(3): 641-9.
28. Zandijk E, Mewis A, Magerman K, Cartuyvels R. False-positive results by the platelia Aspergillus galactomannan antigen test for patients treated with amoxicillin-clavulanate. *Clin Vaccine Immunol.* 2008; 15(7): 1132-3.
29. Viscoli C, Machetti M, Cappellano P, Bucci B, Bruzzi P, Van Lint MT, et al. False-positive galactomannan platelia Aspergillus test results for patients receiving piperacillin-tazobactam. *Clin Infect Dis.* 2004; 38(6): 913-6.
30. Steinbach WJ, Addison RM, McLaughlin L, Gerrald Q, Martin PL, Driscoll T, et al. Prospective Aspergillus galactomannan antigen testing in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *Pediatr Infect Dis J.* 2007; 26(7): 558-64.
31. Suankratay C, Kanitcharaskul P, Arunyongmongkol K. Galactomannan antigenemia for the diagnosis of invasive aspergillosis in neutropenic patients with hematological disorders. *J Med Assoc Thai.* 2006; 89(11): 1851-8.