

CAT Critically Appraised Topic

Systematische β -D-glucan bepaling bij *Pneumocystis jirovecii*-PCR: een klinische meerwaarde?

Author: Bénédicte Vanhove

Supervisor: Dr. Michael Boudewijns

Search/methodology verified by: Dr. Michaël Boudewijns

Date: 01/09/2026

CLINICAL BOTTOM LINE

PJP-PCR op BAL is zeer sensitief (gepoolde sensitiviteit 98,7% (Brown et al., 2024)) en sluit de diagnose bij een negatief resultaat betrouwbaar uit. Het knelpunt situeert zich bij de intermediaire of zwak-positieve PCR, waar geen gevalideerde afkapwaarde(n) bestaat om kolonisatie van actieve infectie te onderscheiden.

Commerciële BDG-assays (Fungitell, Wako) zijn niet onderling uitwisselbaar: ze verschillen in detectieprincipe, cutoff en prestatieprofiel (Fungitell doorgaans sensitiever, Wako doorgaans specifieker). Als geïsoleerde test blijft BDG's specificiteit voor PJP matig (~75-80% (Prosty et al., 2025, Del Corpo et al., 2020)) en wordt ze mogelijk ondermijnd door talrijke niet-fungale bronnen van vals-positiviteit (o.a. IVIG, chirurgisch gaas, nierinsufficiëntie, darmbarrièreschade, bacteriëmie).

Voor de combinatie van BDG met een reeds beschikbare PCR-uitslag ontbreekt systematische review/meta-analyse-niveau evidentie. Recente cohortstudies (Morjaria et al., 2019, Huang et al., 2023, Li et al., 2024, Falcó-Roget et al., 2026) suggereren dat de toevoeging van BDG aan een zwak positieve/intermediaire PCR de specificiteit en PPV aanzienlijk verbetert.

Aanbeveling voor AZ Groeninge: geen routinematige BDG-bepaling bij elke PJP-PCR-aanvraag, maar gericht gebruik in vier situaties: (1) weinig meerwaarde bij sterk positieve PCR met overtuigend klinisch beeld; (2) bruikbaar bij negatieve PCR met hoge klinische verdenking (staakbeleid indien negatieve BDG); (3) systematische bepaling aanbevolen bij intermediaire/zwak-positieve PCR ('grijze zone'); (4) als minimaal invasief alternatief wanneer BAL niet haalbaar is. Gezien het gebruik van de Wako-assay (via verzendtest naar het UZ Leuven) wordt voorlopig de fabrikant- of UZ Leuven-cutoff (11 pg/mL, resp. $\leq 7,0$ pg/mL) aangehouden, bij gebrek aan eigen Wako-specifieke combinatiedata. Evidentieniveau: beperkt (retrospectieve cohorten, geen RCT's, geen meta-analyse voor de combinatievraag).

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Pneumocystis jirovecii-pneumonie

Pneumocystis jirovecii-pneumonie (PJP) is een ernstige opportunistische, fungale infectie die enerzijds human immunodeficiency virus (HIV)-patiënten en anderzijds immuungecompromitteerde patiënten, waaronder patiënten met hematologische maligniteiten, solide orgaantransplantaties, auto-immuunziekten en patiënten onder immunosuppressieve therapieën (bijvoorbeeld lange-termijn corticosteroïden) treft (Rhoads et al., 2024, McMullan et al., 2024). Door de toenemende toepassing van immuunmodulerende en immunosuppressieve behandelingen neemt het aantal PJP-gevallen binnen deze tweede patiëntengroep toe (Rhoads et al., 2024). PJP gaat gepaard met

een aanzienlijke mortaliteit, ook bij deze niet-HIV-geassocieerde infecties (29% tot 60%), waardoor een snelle diagnose en tijdige behandeling essentieel zijn (Jaramillo Cartagena et al., 2025).

Klinische presentatie en historische diagnostiek

Patiënten presenteren zich doorgaans met aspecifieke symptomen zoals progressieve dyspneu, niet-productieve hoest, koorts en diffuse, bilaterale matglasafwijkingen op Röntgen (RX) thorax of computed tomography (CT) (Rhoads et al., 2024). Bij HIV-negatieve patiënten ziet men echter vaker consoliderende afwijkingen, die zich bovendien sneller ontwikkelen (Rhoads et al., 2024). Omdat deze kenmerken niet specifiek zijn voor PJP, is microbiologische bevestiging noodzakelijk. Microbiologische PJP-diagnostiek is echter inherent moeilijk, voornamelijk doordat de verwekker niet groeit op routine mycologische media (McMullan et al., 2024). Vroeger berustte de diagnose op de gouden standaard combinatie van kliniek, beeldvorming en microscopie van respiratoire stalen, idealiter verkregen via bronchoalveolaire lavage (BAL) (Rhoads et al., 2024).

Moleculaire diagnostiek PJP

Deze klassieke workflow kampte echter met een lage sensitiviteit (voornamelijk bij non-HIV populaties met een lagere fungal load in vergelijking met HIV-populaties) en anderzijds met een hoge arbeidslast waardoor op heden hoofdzakelijk moleculaire diagnostiek wordt ingezet, met name polymerase chain reaction (PCR) op stalen van de lage luchtwegen (McMullan et al., 2024, Calvet et al., 2024). Volgens de literatuur blijft BAL het staaltje van voorkeur, aangezien het representatief en kwalitatief hoogwaardig materiaal uit de alveoli en kleine luchtwegen bevat, zonder de noodzaak van een invasieve longbiopsie (McMullan et al., 2024, Jaramillo Cartagena et al., 2025).

Ook binnen het klinisch laboratorium van het AZ Groeninge in Kortrijk wordt de aanwezigheid van *P. jirovecii* opgespoord aan de hand van een moleculaire test op BAL-vocht, met de Pneumocystis ELITE MGB-kit (ELITech Group S.p.a, Italië), een CE-In Vitro Diagnostic (CE-IVD)-gelabelde real-time PCR-assay (rtPCR) op het ELITE InGenius®-platform. De assay meet de aanwezigheid van *P. jirovecii* DNA door middel van het mitochondrial Large SubUnit van het rRNA-gen (mtLSU-gen) als genetisch target (Giardina et al., 2025). Doordat dit specifieke gen op het mitochondriale genoom van de schimmel in grote aantallen per cel voorkomt, is de test bijzonder gevoelig (Giardina et al., 2025). De uitslag van de test wordt zowel kwalitatief als kwantitatief (uitgedrukt in log₁₀ copies/mL) gerapporteerd, al onderscheidt de bijsluiter geen antwoordcategorieën in functie van de fungal load. Hoewel sputum volgens de bijsluiter een gevalideerd staaltje is, wordt dit binnen onze huidige workflow niet aanvaard.

Een recente meta-analyse van Brown et al., (55 studies, 11434 PCR-analyses op respiratoire stalen van 7 835 immuungecompromitteerde patiënten), bevestigde de uitstekende diagnostische performantie van kwantitatieve PCR (qPCR) (Brown et al., 2024). Voor BAL werd een gepoolde sensitiviteit van 98,7% (95% betrouwbaarheidsinterval (BI): 96,8–99,5%) en een specificiteit van 89,3% (95%-BI: 84,4–92,7%) gerapporteerd (Brown et al., 2024). De lage negatieve likelihood ratio (LR) 0,014 wijst erop dat een negatieve PCR op BAL een PJP dus met hoge betrouwbaarheid kan uitsluiten (Brown et al., 2024).

Ondanks de uitstekende diagnostische sensitiviteit blijft het onderscheid tussen kolonisatie en actieve infectie een knelpunt (Rhoads et al., 2024, McMullan et al., 2024, Brown et al., 2024). De klinische interpretatie van (zwak) positieve *P. jirovecii*-PCR uitslagen bij immuungecompromitteerden blijft daarom uitdagend (Calvet et al., 2024). Het bepalen van de fungal load via qPCR kan hierbij helpen differentiëren, waarbij hogere ladingen geassocieerd zijn met een verhoogde kans op actieve ziekte (Jaramillo Cartagena et al., 2025).

Om de interpretatie van qPCR-resultaten verder te ondersteunen, zijn voor verschillende assays kwantitatieve afkapwaarden voorgesteld die een onderscheid tussen kolonisatie en actieve infectie beogen. De toepasbaarheid van dergelijke drempelwaarden blijft echter beperkt. Er bestaat momenteel geen gestandaardiseerde aanpak voor de moleculaire detectie van *P. jirovecii*. Assays verschillen onder meer in het gebruikte genetische target, de preanalytische en analytische staalverwerking, de DNA-extractie- en amplificatiemethode en de wijze waarop de resultaten worden gekwantificeerd (Brown et al., 2024, Jaramillo Cartagena et al., 2025). Deze methodologische verschillen beïnvloeden de diagnostische performantie van de verschillende testen en verklaren mede de aanzienlijke variatie in de gerapporteerde afkapwaarden tussen studies (Brown et al., 2024; Jaramillo Cartagena et al., 2025). Bijgevolg zijn de voorgestelde cut-offs assay-specifiek en niet onderling uitwisselbaar. Tot op heden is voor geen enkel staaltje of patiëntenpopulatie een universeel gevalideerde klinische afkapwaarde beschikbaar,

waardoor qPCR-resultaten steeds moeten worden geïnterpreteerd in samenhang met de klinische presentatie, radiologische bevindingen en andere laboratoriumresultaten (Brown et al., 2024; Jaramillo Cartagena et al., 2025).

Een bijkomende illustratie van deze methodologische heterogeniteit komt van een interlaboratoriumevaluatie van het Fungal PCR Initiative van de International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM)-werkgroep, die tussen verschillende PCR-platformen CT-verschillen tot 12,4 cycli vaststelde, overeenkomend met een ongeveer 10000-voudig verschil in gemeten fungal load voor eenzelfde staal (Gits-Muselli et al., 2020). Deze variabiliteit was vooral toe te schrijven aan de keuze van het genetische target (multicopy mtLSU versus single-copy mitochondrial Small SubUnit (mtSSU)) en het type moleculaire methode (DNA-gebaseerde PCR versus whole nucleic acid-gebaseerde reverse-transcriptase PCR) (Gits-Muselli et al., 2020).

Multicopy targets zoals mtLSU leveren dankzij hun hoge kopie-aantal per cel een sterker signaal op, met een hogere sensitiviteit en lagere CT-waarden tot gevolg. Net daardoor verloopt de relatie tussen signaalkracht en werkelijke *P. jirovecii*-belasting echter minder lineair en proportioneel, wat de kwantitatieve interpretatie en het bepalen van betrouwbare afkapwaarden bemoeilijkt. Het single-copy target mtSSU-gen weerspiegelt de effectieve fungal load veel nauwkeuriger, wat verklaart waarom de werkgroep een gevoelige kwantitatieve mtSSU-gerichte reverse-transcriptase-PCR naar voor schuift, aangezien deze combinatie de beste negatief voorspellende waarde oplevert (Gits-Muselli et al., 2020).

Opvallend, ondanks deze aanbeveling voldoet momenteel geen enkele commerciële CE-IVD-assay aan dit profiel: het aanbod van gecommercialiseerde, IVD-gelabelde rtPCR-assays voor *P. jirovecii* blijft beperkt; veel laboratoria vertrouwen nog op in-huis assays; en slechts een klein aandeel van zowel de commerciële als de in-huis assays biedt een werkelijk kwantitatieve uitlezing (Pham et al., 2024). Ook de door ons gebruikte ELITe MGB-kit, die het mtLSU-gen via DNA-gebaseerde rtPCR detecteert, voldoet dus niet aan dit ideaalprofiel.

Deze internationale variabiliteit in assays en afkapwaarden verklaart mede waarom PCR binnen de European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium (EORTC/MSGERC)-consensusdefinities niet aanvaard wordt als mycologisch bewijs voor een 'proven' PJP-diagnose, en uitsluitend directe microscopische aantoning van *P. jirovecii* hiervoor in aanmerking komt (Lagrou et al., 2021). PCR wordt daarentegen wel erkend als voldoende bewijs voor de minder strikte categorie 'probable' PJP-ziekte, al dan niet in combinatie met serum-BDG-detectie (Lagrou et al., 2021).

(1,3)- β -D-glucan

Gezien het invasieve karakter van een BAL staal en de imperfecte specificiteit van *P. jirovecii*-PCR, wordt (1,3)- β -D-glucan (BDG) steeds vaker als een aanvullende, minimaal invasieve diagnostische biomarker gebruikt (Del Corpo et al., 2020, Lagrou et al., 2021). BDG vormt het meest abundante polysacharide bestanddeel van de *P. jirovecii* celwand en komt bij actieve schimmelinfecties vrij in de bloedbaan, waardoor gestegen serumconcentraties kunnen bijdragen aan de diagnose. (Del Corpo et al., 2020). Deze panfungale marker wordt echter teruggevonden in het serum bij vele klinisch significante schimmelinfecties zoals invasieve *Candida* infecties en invasieve Aspergillose en kan daarom op zichzelf de diagnose van PJP niet bevestigen (Rhoads et al., 2024). Bovendien is de test niet universeel gevoelig: sommige fungale verwekkers produceren te weinig (bv. *Cryptococcus* spp.) of zelfs helemaal geen BDG (bv. Mucorales zoals *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* en *Rhizomucor*), waardoor ze met deze analyse niet worden gedetecteerd.

Calvet et al. benadrukte dat zowel de PCR- als de BDG-resultaten steeds geïnterpreteerd moeten worden binnen de klinische context en rekening houdend met de pre-test probability van PJP (Calvet et al., 2024). Ondanks de goede intrinsieke performantie kunnen geen van beide kwantitatieve testen afzonderlijk met zekerheid een actieve infectie van kolonisatie onderscheiden (Calvet et al., 2024). Bij immuungecompromitteerden met een positieve *P. jirovecii*-PCR ontstaat daarom regelmatig een diagnostisch dilemma (Calvet et al., 2024). Vanuit deze klinische onzekerheid rijst de vraag of een systematische bijbepaling van serum BDG in deze context een bijkomende klinische meerwaarde biedt door actieve infectie beter te onderscheiden van kolonisatie en zo de therapeutische besluitvorming te ondersteunen.

QUESTION(S)

-
- 1) Bijvraag: Welke commerciële assays zijn momenteel op de markt voor de bepaling van β -D-glucan en waarin verschillen zij?
 - 2) Bijvraag: Wat zijn de belangrijkste bronnen van vals-positiviteit die de interpretatie van de BDG-test bemoeilijken?
 - 3) Hoofdvraag: Biedt de systematische bepaling van BDG een aantoonbare klinische meerwaarde naast de PJP-PCR in het diagnostisch algoritme van het AZ Groeninge?

SEARCH TERMS

1) *MeSH Database (PubMed): MeSH term:*

- a. Bijvraag 1: ("beta-Glucans"[MeSH] OR "1,3-beta-D-Glucan"[tiab] OR "beta-D-glucan"[tiab] OR BDG[tiab]) AND ("Reagent Kits, Diagnostic"[MeSH] OR "Diagnostic Tests, Routine"[MeSH] OR commercial[tiab] OR assay*[tiab] OR kit[tiab] OR Fungitell[tiab] OR Wako[tiab] OR Fungitec[tiab]) AND (comparison[tiab] OR "comparative study"[pt] OR performance[tiab] OR evaluation[tiab])
- b. Bijvraag 2: ("beta-Glucans"[MeSH] OR "1,3-beta-D-Glucan"[tiab] OR "beta-D-glucan"[tiab] OR BDG[tiab]) AND ("False Positive Reactions"[MeSH] OR "Diagnostic Errors"[MeSH] OR false positive*[tiab] OR interference[tiab] OR specificity[tiab]) AND ("Sensitivity and Specificity"[MeSH] OR "Predictive Value of Tests"[MeSH])
- c. Hoofdvraag: ("Pneumonia, Pneumocystis"[MeSH] OR "Pneumocystis carinii"[MeSH] OR "Pneumocystis jirovecii"[tiab] OR PCP[tiab] OR PJP[tiab]) AND ("beta-Glucans"[MeSH] OR "1,3-beta-D-Glucan"[tiab] OR "beta-D-glucan"[tiab] OR BDG[tiab]) AND ("Real-Time Polymerase Chain Reaction"[MeSH] OR "Polymerase Chain Reaction"[MeSH] OR PCR[tiab])

VRAAG 1: COMMERCIËLE BDG ASSAYS

1.1 BDG assays

De diagnostische test voor BDG gaat terug tot 1985 in Japan (Corsi-Vasquez et al., 2020). In de decennia daarna verschenen wereldwijd meerdere commerciële testen, elk met hun eigen methodiek. De meest gebruikte en bestudeerde assays zijn de Fungitell® (Associates of Cape Cod, Inc, East Falmouth, MA, USA), op de markt sinds 2004 en sinds 2018 ook de Wako β -D-Glucan Test (FUJIFILM Wako Chemicals, Osaka, Japan) (Lagrou et al., 2021, Alanio et al., 2021, Mercier et al., 2019). Andere assays zoals Fungitec G-Test MK (Seikagaku Corporation, Kogyo, Tokyo, Japan) en Dynamiker Fungus® (Dynamiker Biotechnology Co., Ltd, Tianjin, China) zijn enerzijds minder vaak beschreven en anderzijds veel minder frequent gebruikt in Noord-Amerika en Europa (Alanio et al., 2021). Al deze testen berusten op hetzelfde onderliggende principe. In deze critical appraised topic beperken we ons tot de bespreking van de eerste twee assays.

De **Fungitell®-assay** is een Food and Drug Administration (FDA)-goedgekeurde en CE-In Vitro Diagnostic Regulation (IVDR) gecertificeerde colorimetrische microplaatstest voor het kwantificeren van serum-BDG en werkt op basis van een gemodificeerd *Limulus*-amebocytenlysaat (LAL), afkomstig van de Atlantic horseshoe crab (Jaramillo Cartagena et al., 2025). Bij interactie met BDG activeert het reagens serineproteasen, die *p*-nitroaniline (*p*NA) afsplitsen van een chromogeen peptidesubstraat (Jaramillo Cartagena et al., 2025). De hoeveelheid vrijgekomen *p*NA veroorzaakt een gele kleuromslag die bij 405 nm fotometrisch wordt gemeten als uitlezing (Jaramillo Cartagena et al., 2025; Mercier et al., 2019).

Naast de klassieke Fungitell-assay bracht Associates of Cape Cod in 2020 ook de CE-IVDR gecertificeerde **Fungitell STAT®** op de markt, een aangepaste versie van dezelfde test (D'Ordine et al., 2021). Het reactieprincipe is identiek (activatie van factor G zymogen serineproteasen in de Limulus-stollingscascade met eenzelfde colorimetrische *p*NA-uitlezing bij 405 nm) maar het formaat verschilt: waar de klassieke Fungitell-assay een 96-well-microplaat is die vooral geschikt is voor batchtesten (tot 21 patiënten per run), is de Fungitell STAT ontworpen als single-sample of kleinschalige test (1 tot 7 stalen per run), met een kortere doorlooptijd van ongeveer een uur (D'Ordine et al., 2021). Daarnaast geeft de Fungitell STAT, in tegenstelling tot de kwantitatieve pg/mL-uitslag van de klassieke Fungitell-assay, een categorisch resultaat weer (negatief, positief of indeterminate) op basis van een afgeleide index ((1,3)- β -glucan index (BGI)) (D'Ordine et al., 2021). Belangrijk is dat de initiële validatiestudie de Fungitell STAT niet toetste tegenover een klinisch bevestigde diagnose van invasieve fungale infectie of PJP, maar uitsluitend tegenover de klassieke Fungitell-assay als referentiemethode; de studie zegt dus niets over de klinische diagnostische performantie bij PJP specifiek (D'Ordine et al., 2021). Deze validatie verliep in twee stappen. Eerst werd in een kleinere cohort van 93 stalen, via Receiver Operating Characteristic (ROC) curves-analyse, de afkapwaarde van de nieuwe BGI-index bepaald: hierbij bedroegen de sensitiviteit en specificiteit voor het correct onderscheiden van positieve en negatieve resultaten (t.o.v. de klassieke assay) respectievelijk 75,0% en 94,1%. Vervolgens werd deze afkapwaarde bevestigd in een grotere, onafhankelijke cohort van 488 stalen: hier toonde de Fungitell STAT een goede correlatie met de klassieke Fungitell-assay (correlatiecoëfficiënt $\geq 0,90$), met een positieve en negatieve procentuele overeenstemming van respectievelijk 99% en 98% wanneer indeterminate resultaten buiten beschouwing werden gelaten (D'Ordine et al., 2021).

Een recentere studie van Cordier et al. vulde deze leemte wél gedeeltelijk in en vergeleek de Fungitell STAT rechtstreeks met de klassieke Fungitell-assay bij 90 patiënten met invasieve fungale infectie (waaronder 30 patiënten met bevestigde PJP) aangevuld met 30 patiënten met louter *Pneumocystis*-kolonisatie en 70 gezonde controles (Cordier et al., 2025). De algemene overeenstemming tussen beide Fungitell-varianten was zeer goed (gewogen Cohen's kappa van 0,87 (95%-BI: 0,80-0,94)) (Cordier et al., 2025). Deze globale overeenstemming verschilde echter per patiëntencategorie: de kappa bedroeg 0,77 (95%-BI: 0,54–1,00) voor PJP, 0,80 (95%-BI: 0,61–0,98) voor *P. jirovecii*-kolonisatie, 0,80 (95%-BI: 0,64–0,96) voor candidemie en 0,97 (95%-BI: 0,92–1,00) voor invasieve pulmonale aspergillose (IPA) waarbij de overeenstemming tussen beide assays dus opvallend het laagst was binnen de PJP-groep (Cordier et al., 2025). PJP-specifiek toonden de auteurs aan dat de BDG-waarden significant hoger lagen bij patiënten met actieve PJP dan bij patiënten met loutere *Pneumocystis*-kolonisatie (Cordier et al., 2025). Opvallend is bovendien dat, hoewel de globale area under the curve (AUC) voor invasive fungal disease (IFD)-

diagnose 0,92 bedroeg voor de Fungitell STAT en 0,86 voor de klassieke Fungitell-assay, de onderliggende AUC voor beide assays specifiek hóger lag voor de diagnose van PJP dan voor die van candidemie of invasieve pulmonale aspergillose, wat suggereert dat BDG-testen (in beide formaten) mogelijk beter presteren voor PJP dan voor andere IFD (Cordier et al., 2025). De overige gerapporteerde prestatiegegevens zijn niet PJP-specifiek te interpreteren (Cordier et al., 2025). Tot slot besloten de auteurs dat de Fungitell STAT, gezien de kortere doorlooptijd en het single-sample formaat, een interessante optie vormt voor kleinere zorgcentra met een lagere testfrequentie (Cordier et al., 2025).

De **Wako β -D-Glucan Test** is een recentere CE-gecertificeerde test en maakt eveneens gebruik van het LAL-systeem, maar hier activeert BDG specifiek factor G, wat resulteert in een turbidimetrische uitlezing in plaats van een colorimetrische, wat het compatibel maakt met hemolytische, lipemische en icterische stalen (in tegenstelling tot de Fungitell assay) (Jaramillo Cartagena et al. 2025, Singh et al, 2022). Dit onderliggende verschil in detectieprincipe verklaart mee waarom beide assays niet zonder meer uitwisselbaar zijn en elk hun eigen fabrikantcutoff hanteren (respectievelijk 80 pg/mL voor Fungitell en 11 pg/mL voor de Wako-test) (Singh et al, 2022).

De Wako-test biedt verschillende **praktische voordelen** ten opzichte van andere assays. Waar de Fungitell-test afhankelijk is van batchverwerking, kunnen met het Wako-systeem serumstalen individueel en onmiddellijk worden geanalyseerd via een specifiek detectietoestel (Mercier et al., 2019). Deze verkorting van de doorlooptijd werd eveneens aangetoond door Singh et al.: in een vergelijkende studie bij invasieve fungale infecties in bredere zin (niet specifiek PJP) bedroeg de gemiddelde analysetijd van de Wako-test 70 minuten (Singh et al., 2022). Bovendien maakte de real-time uitlezing het mogelijk om een positief resultaat reeds na ongeveer 37 minuten te verkrijgen, terwijl dit bij de Fungitell-assay gemiddeld pas na 120 minuten mogelijk was (Singh et al., 2022). Verder wordt de standaardcurve waartegen gekalibreerd wordt, niet in het labo zelf opgesteld, maar door de fabrikant per productielot vastgelegd, waardoor het laboratorium bij elke testrun geen bijkomende kalibratiestalen meer moet meenemen (Mercier et al., 2019, Singh et al. 2022).

Ook op **analytisch vlak** levert de Wako-test sterke prestaties. De fabrikant rapporteert variatiecoëfficiënten van maximaal 4,7% binnen één analyserun en 6,6% tussen verschillende analysemomenten, wat wijst op een hoge precisie (Mercier et al., 2019). Deze gunstige analytische prestaties werden ook in deze studie bevestigd. De Wako-test vertoonde niet alleen een beperkte intra- en interassayvariatie, maar presteerde op dit vlak ook duidelijk beter dan de Fungitell-assay, wat wijst op een hogere reproduceerbaarheid en betrouwbaarheid van de meetresultaten (Mercier et al., 2019). Tenslotte bleven de resultaten ook betrouwbaar na bewaring van de serumstalen bij 4 °C (Mercier et al., 2019).

1.2 Diagnostische prestaties van de Fungitell en Wako BDG assays

Wat de **diagnostische prestaties voor PJP specifiek** betreft, toonde de rechtstreekse vergelijkende studie van **Mercier et al.** (uitgevoerd op 116 PJP-gevallen ((non-)HIV patiënten) en 114 controles, gedefinieerd op basis van kliniek, radiologie en BAL-qPCR-CT-waarden) een sensitiviteit van 88% voor de Fungitell-assay bij de gemodificeerde cutoff van ≥ 60 pg/mL (Mercier et al., 2019). Bij gebruik van een door de auteurs nieuw voorgestelde Wako-cutoff van 3,616 pg/mL, die eenzelfde sensitiviteit als de Fungitell-assay opleverde, bleek de specificiteit van de Wako-test significant beter dan die van de Fungitell-assay (89% versus 82%) (Mercier et al., 2019). De globale performantie (uitgedrukt als AUC) van beide assays was vergelijkbaar (Mercier et al., 2019). Beide assays vertoonden een zeer hoge negatief predictieve waarde (NPV), waardoor ze bijzonder geschikt zijn om een PJP-diagnose uit te sluiten, vooral nuttig in situaties waarin een BAL niet haalbaar is (Mercier et al., 2019).

Een tweede vergelijkende studie, van **De Carolis et al.**, bevestigde dit patroon bij gebruik van de officiële fabrikantcutoffs: voor de diagnose van PJP bedroegen sensitiviteit en specificiteit respectievelijk 100,0% en 97,3% voor de Fungitell-assay, tegenover 88,2% en 99,5% voor de Wako-test (De Carolis et al., 2020). Bij toepassing van een door de auteurs geoptimaliseerde Wako-cutoff van 7,0 pg/mL verbeterde de sensitiviteit voor PJP tot 94,1%, met behoud van een specificiteit van 97,3%, waardoor de overeenstemming tussen beide assays voor PJP toenam tot 96,5% (De Carolis et al., 2020).

Een derde, kleinere case-control studie van **Friedrich et al.** bij 63 PJP-patiënten en 200 controles bevestigde eveneens een hogere sensitiviteit voor de Fungitell-assay (100%) dan voor de Wako-assay (88,9%) bij de fabrikantscutoffs (Friedrich et al., 2018). Deze bevindingen illustreren een terugkerend patroon in de literatuur: de Fungitell-assay is doorgaans sensitiever bij de officiële fabrikantcutoff, terwijl de Wako-test doorgaans specifiekker is, en beide assays convergeren in performantie zodra de Wako-cutoff naar beneden wordt bijgesteld (De Carolis et al., 2020; Mercier et al., 2019; Friedrich et al., 2018).

Deze bevindingen uit individuele, rechtstreeks vergelijkende studies dienen echter genuanceerd te worden: recentere, veelgeciteerde meta-analyses over de diagnostische accuraatheid van BDG specifiek voor PJP van de afgelopen tien jaar (zoals Del Corpo et al., 2020) zijn quasi uitsluitend gebaseerd op de Fungitell-assay, aangezien de meerderheid van de onderliggende studies deze test gebruikte. Een dergelijke recente, assay-specifieke gepoolde analyse voor de Wako-test ontbreekt vooralsnog. Voor de Wako-test blijft de vergelijkende evidentie dan ook voorlopig beperkt tot de bovenstaande head-to-head studies (Mercier et al., 2019; De Carolis et al., 2020; Friedrich et al., 2018).

Inzake PJP werd actueel de **diagnostische accuraatheid van serum-BDG tweemaal systematisch samengevat**. Een eerste meta-analyse, die 23 studies (997 PJP-patiënten, 3.062 controles) includeerde en gebruikmaakte van een bivariate random-effects-benadering, evalueerde voornamelijk de **Fungitell-assay** (met 13/15 studies die fabrikant cut-off 80 pg/mL gebruikten), naast de **Wako test** (2 studies, beiden fabrikant cut-off 11 pg/mL) en **drie andere commerciële assays**, en rapporteerde een gepoolde sensitiviteit van 91% (95%-BI 87–94%) en een gepoolde specificiteit van 79% (95%-BI 72–84%) voor serum-BDG bij de diagnose van PJP (Del Corpo et al., 2020). Deze meta-analyse vergeleek bovendien de testperformantie tussen HIV-positieve en HIV-negatieve subgroepen via meta-regressie, en zette de gepoolde sensitiviteit en specificiteit om in pre- en post-testkanscurves om de klinische toepasbaarheid te vergroten (Del Corpo et al., 2020). Uit deze subgroepanalyse bleek dat de test aanzienlijk gevoeliger was bij patiënten met HIV dan bij patiënten zonder HIV (respectievelijk 94% (95%-BI 91-96%) versus 86% (95%-BI 78-91%), een statistisch significant verschil), terwijl de specificiteit in beide groepen nagenoeg identiek bleef (83%) en dit verschil niet significant was (Del Corpo et al., 2020). Wat de klinische toepasbaarheid betreft, kon een negatief BDG-resultaat slechts betrouwbaar gebruikt worden om PJP te verwerpen (post-test probabiliteit $\leq 5\%$) wanneer de pre-test probabiliteit op voorhand voldoende laag was, waarbij de vereiste drempel eveneens afhankelijk bleek van de HIV-status. Bij patiënten zonder HIV moest de pre-test probabiliteit onder 20% liggen, terwijl bij HIV-patiënten een aanzienlijk hogere pre-test probabiliteit (tot 50%) nog steeds toeliet om deze uitsluitende interpretatie te hanteren (Del Corpo et al., 2020).

Een recentere, geüpdatete meta-analyse van dezelfde onderzoeksgroep van de McGill University (Canada), gepubliceerd in 2025, breidde deze evidentie (deze keer énkél over de Fungitell assay) verder uit met in totaal 26 studies, goed voor 5111 patiënten en 1150 PJP-gevallen (Prosty et al., 2025). Bij de gangbare fabrikantcutoff van 80 pg/mL bedroeg de gepoolde sensitiviteit 83,5% (95%-BI 72,8-90,6%) en de gepoolde specificiteit 75,5% (95%-BI 66,0-83,0%) (Prosty et al., 2025). Deze auteurs onderzochten daarnaast expliciet het effect van alternatieve cutoffs: bij een verhoogde drempel van 400 pg/mL daalde de sensitiviteit tot 63,5% (95%-BI 45,8-78,1%), terwijl de specificiteit steeg tot 93,6% (95%-BI 88,6-96,5%) (Prosty et al., 2025). Dit weerspiegelt een klassieke sensitiviteit-specificiteit afweging: een lagere cutoff (80 pg/mL) maximaliseert het uitsluitend vermogen, terwijl een hogere cutoff (400 pg/mL) de bevestigende waarde vergroot.

Op basis van deze gepoolde cijfers concludeerden de auteurs over de Fungitell assay dat een negatieve BDG (<80 pg/ml) bij een pre-test probabiliteit van <20% resulteert in een post-test probabiliteit van <5%, overeenkomend met een NPV van >95% (Prosty et al., 2025). Omgekeerd zou een BDG-waarde >400 pg/mL bij een pre-test probabiliteit van 47,5% een post-test probabiliteit van >90% opleveren (Prosty et al., 2025). Deze bevindingen tonen aan dat de klinische betekenis van een BDG-resultaat niet op zichzelf staat, maar sterk afhankelijk is van de voorafgaande klinische inschatting van de patiënt.

Deze meta-analytische evidentie bevestigt dus dat serum-BDG (Fungitell-assay) bij de gangbare cutoff een matige, maar klinisch bruikbare diagnostische accuraatheid heeft voor PJP, op voorwaarde dat het resultaat (net zoals bij PJP-qPCR) steeds geïnterpreteerd wordt in functie van de pre-test probabiliteit en de klinische context, eerder dan als een geïsoleerde afkapwaarde (Prosty et al., 2025; Del Corpo et al., 2020).

Dit inzicht werd verder uitgewerkt in een begeleidend commentaar van Hänsel et al., die op basis hiervan een praktisch tweetrapsmodel voorstellen om de BDG-uitslag te combineren met de **pre-test probabiliteit** (Hänsel et al., 2025). Bij patiënten met een lage pre-test probabiliteit op PJP kan een negatieve BDG de diagnose met voldoende zekerheid uitsluiten (hoge NPV), terwijl bij patiënten met een hoge pre-test probabiliteit een sterk positieve BDG (>400 pg/mL) de diagnose met voldoende zekerheid kan bevestigen (hoge PPV) (Hänsel et al., 2025). Voor patiënten die niet in een van beide categorieën vallen, dus met een intermediaire pre-test probabiliteit, of met een BDG-waarde in de grijze zone tussen beide afkapwaarden, bieden BDG-resultaten daarentegen weinig bijkomende diagnostische zekerheid, en blijft aanvullend onderzoek (zoals PJP-PCR) noodzakelijk (Hänsel et al., 2025). Opvallend is echter dat dit commentaar zelf geen concreet instrument of gevalideerd klinisch scoringssysteem aanreikt om de pre-test probabiliteit in de praktijk te bepalen, waardoor de praktische toepasbaarheid van dit model voorlopig beperkt blijft (Hänsel et al., 2025).

Een dergelijk instrument werd evenwel reeds ontwikkeld door dezelfde onderzoeksgroep van de McGill University: Mappin-Kasirer et al. ontwikkelden reeds in 2024 een multivariabele klinische risicoscore (de 'PCP Score') om de pre-test probabiliteit van PJP in te schatten, gebaseerd op een cohort van 626 patiënten die een bronchoscopie ondergingen (Mappin-Kasirer et al., 2024). De score omvat vijf variabelen (zie Tabel 1):

- voorafgaande solide-organtransplantatie of HIV met CD4 $\leq 200/\mu\text{L}$ (+2 punten)
- serum-LDH $\geq 265,5$ IU/mL (+2 punten)
- een radiologisch patroon typisch voor PJP op RX-thorax (+2 punten) of CT-thorax (+2,5 punten)
- PJP-profylaxe met trimethoprim-sulfamethoxazol (-3 punten) of andere antimicrobiële profylaxe (-2 punten)

Risicofactor	Score	Totaalscore	Geschatte kans
HIV met CD4<200 of solide-organtransplantatie	2	8,5	85,4%
Lactaatdehydrogenase (LDH) >265 U/L	2	6,5	63,8%
RX-thorax met bilaterale interstitiële infiltraten	2	6	56,6%
CT-scan met bilaterale interstitiële infiltraten of matglasafwijkingen	2,5	5,5	49,1%
PJP-profylaxe met trimethoprim-sulfamethoxazol*	-3	4,5	34,6%
OF			
PJP-profylaxe met een alternatief middel*	-2		
* Binnen de voorbije maand		4	28,1%
Om de PCP-score te berekenen, telt u elk van de bovenstaande, van toepassing zijnde elementen op en zoekt u de bijhorende score en kans rechts op. Merk op dat, hoewel punten enkel worden toegekend voor mensen met hiv met een CD4-telling onder 200, de interpretatie van BDG enkel afhankelijk is van de sero-status.		3	17,70%
		2,5	13,7%
		2	10,5%
		1	6,0%
		0,5	4,5%
		0	3,4%
		<0	<2,5%

Tabel 1: Samenvatting van de PCP score (vertaald en overgenomen uit Lee et al., 2025)

De mediane score bedroeg 4 punten (IQR 2-4,5), overeenkomend met een geschatte PJP-kans van 28%, en het model toonde een goede discriminatie met een c-statistiek van 0,79 (95%-BI 0,71-0,84) (Mappin-Kasirer et al., 2024). Een score van ≤ -1 punt was geassocieerd met een PJP-kans van minder dan 2% (Mappin-Kasirer et al., 2024). Op basis van de operationele kenmerken van de BDG-test stelden de auteurs bovendien voor dat een PJP-score van ≤ 3 punten bij niet-HIV patiënten, en $\leq 5,5$ punten bij HIV-patiënten, in combinatie met een negatieve BDG, PJP met 95% zekerheid zou kunnen uitsluiten (Mappin-Kasirer et al., 2024).

In een later vervolgartikel van deze onderzoeksgroep koppelden Lee et al. deze 'PCP Score' expliciet aan de geactualiseerde testkarakteristieken uit de meta-analyse van Prosty et al. (2025), om zo concrete afkappunten van de score te bepalen waarbij BDG-testing respectievelijk uitsluitend, bevestigend, of van weinig meerwaarde is. Zij baseerden zich hierbij op de twee cutoffs uit hun meta-analyse: de fabrikantcutoff van 80 pg/mL, die de sensitiviteit maximaliseert, en een verhoogde cutoff van 400 pg/mL, die de specificiteit maximaliseert (Lee et al., 2025). Dit resulteerde in de volgende, per HIV-status gestratificeerde interpretatie:

- Patiënten met HIV:
 - PCP-score ≤ 4 punten + negatieve BDG (<80 pg/mL) $\rightarrow$ NPV $\geq 95\%$ (PJP uitgesloten)
 - PCP-score $\geq 5,5$ punten + sterk positieve BDG (>400 pg/mL) $\rightarrow$ PPV $\geq 93\%$ (PJP bevestigd)
- Patiënten zonder HIV:
 - PCP-score ≤ 3 punten + negatieve BDG (<80 pg/mL) $\rightarrow$ NPV $\geq 95\%$ (PJP uitgesloten)
 - PCP-score $\geq 6,5$ punten + sterk positieve BDG (>400 pg/mL) $\rightarrow$ PPV $\geq 92\%$ (PJP bevestigd)

Voor patiënten met een PCP-score daartussenin, goed voor ongeveer 38% van hun oorspronkelijke cohort, kon de BDG-uitslag de diagnose noch bevestigen noch uitsluiten en bood de test dus weinig diagnostische meerwaarde. De auteurs benadrukken echter dat prospectieve, multicentrische validatie van deze aanpak nog noodzakelijk is (Lee et al., 2025).

De β -D-glucanbepaling wordt binnen het [klinisch laboratorium van AZ Groeninge](#) momenteel verricht via een verzendtest naar het UZ Leuven, waar gebruik wordt gemaakt van de Wako β -D-Glucan Test (FUJIFILM Wako Chemicals, Osaka, Japan).

VRAAG 2: WAT ZIJN DE BELANGRIJKSTE BRONNEN VAN VALS-POSITIVITEIT DIE DE INTERPRETATIE VAN DE BDG-TEST BEMOEILIJKEN?

De diagnostische meerwaarde van serum-BDG als aanvulling op PJP-PCR staat of valt met de diagnostische specificiteit van de test, en net die specificiteit wordt in de praktijk soms ondermijnd door een breed scala aan niet-fungale oorzaken van BDG-elevatie. Daarbij gaat het telkens om een meting die op zich klopt: de glukaanmolecule bevindt zich effectief in het bloed, alleen ligt de oorsprong ervan niet bij een IFD (of specifiek bij PJP) (Finkelman et al., 2021).

We gaan er hierbij vanuit dat het volledige pre-analytische, analytische en post-analytische proces correct werd uitgevoerd, zonder technische fouten of contaminatie. De hieronder besproken oorzaken van vals-positiviteit betreffen dus geen laboratoriumfouten, maar reële, meetbare BDG-elevaties met een niet-PJP-gerelateerde oorsprong. Deze oorzaken van vals-positiviteit laten zich grofweg indelen in twee categorieën: enerzijds contaminatie via medische producten en processen, en anderzijds onderliggende patiëntgebonden condities die BDG endogeen doen stijgen. Onderstaand overzicht bespreekt beide categorieën systematisch.

2.1. Medische producten en processen geassocieerd met patiënt/product contaminatie

In deze categorie is de patiënt zelf niet de bron van het BDG: het polysaccharide komt via een extern product, materiaal of medisch proces in het bloed terecht, los van enige onderliggende schimmelinfectie (Finkelman et al., 2021). Finkelman et al. sommen in hun overzicht onder meer de volgende medische producten en processen op die geassocieerd zijn met patiënt- of productcontaminatie (niet-limitatieve lijst) (Finkelman et al., 2021):

- Chirurgisch gaas en sponzen
- Productie-/verwerkingsapparatuur bij fabricage van medische producten
- Fermentatiemedia gebruikt bij de productie van biologische/farmaceutische producten
- Hemodialyse met cellulosemembranen
- Cellulose-dieptefilters, (o.a. gebruikt bij plasmafractionering)
- Intraveneuze immunoglobuline (IVIG)
- Humaan serumalbumine
- Antitumor-adjunctia
- Antibiotica

Hieronder bespreken we enkel de meest bestudeerde en klinisch relevante bronnen uit deze lijst in meer detail.

2.1.1 Chirurgisch gaas en sponzen

Operatiemateriaal zoals gaas en sponzen behoort tot de meest onderschatte bronnen van BDG-contaminatie: bij langdurig contact met lichaamsvocht of bij gebruik in een lichaamsholte kan dit materiaal enorme hoeveelheden glukaan afgeven, oplopend tot in de miljoenen pg/gm (Finkelman et al., 2021). Dat dit een reëel klinisch probleem is, blijkt uit de evolutie van de testspecificiteit na een operatie: wanneer bloed vlak na de ingreep wordt afgenomen is de kans op een vals-positief resultaat aanzienlijk hoger dan wanneer men drie dagen wacht, wat het gaas of de spons als waarschijnlijke boosdoener aanwijst (Finkelman et al., 2021). Specifiek voor de PJP-diagnostiek geldt daarom een eenvoudige vuistregel: BDG-waarden die door glukaanhoudend operatiemateriaal zijn beïnvloed, dalen doorgaans binnen drie tot vier dagen vanzelf terug naar normaal, zodat een controlebepaling met dalende trend al voldoende reden kan zijn om aan contaminatie te denken in plaats van aan infectie (Corsi-Vasquez et al., 2020). Deze bevinding wordt breed gedragen in de literatuur: chirurgisch gaas staat op zowat elke lijst van klassieke, niet-fungale versturende factoren bij BDG-interpretatie in de context van PJP (Jaramillo Cartagena et al., 2025, Morjaria et al., 2025).

2.1.2 Hemodialysemembranen

Historisch is hemodialyse een belangrijke oorzaak van vals-positiviteit via dialysemembranen van geregenereerde cellulose, een ouder membraantype dat BDG kan afgeven aan het bloed (Finkelman et al., 2021). Cellulosehoudende hemodialysefilters worden expliciet genoemd als factor die de vals-positiviteitsratio bij de fabrikantsafkapwaarde van 80 pg/mL verhoogt, en dit wordt bevestigd voor de PJP-context specifiek (Corsi-Vasquez et al., 2020; Jaramillo Cartagena et al., 2025). In dit kader is beschreven dat hemodialyse in de voorgaande 72 uur significant geassocieerd

was met vals-positieve BDG-uitslagen (Finkelman et al., 2021). Belangrijke nuance: moderne synthetische (niet-BDG-lekkende) dialysemembranen hebben dit probleem grotendeels opgelost, waardoor hemodialyse tegenwoordig een minder betrouwbare voorspeller van vals-positiviteit is dan vroeger (Finkelman et al., 2021).

2.1.3 Bloedproducten en immunoglobulines (IVIG, albumine)

Dit is de meest consistent beschreven oorzaak in de literatuur. Tijdens plasmafractionering wordt gebruikgemaakt van cellulosehoudende dieptefilters, waarbij plantaardig BDG (callose) uit het filtermateriaal in het eindproduct terecht kan komen, met een kenmerkend patroon van snelle stijging na infusie gevolgd door een snelle daling (Finkelman et al., 2021).

Een Zwitserse studie bij onco-hematologische patiënten die routinematig gescreend werden op schimmelinfecties toonde aan dat IVIG- en/of therapeutische antilichaam-preparaten geassocieerd zijn met een hoog percentage vals-positieve BDG-testen, met als aanbeveling dat de meerwaarde van routinematige BDG-monitoring in deze populatie afgewogen moet worden tegen het risico op onnodige bijkomende onderzoeken en kosten door deze vals-positieven (Tschopp et al., 2022). Wan et al., een retrospectieve studie, kwantificeerde dit verder: van 347 BDG-testen bij 131 patiënten die IVIG toegediend kregen, vertoonde 71,8% van de patiënten een vals-positieve BDG-waarde, waarbij alle waarden tegen dag 7 genormaliseerd waren (Wan et al., 2023). Een Oostenrijkse studie bij pediatrie hemato-oncologische patiënten nuanceert dat laatste punt: BDG-waarden kunnen tot twee weken verhoogd blijven, en pas na drie weken waren alle patiënten weer negatief, waaruit de auteurs concluderen dat BDG-testen binnen die periode na IVIG-toediening niet betrouwbaar te interpreteren zijn (Egger et al., 2018).

2.1.4. Antimicrobiële middelen

Verschillende klassen antibiotica worden genoemd als niet-fungale oorzaak van vals-positiviteit bij PJP-diagnostiek (Finkelman et al., 2021). Een uitgebreidere lijst omvat onder andere IV amoxicilline-clavulaanzuur, colistine, ertapenem, cefazoline, trimethoprim-sulfamethoxazol, cefotaxim, cefepime en ampicilline-sulbactam, die in *in-vitro* studies allemaal positieve BDG-testresultaten konden opleveren, maar dit gold enkel wanneer de geneesmiddelen getest werden in hun geconcentreerde vorm zoals rechtstreeks uit de flacon en verdwenen grotendeels na verdunning tot klinisch toegediende concentraties (uitgezonderd ampicilline-sulbactam) (Corsi-Vasquez et al., 2020, Theel et al., 2013). Dit doet vermoeden dat het klinisch toedienen van deze antibiotica op zich onvoldoende is om een vals-positieve BDG-uitslag te veroorzaken (Theel et al., 2013).

Recentere literatuur nuanceert dit verder: sommige studies suggereren dat bijvoorbeeld piperacilline-tazobactam kan leiden tot vals-verhoogde BDG-waarden, maar het bewijs hiervoor is beperkt en minder goed onderbouwd dan voor IVIG, en recentere antibioticaformuleringen lijken dit minder vaak te veroorzaken (Marjoria et al., 2025). Ook de hoge mate van verdunning bij IV toediening van kleine volumes antibioticum maakt klinisch relevante contaminatie minder waarschijnlijk, wat mede onderbouwd wordt door de hoge negatief-voorspellende waarde van BDG bij patiënten die brede antibiotica krijgen (Finkelman et al., 2021). Antimicrobiële middelen blijven dus een controversiële en waarschijnlijk overschatte oorzaak van vals-positiviteit.

2.2 Aandoeningen die gepaard gaan met verhoogde circulerende BDG-concentraties

Deze categorie omvat patiëntgebonden fysiologische of pathologische toestanden waarbij BDG endogeen verhoogd raakt (via verminderde klaring, translocatie vanuit een niet-steriele omgeving (darm, longen), of productie door een niet-klassieke verwekker) zonder dat er sprake is van contaminatie via een extern medisch product.

Finkelman et al. beschrijven daarnaast onder meer de volgende klinische condities als geassocieerd met verhoogd circulerend BDG (niet-limitatieve lijst) (Finkelman et al., 2021):

- Brandwonden met groot lichaamsoppervlak
- Chronisch nierlijden (CKD)
- Cystische fibrose (CF)
- Cytomegalovirus infectie (CMV)
- Enterokokkenbacteriëmie
- hepatitis C-virus infectie (HCV)
- HIV-geassocieerde neurocognitieve achteruitgang
- Niet-AIDS-gerelateerde nevenwerkingen bij HIV

- Invasieve mechanische beademing
- Lupus erythematosus
- Overgang van sepsis naar septische shock
- Na grote abdominale chirurgie
- Colitis ulcerosa

2.2.1. Chronisch nierlijden / verminderde renale klaring

De nierfunctie beïnvloedt de BDG-spiegels ook via een direct fysiologisch mechanisme, los van de gebruikte dialysemembranen (Finkelman et al., 2021). Een verslechterde nierwerking leidt namelijk geleidelijk tot hogere BDG-concentraties in het bloed, met de sterkste stijging bij dialyseafhankelijke patiënten (Wong et al., 2020). Deze verhoogde waarden hangen samen met immuunactivatie (inflammatiemarkers) en verstoren tevens endotoxinetests, ongeacht het exacte stadium van de nierziekte. Onderliggend spelen een verhoogde darmpermeabiliteit en een verminderde functie van het mononucleair fagocytenstelsel vermoedelijk een rol (Wong et al., 2020). Dit verklaart waarom patiënten met een vergevorderde nierinsufficiëntie ook zonder blootstelling aan dialysefilters een verhoogd BDG kunnen vertonen.

2.2.2. Bacteriële infecties (niet-fungaal)

Verhoogde BDG-titers zijn geassocieerd met bacteriële infecties, met name *Pseudomonas aeruginosa* en *Streptococcus pneumoniae*, maar directe BDG-productie door de bacterie zelf is slechts voor *S. pneumoniae* Type 37 systematisch aangetoond (Finkelman et al., 2021; Corsi-Vasquez et al., 2020). Bij enterokokken bacteriëmie is translocatie via een beschadigde darmbarrière een aannemelijker mechanisme dan directe bacteriële BDG-productie (Finkelman et al., 2021). Daarnaast is beschreven dat bacteriëmie door *Alcaligenes faecalis* kan resulteren in vals-positieve BDG-testen (Corsi-Vasquez et al., 2020).

Nocardia species vormen een aparte, goed onderbouwde uitzonderingscategorie: in tegenstelling tot de meeste bacteriën is bij invasieve *Nocardia* direct experimenteel bewijs geleverd dat de bacterie zelf BDG produceert, aangezien post-groei kweek supernatans van klinische isolaten BDG-positief bleken terwijl controle bacteriën (*Staphylococcus aureus* en *Escherichia coli*) negatief bleven (Finkelman et al., 2021).

2.2.3. Darmtranslocatie / mucosale barrièreschade

Onder mucosale barrièreschade vallen diverse vormen van weefselbeschadiging die de darmwand doorlaatbaarder maken voor het in de darm aanwezige BDG, dat normaal niet in de bloedbaan terechtkomt. Chemotherapie-geassocieerde mucositis, brandwonden over een groot lichaamsoppervlak, darmischemie en de intradialytische hypotensie die bij hemodialyse kan optreden, zijn stuk voor stuk beschreven als aanleiding tot zo'n verhoogde doorlaatbaarheid, waardoor lumaal BDG (afkomstig uit voeding of het darmmicrobioom) alsnog systemisch kan verschijnen (Finkelman et al., 2021). Het onderliggend mechanisme wordt vaak toegeschreven aan lokale hypoxie van de darmwand, die op haar beurt kan ontstaan door uiteenlopende oorzaken: naast de reeds genoemde brandwonden en ischemie-reperfusieschade gaat het ook om mesenteriale hypoxie, microbiële toxines, virale aantasting van darmweefsel, metabole toxiciteit zoals bij uremie, en de aanwezigheid van proteaseproducerende enterokokken in de darm (Finkelman et al., 2021).

Dat deze barrièreschade klinisch meetbaar gevolgen heeft, blijkt uit observationele studies: bij hematologische patiënten die geen invasieve schimmelinfectie hadden maar wel chemotherapie-geïnduceerde mucositis of enterocytschade doormaakten, bleven de BDG-titers aanhoudend hoger dan bij vergelijkbare patiënten zonder die schade ($p = 0,002$) (Ellis et al., 2008).

2.2.4. Hepatische klaring

Bij verminderde leverfunctie kan de BDG-spiegel in het bloed vals-positief verhoogd zijn, los van een echte schimmelinfectie (Finkelman et al., 2021). BDG wordt namelijk grotendeels via de lever geklaard; wanneer die klaring capaciteit daalt, stapelt het polysacharide zich op in de circulatie (Finkelman et al., 2021). Dit werd onder meer aangetoond bij kinderen met terminale leverinsufficiëntie, waar de ernst van de leverziekte omgekeerd evenredig samenhangt met de hepatische BDG-klaring, en bij patiënten met HCV-gerelateerde leverfibrose, waar de opstapeling eerder aan gebrekkige klaring dan aan verhoogde darmtranslocatie werd toegeschreven (Finkelman et al., 2021). Leverfunctie is dus een relevante, vaak over het hoofd geziene factor bij de interpretatie van BDG-resultaten.

VRAAG 3: BIEDT DE SYSTEMATISCHE BEPALING VAN BDG EEN AANTOONBARE KLINISCHE MEERWAARDE NAAST DE PJP-PCR (IN HET DIAGNOSTISCH ALGORITME VAN HET AZ GROENINGE)?

Zoals in het klinisch scenario geschetst, ligt de eigenlijke klinische nood niet bij een negatieve PCR (die sluit PJP met hoge betrouwbaarheid uit (negatieve LR 0,014) en evenmin bij een sterk positieve PCR bij een klinisch overtuigend beeld (Brown et al., 2024). Het knelpunt situeert zich specifiek bij de **intermediaire of zwak(ke)-positieve PCR-uitslag**: door de zeer hoge sensitiviteit van kwantitatieve PCR wordt ook asymptomatische *Pneumocystis*-kolonisatie gedetecteerd, en bij lagere fungaal load is er geen universeel gevalideerde afkapwaarde beschreven die met zekerheid kan uitmaken of dit kolonisatie dan wel (begin van) actieve infectie betreft (Brown et al., 2024; Jaramillo Cartagena et al., 2025). Vraag 3 spitst zich daarom toe op één concrete klinische situatie: voegt BDG, systematisch bepaald naast PCR, aantoonbare waarde toe om juist dat onderscheid te maken?

3.1 Waarom BDG als zelfstandige test dit probleem niet oplost

BDG als geïsoleerde test kan dit onderscheid niet betrouwbaar maken. De specificiteit blijft matig (75,5% bij de gangbare cut-off voor de Fungitell assay bij Prosty et al., 2025) en wordt deels ondermijnd door de brede waaier aan vals-positieve bronnen uit Vraag 2. Een concreet, direct herleidbaar voorbeeld van dit vals-positiviteitsprobleem levert Bigot et al., één van de vijf BDG-studies in de hierna besproken systematische review: binnen de subgroep van HIV-negatieve patiënten met een positieve *Pneumocystis jirovecii*-qPCR maar een laag fungaal load (<30.000 cp/mL) (dus net de populatie waar het onderscheid tussen kolonisatie en infectie het moeilijkst is) werden bij de fabrikant-cut-off van 80 pg/mL toch 10 van de 44 kolonisatie-episodes (22,7%) als BDG-positief geklasseerd (Bigot et al., 2022). Van diezelfde 10 episodes bleven er nog 4 (9%) positief bij een cut-off van 200 pg/mL en slechts 2 (4,5%) bij 400 pg/mL, wat illustreert dat een hogere afkapwaarde het aantal (vermoedelijk vals-)positieve resultaten sterk reduceert, maar deze winst in specificiteit ging gepaard met een aanzienlijk verlies aan sensitiviteit: van 83,3% bij 80 pg/mL tot 41,7% bij 400 pg/mL (Bigot et al., 2022).

De eigenlijke vraag is dan ook niet of BDG op zich goed presteert, maar of de **combinatie** met PCR een aantoonbare meerwaarde heeft ten opzichte van PCR alleen.

3.2 Wat op het niveau van systematic reviews en meta-analyses gepubliceerd

Een recente meta-analyse evalueerde de diagnostische accuraatheid van qPCR, nested PCR, BDG, metagenomic next-generation sequencing (mNGS) en digital PCR (ddPCR) om *Pneumocystis*-kolonisatie van actieve infectie te onderscheiden (28 studies, 2550 patiënten, 1445 met PJP) (Zhang et al., 2025). De gepoolde resultaten per test (Tabel 2):

Test	Aantal studies	Sensitiviteit	Specificiteit	Diagnostic odds ratio	AUC
qPCR	19	78% (95%-BI 76%-81%)	83% (95%-BI 81%-86%)	20,44	89,80%
BDG	5*	83% (95%-BI 77%-88%)	78% (95%-BI 69%-85%)	23,94	90,04%
Alle testen samen (pooled)	-	80% (95%-BI 77%-82%)	83% (95%-BI 81%-85%)	23,12	88,45%

Tabel 2: De gepoolde resultaten per test (vertaald en overgenomen uit Zhang et al., 2025). (*Met maar 3 van de 5 studies met serum als staaltype).

De auteurs besluiten dat BDG een lage specificiteit heeft, waardoor **qPCR de meest waardevolle individuele test** blijft om infectie van kolonisatie te onderscheiden (Zhang et al., 2025).

Deze review levert daarnaast een belangrijke methodologische vaststelling: bij de Quality Assessment for Studies of Diagnostic Accuracy 2 (QUADAS-2)-risk-of-bias-beoordeling van alle 28 geïncludeerde studies samen (dus niet

beperkt tot qPCR) bleek dat ongeveer 90% van de studies geen vooraf vastgestelde drempel hanteerde, maar een cutoff afgeleid van ROC-curve-analyse binnen de eigen studiepopulatie, wat het risico op overschatting van de diagnostische accuraatheid verhoogt (Zhang et al., 2025). Specifiek voor de 19 qPCR-studies liepen de gebruikte CT-waarden uiteen van 24 tot 36, met bovendien heterogeniteit in het gebruikte target-gen: 10 studies gebruikten het mtLSU-rRNA-gen, 3 het major surface glycoprotein (MSG)-gen, en de overige studies andere of niet-gespecificeerde targets (Zhang et al., 2025). Dit is relevant omdat het aantoont dat het cutoff-probleem niet uniek is voor BDG, maar een breder methodologisch knelpunt is binnen de volledige PJP-diagnostiek.

Interessant is ook dat Zhang et al. zelf, op basis van deze bevindingen, een **tweedrempelsysteem voor qPCR** voorstelt, met een lage drempel waaronder kolonisatie waarschijnlijk is en een hoge drempel waarboven PJP waarschijnlijker is, waarbij de tussenliggende grijze zone (exact de 'zwak(ke)-positieve PCR' uit deze CAT) binnen de bredere klinische en radiologische context geïnterpreteerd moet worden (Zhang et al., 2025). Eén van de meegenomen studies illustreert bovendien dat ook de HIV-status deze drempel beïnvloedt: bij HIV-positieve patiënten sloot een CT-waarde van 27 kolonisatie uit (sensitiviteit 74%, specificiteit 100%), terwijl bij HIV-negatieve patiënten een aanzienlijk hogere CT-waarde van 35 nodig was voor eenzelfde uitsluitend vermogen (sensitiviteit 80%, specificiteit 60%) (Fauchier et al., 2016, geciteerd in Zhang et al., 2025). Dit type twee-drempel-redenering voor qPCR is conceptueel identiek aan het tweetrapsmodel dat Prosty et al. (2025) en Hänsel et al. (2025) voor BDG voorstellen, wat suggereert dat een toekomstig, geïntegreerd beslissingsmodel voor de zwak(ke)-positieve PCR mogelijk beide testen met een eigen, doelgebonden drempelsysteem zou moeten combineren, in plaats van slechts één van beide te optimaliseren.

Belangrijke nuance: deze review poolt de **testen afzonderlijk naast elkaar, niet als gecombineerde, gelijktijdig geïnterpreteerde test**. Ze beantwoordt dus de vraag welke test op zich het best presteert, wat een andere vraag is dan of BDG iets toevoegt wanneer men ze combineert met een reeds beschikbare PCR-uitslag. Dat onderscheid is cruciaal: de relatief sceptische conclusie van deze meta-analyse (BDG als 'zwakkere concurrent' van PCR) mag niet zomaar worden doorgetrokken naar de vraag van deze CAT, waarin BDG niet als concurrent maar als **aanvulling** op een reeds beschikbare, dubbelzinnige PCR-uitslag wordt overwogen. Voor die specifieke combinatievraag bestaat, voor zover teruggevonden in PubMed en Embase, geen systematische review of meta-analyse (eigen literatuur vaststelling). Dit wordt bevestigd door Zhang et al. zelf, die aangeven dat er vóór hun eigen werk geen studies waren die het onderscheid tussen *P. jirovecii*-infectie en -kolonisatie op basis van de combinatie van beide testen hadden onderzocht (Zhang et al., 2025).

3.3 Beste beschikbare individuele studies voor de combinatievraag

Bij gebrek aan systematische review/meta-analyse-niveau evidentie over combinatie, hieronder de meest relevante individuele studies die dit rechtstreeks onderzochten. De studies bouwen inhoudelijk op elkaar voort: te beginnen met Morjaria et al. (2019), die het principe van sequentieel testen (PCR gevolgd door BDG) onderzocht, naar een specifiek klinisch scenario bij Huang et al. (2023) en populatie-specifieke confounders bij Li et al. (2024), tot de meest recente studie van Falcó-Roget et al. (2026), die dit alles samenbrengt in een concreet beslissingsalgoritme, weliswaar gebaseerd op een niet-invasief respiratoir staal.

3.3.1 Morjaria et al., *Clin Infect Dis.* 2019

Morjaria et al. vulden een concrete leemte in. Tot dan bestond er geen studie die BDG **gecombineerd** met PJP-PCR onderzocht in een grote, **niet-HIV-oncologische** populatie. De meeste eerdere literatuur kwam immers uit HIV-cohorten. De studie omvatte 438 volwassen kankerpatiënten met onverklaarde longinfiltraten. Daarvan waren 53 **kwalitatieve rtPCR**-positief (40 met definitieve (11) of probable (29) PJP, 13 met louter possible PJP zonder overtuigend klinisch beeld, dichter bij kolonisatie) en 385 PCR-negatief. PJP infecties werden gedefinieerd zoals beschreven voor andere IFD (met enkele aanpassingen) volgens de EORTC/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (**EORTC/MSG**) Consensus group (2008).

De retrospectieve analyse gebeurde in twee stappen. Eerst bekeken ze de performantie van BDG over de volledige cohort. Vervolgens gingen ze, specifiek binnen de PCR-positieve subgroep, na of BDG bijkomend onderscheid kon maken tussen klinisch significante PJP en louter kolonisatie. Dit sluit nauw aan bij het scenario van deze CAT, in tegenstelling tot de meeste andere studies die enkel de accuraatheid van BDG als op zich staande test rapporteren.

Binnen de PCR-positieve subgroep gaf BDG bij de standaard Fungitell cutoff (≥ 80 pg/mL) al een sensitiviteit van 87,5%, specificiteit van 84,6%, PPV van 94,6% en NPV van 68,8%. Bij een verhoogde drempel van 200 pg/mL steeg die tot 100% specificiteit en PPV, ten koste van sensitiviteit (70,0%) en NPV (52,0%). De studie documenteert bovendien concreet de klinische impact van geïsoleerde BDG-interpretatie: van 70 patiënten met verhoogde BDG maar negatieve PCR werd bij 57% een alternatieve verklaring gevonden (vooral aspergillose, *Candida*-kolonisatie of IVIG gebruik), maar 11 patiënten werden ondanks de negatieve PCR toch behandeld voor PJP. Dit illustreert het reële risico op overbehandeling wanneer BDG geïsoleerd wordt geïnterpreteerd.

3.3.2 Huang et al., *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2023

Huang et al. onderzochten, als enige van de in deze CAT besproken studies, specifiek de **PCR-positieve subgroep**. Voor de indeling in PJP versus kolonisatie hanteerden de auteurs een eigen gouden-standaardalgoritme, dat **afwijkt van de EORTC/MSGERC-criteria** elders in deze CAT (Lagrou et al., 2021): PJP werd gedefinieerd als een positieve rtPCR (Ct-waarde van het mtLSU-gen ≤ 37 , kwalitatief geïnterpreteerd zonder omzetting naar een kwantitatieve fungal load) of microscopie, gecombineerd met minstens twee van de volgende drie criteria: respiratoire symptomen, een typisch radiologisch beeld, of een volledig doorlopen behandelingskuur (Huang et al., 2023). Patiënten met een positieve PCR die hier niet aan voldeden, werden als kolonisatie geclassificeerd (Huang et al., 2023). Opvallend is dat deze indeling dus louter op een kwalitatieve interpretatie van de PCR-uitslag steunt, zonder rekening te houden met de hoogte van de fungal load zelf als differentiërend criterium tussen PJP en kolonisatie.

Serum-BDG werd in deze retrospectieve studie bepaald met de **Fungus (1 $\rightarrow$ 3)- β -D Dextran Test Kit** (Charles River Zhang Jiang, China A&C Biological LTD). Bij 213 HIV-negatieve patiënten met een reeds positieve *P. jirovecii*-qPCR (159 PJP, 54 kolonisatie) werd BDG ingezet om binnen deze groep alsnog te differentiëren, met gebruik van een studie-specifiek afgeleide cutoff van 117,7 pg/mL (bepaald via ROC-analyse en Youden's index in een derivatiecohort en gevalideerd in een onafhankelijk validatiecohort). Dit is niet de fabrikant cutoff: die hanteert voor deze kit een indeterminate zone tussen 100,5 en 151,5 pg/mL. Bij de studie-specifieke cutoff van 117,7 pg/mL waren specificiteit (90,00-99,67%) en PPV (~96%) uitstekend, terwijl sensitiviteit (76,47-89,01%) en vooral NPV (57,89-72,97%) duidelijk zwakker presteerden. Een negatieve BDG is dus onvoldoende betrouwbaar om PJP uit te sluiten bij deze patiënten met positieve PCR's, wat impliceert dat BDG hier vooral **bevestigend** moet worden ingezet, niet uitsluitend.

De auteurs suggereerden bovendien dat de performantie van BDG mogelijk lager ligt bij bepaalde comorbiditeiten (longkanker, interstitiële longziekte, nefrotisch syndroom), al berust deze subgroepanalyse op zeer kleine aantallen gekoloniseerde patiënten ($n < 5$) en dient ze dus voorzichtig geïnterpreteerd te worden.

3.3.3 Li et al., *BMC Infect Dis.* 2024

Li et al. voerden de tot dusver meest diepgaande retrospectieve studie uit naar de diagnostische performantie van serum-BDG voor PJP in een intensieve zorgen (IZ)-setting, bij 400 kritisch zieke, niet-HIV-immuungecompromiteerde patiënten met simultane BDG- en PCR-bepaling op lage-luchtwegstalen. Voor de PJP-diagnose baseerden de auteurs zich op de **2019 EORTC/MSGERC-consensusdefinities**, met als enige aanpassing dat BDG expliciet werd uitgesloten als mycologisch criterium: PJP vereiste enkel de aanwezigheid van 1) respiratoire symptomen, 2) nieuwe matglasafwijkingen op CT-thorax, 3) én aantoning van *P. jirovecii* via conventionele kleuring of een positieve PCR op een lage-luchtwegstaal (Li et al., 2024). De PCR zelf betrof een **in-huis ontwikkelde rtPCR** gericht op het **mtLSU-gen**, eveneens **kwalitatief** geïnterpreteerd (positief bij Ct ≤ 37 , zonder omzetting naar een kwantitatieve fungal load) (Li et al., 2024). Net zoals bij Huang et al. werd de hoogte van de fungal load dus niet als differentiërend criterium gebruikt (Li et al., 2024). Van de 167 als PJP geclassificeerde patiënten had slechts 41 zowel een positieve kleuring als PCR; de overige 126 werden uitsluitend op basis van een positieve PCR (in combinatie met de klinisch-radiologische criteria) als PJP geclassificeerd (Li et al., 2024). Opvallend is dat deze studie, in tegenstelling tot bijvoorbeeld Huang et al., geen aparte kolonisatiegroep onderscheidde: van de 187 PCR-positieve patiënten voldeden er 20 niet aan de volledige PJP-criteria, maar deze werden niet apart als 'kolonisatie' geanalyseerd, en simpelweg bij de bredere non-PJP-groep ingedeeld (Li et al., 2024).

Serum-BDG werd hierbij bepaald met de **Fungus (1→3)-β-D Dextran Test Kit** (Charles River Zhang Jiang, China A&C Biological LTD). Via multivariabele logistische regressie identificeerden de auteurs drie onafhankelijke, significante confounders die, los van PJP zelf, eveneens tot BDG-positiviteit leidden: 1) recente IVIG-toediening binnen de 3 dagen (odds ratio (OR) 9,24 (95%-BI 4.09-20.88)), 2) andere invasieve fungale infecties (OR 4,46 (95%-BI 2.10-9.49)) en 3) gram-negatieve bacteriëmie (OR 29,02 (95%-BI 9.03-93.23)). Op basis hiervan splitsten ze de populatie op in patiënten met en zonder deze confounders, en bepaalden ze via Youden's index setting-specifieke optimale afkapwaarden (Tabel 3). (Nota: de gram-negatieve bacteriëmie werd in de literatuurstudie van Vraag 2 niet vermeld).

Populatie	Cutoff	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	PPV (%)	NPV (%)
Alle patiënten (n=400)	Fabrikant (150 pg/ml)	94 (89, 97)	67 (61, 73)	67 (61, 73)	94 (89, 97)
	Optimaal (252 pg/ml)	87 (81, 91)	79 (74, 84)	75 (68, 81)	89 (84, 93)
Zonder confounders (n=267)	Fabrikant (150 pg/ml)	94 (88, 97)	78 (71, 84)	78 (71, 84)	94 (89, 97)
	Optimaal (202 pg/ml)	87 (79, 92)	88 (82, 92)	85 (77, 91)	89 (83, 93)
Met confounders (n=133)	Fabrikant (150 pg/ml)	94 (82, 98)	47 (37, 58)	50 (40, 60)	93 (80, 98)
	Optimaal (390 pg/ml)	85 (72, 93)	74 (63, 82)	65 (52, 76)	90 (80, 95)

Tabel 3: Serum BDG's diagnostische performantie voor PJP in alle patiënten en subgroepen met en zonder confounders (vertaald en overgenomen uit Li et al., 2024).

Deze cijfers illustreren duidelijk **hoe sterk confounders de bruikbaarheid van de fabrikantcutoff ondermijnen**: bij patiënten met confounders daalt de specificiteit bij de standaardcutoff tot amper 47%, terwijl een aangepaste, hogere cutoff dit terug optrekt tot 74%, zij het ten koste van een lichte daling in sensitiviteit en NPV. Deze bevindingen onderstrepen dat een vaste, universele BDG-cutoff onvoldoende rekening houdt met de klinische realiteit van de IZ-patiëntenpopulatie. Een bijkomende kanttekening is dat deze studie gebruikmaakte van een minder gangbare commerciële kit, wat de directe vergelijkbaarheid en veralgemeenbaarheid van deze specifieke cutoffwaarden naar andere centra (die doorgaans Fungitell of Wako gebruiken) beperkt, en zo een extra illustratie vormt van het **brede gebrek aan standaardisatie tussen BDG-assays** dat we eerder al bespraken (Jaramillo A., 2025; Brown L., 2024).

3.3.4 Falcó-Roget et al., *Open Forum Infect Dis.* 2026

Falcó-Roget et al. combineerden BDG met PCR op een **niet-invasief staal**, in plaats van BAL-PCR zoals de eerder besproken studies. Bij 114 niet-HIV-immuungecompromitteerde patiënten met verdenking op PJP onderzochten de auteurs retrospectief de combinatie van serum-BDG (Wako-assay, cutoff 7 pg/mL) met **PCR op orale spoeling (OW-PCR)** specifiek gericht op de klinische realiteit waarin een bronchoscopie niet haalbaar is, bijvoorbeeld bij respiratoire insufficiëntie of ernstige trombocytopenie. Dit is relevant omdat net deze patiënten in de praktijk vaak geen BAL kunnen ondergaan, waardoor de klassieke BAL-PCR-BDG-combinatie (zoals bij Morjaria et al.) daar niet toepasbaar is.

Voor de PJP-classificatie hanteerden de auteurs de **EORTC/MSGERC 2021**-criteria (Lagrou et al., 2021): een 'probable' diagnose vereiste compatibele klinische symptomen, nieuwe of verergerde interstitiële afwijkingen op beeldvorming, én een positieve BAL-PCR. Deze laatste betrof een **rtPCR** op twee gecombineerde targets (het **single-copy nucleaire dihydropteroate synthase (DHPS)-gen** en het **multicopy mtSSU-gen**) met CT-gebaseerde afkapwaarden per target (DHPS <36,8; mtSSU <30,9), eveneens kwalitatief geïnterpreteerd zonder omzetting naar een kwantitatieve fungal load. Kolonisatie werd gedefinieerd als een positieve PCR bij een alternatieve diagnose met klinische verbetering zonder specifieke behandeling, al erkennen de auteurs zelf dat deze definitie subjectieve elementen bevat.

Een tweede nieuw element is het gebruik van de **Wako-assay** in plaats van Fungitell: de auteurs benadrukken zelf dat de meeste eerdere literatuur over gecombineerde BDG-PCR-strategieën gebaseerd is op Fungitell in gemengde HIV/niet-HIV-populaties, terwijl data over de Wako-test specifiek bij niet-HIV-patiënten tot dusver beperkt bleven.

Het derde en voor onze hoofdvraag meest waardevolle nieuwe element is dat de auteurs, in tegenstelling tot de meeste andere studies die enkel diagnostische cijfers rapporteren, een concreet en direct toepasbaar **beslissingsalgoritme** voorstellen op basis van gelijktijdige bepaling van BDG en OW-PCR: zijn beide testen negatief, dan wordt PJP uitgesloten; zijn beide positief, dan wordt PJP bevestigd; bij discordante resultaten is een bronchoscopie (indien haalbaar) aangewezen, samen met een zorgvuldige klinische risico-inschatting. Bij toepassing van deze regel bereikte de combinatie van beide testen een sensitiviteit van 90,9%, specificiteit en PPV van 100% en NPV van 97,3%, met een globale diagnostische accuraatheid van 97,9%, een duidelijke verbetering ten opzichte van BDG alleen (PPV slechts 51,9%) of OW-PCR alleen (PPV 73,3%).

3.3.5 Deel besluit

Deze vier studies illustreren samen zowel de klinische meerwaarde als de blijvende methodologische versnippering van de gecombineerde BDG-PCR-strategie voor PJP. Consistent over alle vier de studies heen blijkt dat een geïsoleerd positieve BDG onvoldoende specifiek is om PJP te bevestigen, terwijl combinatie met PCR (ofwel sequentieel binnen een PCR-positieve subgroep (Morjaria, Huang, Li), ofwel simultaan met een niet-invasief PCR-staal (Falcó-Roget)) de specificiteit en PPV telkens aanzienlijk verbetert, doorgaans zonder groot sensitiviteitsverlies.

Tegelijk tonen de studies aan dat deze meerwaarde sterk contextafhankelijk blijft: de optimale BDG-cutoff verschuift naargelang patiëntenpopulatie (oncologisch, IZ, ambulant), aanwezige confounders en gebruikte assay (Fungitell vs. Wako vs. minder gangbare kits), zonder dat één universeel afkappunt naar voor komt.

Bovendien hanteren de studies onderling verschillende, niet steeds EORTC/MSGERC-conforme referentiestandaarden (Morjaria: EORTC/MSG 2008; Huang: eigen algoritme; Li: gemodificeerde EORTC/MSGERC 2019 zonder BDG; Falcó-Roget: EORTC/MSGERC 2021), en definiëren ‘kolonisatie’ niet steeds op dezelfde, of zelfs geen, expliciete manier. Deze heterogeniteit in referentiestandaarden, PCR-targets en BDG-assays bemoeilijkt directe vergelijkbaarheid tussen studies en onderstreept, in lijn met het eerder besproken gebrek aan assay-standaardisatie, dat een gecombineerde BDG-PCR-interpretatie voorlopig lokaal gevalideerd en klinisch gecontextualiseerd moet worden, eerder dan generiek toegepast op basis van fabrikantcutoffs alleen.

Voor AZ Groeninge is dit bijzonder relevant: van de vier besproken studies gebruikte enkel Falcó-Roget et al. de Wako-assay (dezelfde test die via de verzendtest naar UZ Leuven ook in onze eigen workflow wordt ingezet). De meest uitgebreide combinatie-evidentie (Morjaria, Huang, Li) is daarentegen gebaseerd op Fungitell of minder gangbare kits, en kan dus niet zonder meer naar onze eigen, Wako-gebaseerde praktijk worden geëxtrapoleerd.

3.4 Combinatie met klinische pretestkansen: een ruimere benadering

Een tweede piste voor het interpreteren van een BDG-uitslag naast PCR is de combinatie van BDG met een klinische predictieregel, zoals de ‘PCP Score’ van Mappin-Kasirer et al. (2024) en het daarop voortbouwende tweetrapsmodel van Lee et al. (2025), eerder al besproken in Vraag 1. Het is echter belangrijk dit te onderscheiden van de combinatievraag die in 3.3 werd besproken: de ‘PCP Score’ combineert BDG met de **klinische pretestkansen** op PJP (gebaseerd op gastheerfactoren, LDH, radiologie en profylaxegebruik), niet met een reeds beschikbare, dubbelzinnige **PCR-uitslag**. Dit zijn dus twee verschillende toepassingen van hetzelfde onderliggende idee (een cutoff die afhangt van de context waarin BDG wordt geïnterpreteerd), maar ze zijn methodologisch niet uitwisselbaar en evenmin gevalideerd als gecombineerd model.

Concreet betekent dit dat het model van Lee et al. relevant is voor de vraag ‘moet ik bij deze patiënt überhaupt BDG aanvragen, en hoe interpreteer ik die uitslag?’, terwijl 3.3 de vraag beantwoordt ‘ik heb al een PCR-uitslag, voegt een bijkomende BDG-bepaling hier nog iets toe?’. Beide vragen zijn klinisch relevant, maar vereisen een apart antwoord: een patiënt met een lage ‘PCP-score’ en een intermediaire PCR-uitslag bevindt zich mogelijk in de grijze zone van beide testmethoden tegelijk, zonder dat er momenteel een gevalideerd, geïntegreerd model bestaat dat pretestkansen, PCR-fungal load én BDG-uitslag gezamenlijk in rekening brengt. **Een dergelijk gecombineerd drie-**

componentenmodel zou in theorie de diagnostische onzekerheid in de grijze zone verder kunnen reduceren, maar is, voor zover in ons literatuuronderzoek teruggevonden, tot op heden niet prospectief onderzocht of gevalideerd.

3.5 Antwoord op de hoofdvraag en aanbeveling voor AZ Groeninge

3.5.1 Stellingname

De literatuur suggereert dat de toevoeging van serum-BDG bijdraagt aan een betere specificiteit en PPV in de klinisch meest relevante situatie: een positieve of intermediaire PCR waarbij het onderscheid tussen kolonisatie en actieve infectie onduidelijk blijft. Enkel Falcó-Roget et al. kwantificeerden deze meerwaarde rechtstreeks tegenover de afzonderlijke testen, met een duidelijk hogere diagnostische zekerheid voor de gecombineerde aanpak dan voor BDG of PCR afzonderlijk; de overige studies tonen deze meerwaarde eerder impliciet, via de sterke specificiteit en PPV die BDG bereikt net binnen bijvoorbeeld de diagnostisch onzekere, PCR-positieve subgroep.

3.5.2 Niveau van evidentie

Deze aanbeveling steunt op een beperkt evidentieniveau. Voor de combinatievraag specifiek bestaat geen enkele gerandomiseerde gecontroleerde studie, en evenmin een systematische review of meta-analyse (zie 3.2). Dit werd bevestigd door Zhang et al. zelf. De beschikbare evidentie bestaat uitsluitend uit vier retrospectieve, single- of dual-center cohortstudies, met verschillende referentiestandaarden, PCR-targets en BDG-assays (zie 3.3.5). Volgens de gangbare niveaus van diagnostisch bewijs is dit dus relatief zwakke evidentie: het gaat om retrospectieve cohortstudies, zonder onafhankelijke of geblindeerde validatie. Dit rechtvaardigt een voorzichtige aanbeveling, eerder dan een stellige uitspraak.

3.5.3 Concreet voorstel voor AZ Groeninge

Op basis van dit geheel stellen wij voor om BDG niet routinematig bij elke PJP-PCR-aanvraag te bepalen, maar **gericht in te zetten bij specifieke klinische situaties**, waarbij de uitslag steeds samen met de klinische gegevens en andere diagnostische bevindingen geïnterpreteerd wordt, en nooit op zichzelf staand:

- **Sterk positieve PCR met overtuigend klinisch beeld:** hier biedt BDG weinig bijkomende waarde; de diagnose kan doorgaans op PCR en kliniek alleen gesteld worden.
- **Negatieve PCR bij hoge klinische verdenking:** BDG kan hier bijkomend bevestigend werken, gezien de sterke negatief voorspellende waarde van beide testen, maar voegt verder weinig toe aan een reeds zeer sensitieve PCR. Die hoge NPV maakt BDG algemeen wel bruikbaar als argument om een empirisch gestarte behandeling te staken.
- **Intermediaire of zwak-positieve PCR (de 'grijze zone'):** dit is de situatie waarin BDG de grootste meerwaarde biedt om alsnog een onderbouwde uitspraak te doen over kolonisatie versus actieve infectie, en waar wij dus aanbevelen BDG systematisch te bepalen.
- **Vermoeden van PJP wanneer een BAL niet haalbaar is:** in deze situatie vormt BDG een minimaal invasief alternatief dat (gecombineerd met PCR op een niet-invasief staal) alsnog een onderbouwde diagnostische inschatting toelaat.

Wat de cutoff betreft: aangezien AZ Groeninge via UZ Leuven gebruikmaakt van de Wako-assay, en enkel Falcó-Roget et al. deze specifieke assay in een combinatiestrategie valideerden (cutoff 7 pg/mL, op OW-PCR in plaats van BAL-PCR), raden wij af om de Fungitell-gebaseerde cutoffs uit de bovenstaande artikels ongewijzigd over te nemen. Voorlopig lijkt de fabrikantcutoff van de Wako-assay (11 pg/mL, of het lokaal bij UZ Leuven gehanteerde afkappunt: serum-BDG $\leq$ 7.0 pg/mL) de meest verdedigbare keuze in afwachting van eigen Wako-specifieke gevalideerde data.

3.6 Limitaties van deze CAT

Deze CAT steunt op een gerichte, maar niet volledig systematische literatuurzoekactie: er werd geen methodologie gevolgd conform de Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA), geen formele risk-of-bias-beoordeling van de individuele studies uitgevoerd (bijvoorbeeld via de QUADAS-2), en geen dubbele, onafhankelijke studietoets toegepast. Daarnaast bestaat er, voor zover teruggevonden, geen gevalideerd model dat klinische pretestkansen, PCR-fungale load en BDG-uitslag gezamenlijk combineert, waardoor onze aanbeveling noodgedwongen op afzonderlijke, niet volledig geïntegreerde bouwstenen berust.

3.7 Kennishiaten en toekomstacties

- Voor de Wako-assay worden reeds gevalideerde, uitsluitende cutoffs beschreven. Een analoog gevalideerde, hogere cutoff voor bevestigend gebruik bij een zwak/intermediair-positieve PCR ontbreekt echter.
- Er bestaat geen gestandaardiseerde PCR-afkapwaarde(n) om kolonisatie van infectie, al dan niet met een grijze zone, te onderscheiden op basis van fungale load, wat de definitie van een 'zwak-positieve' PCR aan zich al bemoeilijkt.
- Een kosteneffectiviteitsanalyse van systematische versus gerichte BDG-bepaling specifiek bij zwak/intermediair-positieve PCR-resultaten ontbreekt vooralsnog.

COMMENTS

/

TO DO/ACTIONS

- I) Aansluitend op bovenstaande literatuurstudie is er momenteel ook een eigen analyse lopende binnen het AZ Groeninge, die de besproken kennishiaten (cfr. 3.7) lokaal tracht te belichten. Het betreft een prospectieve, monocentrische studie (01/10/2025-30/09/2026) van consecutieve BDG- en PJP-PCR-bepalingen, met de volgende aandachtspunten:
- **Data-verzameling:** alle BDG-aanvragen includeren (ongeacht onderliggende aandoening); per aanvraag registreren of BDG positief was, of gelijktijdig een *P. jirovecii*-PCR werd aangevraagd, en of deze eveneens positief was.
 - **Episode-definitie:** een testepisode = BDG-bepaling ≥ 30 dagen na een voorgaande bepaling, tijdens een afzonderlijke hospitalisatie; per episode enkel het eerste positieve staal weerhouden.
 - **Testmethode BDG:** Wako-assay met fabrikant-cutoff.
 - **Retrospectieve dossieranalyse:** per patiënt gastheergebonden factoren (immunusstatus, comorbiditeiten, immunosuppressiva), klinische criteria (symptomen, beeldvorming) en microbiologische criteria (microscopie, kwantitatieve PCR, BDG) verzamelen en classificeren als waarschijnlijk/onwaarschijnlijk / inconclusief / geen PJP, gebaseerd op de EORTC/MSGERC (Donnelly et al. (2020) en Lagrou et al. (2021)) met abstractie van PJP-PCR en BDG-resultaten.
 - **Evaluatie vals-positiviteit:** voor elk positief BDG-resultaat systematisch nagaan of interfererende factoren (Finkelman et al., 2021) aanwezig waren (o.a. bacteriëmie (*S. pneumoniae*, *A. faecalis*, *Pseudomonas*), antibiotica, bloedproducten, hemodialyse) en of het staal op een aparte dan wel reeds gemanipuleerde serumtube werd afgenomen (bijkomende contaminatiebron).
 - **Analysedoel:** nagaan in welke mate BDG bijdraagt tot het onderscheid tussen actieve PJP en kolonisatie in deze cohorte, en of specifieke gastheer-, klinische of microbiologische kenmerken geassocieerd zijn met een positief BDG- en/of PCR-resultaat.

ATTACHMENTS

/

- **Rhoads S**, Maloney J, Mantha A, Van Hook R, Henao-Martínez AF. Pneumocystis jirovecii Pneumonia in HIV-Negative, Non-transplant Patients: Epidemiology, Clinical Manifestations, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Curr Fungal Infect Rep*. 2024 Jun;18(2):125-135. doi: 10.1007/s12281-024-00482-8. Epub 2024 Jan 20. PMID: 38948111; PMCID: PMC11213562.
- **McMullan B**, Kim HY, Alastruey-Izquierdo A, Tacconelli E, Dao A, Oladele R, Tanti D, Govender NP, Shin JH, Heim J, Ford NP, Huttner B, Galas M, Nahrgang SA, Gigante V, Sati H, Alffenaar JW, Morrissey CO, Beardsley J. Features and global impact of invasive fungal infections caused by Pneumocystis jirovecii: A systematic review to inform the World Health Organization fungal priority pathogens list. *Med Mycol*. 2024 Jun 27;62(6):myae038. doi: 10.1093/mmy/myae038. PMID: 38935910; PMCID: PMC11210620.
- **Jaramillo Cartagena A**, Asowata OE, Ng D, Babady NE. An overview of the laboratory diagnosis of Pneumocystis jirovecii pneumonia. *J Clin Microbiol*. 2025 Mar 12;63(3):e0036124. doi: 10.1128/jcm.00361-24. Epub 2025 Feb 3. PMID: 39898657; PMCID: PMC11898755.
- **Calvet L**, Lemiale V, Mokart D, Peter S, Peter P, Demoule A, Mehta S, Kouatchet A, Rello J, Bauer P, Martin-Loeches I, Seguin A, Metaxa V, Bisbal M, Azoulay E, Darmon M. Interpretation of results of PCR and B-D-glucan for the diagnosis of Pneumocystis Jirovecii Pneumonia in immunocompromised adults with acute respiratory failure. *Ann Intensive Care*. 2024 Jul 31;14(1):120. doi: 10.1186/s13613-024-01337-8. PMID: 39083132; PMCID: PMC11291821.
- **Giardina FAM**, Ramus M, Campanini F, Lilleri D, Ferretti V, Pitrolo AMG, Vola A, Maserati R, Baldanti F, Paolucci S. Real-time polymerase chain reaction (PCR) for Pneumocystis jirovecii detection in lower respiratory tract samples. *Microbiol Spectr*. 2025 Dec 2;13(12):e0156325. doi: 10.1128/spectrum.01563-25. Epub 2025 Nov 6. PMID: 41195778; PMCID: PMC12671181.
- **Brown L**, Rautemaa-Richardson R, Mengoli C, Alanio A, Barnes RA, Bretagne S, Chen SCA, Cordonnier C, Donnelly JP, Heinz WJ, Jones B, Klingspor L, Loeffler J, Rogers TR, Rowbotham E, White PL, Cruciani M. Polymerase Chain Reaction on Respiratory Tract Specimens of Immunocompromised Patients to Diagnose Pneumocystis Pneumonia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2024 Jul 19;79(1):161-168. doi: 10.1093/cid/ciae239. PMID: 38860786; PMCID: PMC11259226.
- **Gits-Muselli M**, White PL, Mengoli C, Chen S, Crowley B, Dingemans G, Fréal E, L Gorton R, Guiver M, Hagen F, Halliday C, Johnson G, Lagrou K, Lengerova M, Melchers WJG, Novak-Frazer L, Rautemaa-Richardson R, Scherer E, Steinmann J, Cruciani M, Barnes R, Donnelly JP, Loeffler J, Bretagne S, Alanio A. The Fungal PCR Initiative's evaluation of in-house and commercial Pneumocystis jirovecii qPCR assays: Toward a standard for a diagnostics assay. *Med Mycol*. 2020 Aug 1;58(6):779-788. doi: 10.1093/mmy/myz115. PMID: 31758173.
- **Pham D**, Sivalingam V, Tang HM, Montgomery JM, Chen SC, Halliday CL. Molecular Diagnostics for Invasive Fungal Diseases: Current and Future Approaches. *J Fungi (Basel)*. 2024 Jun 26;10(7):447. doi: 10.3390/jof10070447. PMID: 39057332; PMCID: PMC11278267.
- **Lagrou K**, Chen S, Masur H, Viscoli C, Decker CF, Pagano L, Groll AH. Pneumocystis jirovecii Disease: Basis for the Revised EORTC/MSGERC Invasive Fungal Disease Definitions in Individuals Without Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis*. 2021 Mar 12;72(Suppl 2):S114-S120. doi: 10.1093/cid/ciaa1805. PMID: 33709126; PMCID: PMC8243279.
- **Del Corpo O**, Butler-Laporte G, Sheppard DC, Cheng MP, McDonald EG, Lee TC. Diagnostic accuracy of serum (1-3)- β -D-glucan for Pneumocystis jirovecii pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2020 Sep;26(9):1137-1143. doi: 10.1016/j.cmi.2020.05.024. Epub 2020 May 30. PMID: 32479781.
- **Corsi-Vasquez G**, Ostrosky-Zeichner L, Pilkington EF 3rd, Sax PE. Point-Counterpoint: Should Serum β -d-Glucan Testing Be Used for the Diagnosis of Pneumocystis jirovecii Pneumonia? *J Clin Microbiol*. 2019 Dec 23;58(1):e01340-19. doi: 10.1128/JCM.01340-19. PMID: 31434728; PMCID: PMC6935916.
- **Alanio A**, Gits-Muselli M, Guigue N, Denis B, Bergeron A, Touratier S, Hamane S, Bretagne S. Prospective comparison of (1,3)-beta-D-glucan detection using colorimetric and turbidimetric assays for diagnosing invasive fungal disease. *Med Mycol*. 2021 Sep 3;59(9):882-889. doi: 10.1093/mmy/myab016. PMID: 33877326.
- **Mercier T**, Guldentops E, Patteet S, Beuselinck K, Lagrou K, Maertens J. Beta-d-Glucan for Diagnosing Pneumocystis Pneumonia: a Direct Comparison between the Wako β -Glucan Assay and the Fungitell

Assay. *J Clin Microbiol*. 2019 May 24;57(6):e00322-19. doi: 10.1128/JCM.00322-19. PMID: 30918045; PMCID: PMC6535610.

- **D'Ordine RL**, Garcia KA, Roy J, Zhang Y, Markley B, Finkelman MA. Performance characteristics of Fungitell STAT™, a rapid (1→3)-β-D-glucan single patient sample in vitro diagnostic assay. *Med Mycol*. 2021 Jan 4;59(1):41-49. doi: 10.1093/mmy/myaa028. PMID: 32400855; PMCID: PMC7779209.
- **Cordier C**, Lauwerier N, Faure E, Poissy J, Rouzé A, François N, Vuotto F, Loridant S, Leroy J, Cornu M, Sendid B. Performance of Fungitell STAT point-of-care test for the diagnosis of invasive fungal diseases. *Med Mycol*. 2025 Jul 2;63(7):myaf050. doi: 10.1093/mmy/myaf050. PMID: 40459918.
- **Singh S**, Kanaujia R, Agnihotri S, Kaur H, Chakrabarti A, Rudramurthy SM. The Comparative Evaluation of the Fujifilm Wako β-Glucan Assay and Fungitell Assay for Diagnosing Invasive Fungal Disease. *J Fungi (Basel)*. 2022 Dec 20;9(1):6. doi: 10.3390/jof9010006. PMID: 36675827; PMCID: PMC9861801.
- **De Carolis E**, Marchionni F, Torelli R, Angela MG, Pagano L, Murri R, De Pascale G, De Angelis G, Sanguinetti M, Posteraro B. Comparative performance evaluation of Wako β-glucan test and Fungitell assay for the diagnosis of invasive fungal diseases. *PLoS One*. 2020 Jul 29;15(7):e0236095. doi: 10.1371/journal.pone.0236095. PMID: 32726358; PMCID: PMC7390339.
- **Friedrich R**, Rappold E, Bogdan C, Held J. Comparative Analysis of the Wako β-Glucan Test and the Fungitell Assay for Diagnosis of Candidemia and *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *J Clin Microbiol*. 2018 Aug 27;56(9):e00464-18. doi: 10.1128/JCM.00464-18. PMID: 29899003; PMCID: PMC6113455.
- **Prosty C**, Luo OD, Khalaf R, Del Corpo O, McDonald EG, Lee TC. Diagnostic test accuracy of the Fungitell serum (1→3)-β-D-glucan assay for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2025 Apr;31(4):542-550. doi: 10.1016/j.cmi.2024.11.004. Epub 2024 Nov 12. PMID: 39536824.
- **Hänsel L**, Cornely OA, Koehler P. Integrating pre-test probability and β-D-glucan cut-offs to enhance accuracy in diagnosing pneumocystis pneumonia. *Clin Microbiol Infect*. 2025 Apr;31(4):497-499. doi: 10.1016/j.cmi.2025.01.021. Epub 2025 Jan 27. PMID: 39864661.
- **Mappin-Kasirer B**, Del Corpo O, Gingras MA, Hass A, Hsu JM, Costiniuk CT, Ezer N, Fraser RS, Lee TC, McDonald EG. Development of a clinical risk score for the prediction of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in hospitalised patients. *BMC Infect Dis*. 2024 Sep 27;24(1):1032. doi: 10.1186/s12879-024-09957-y. PMID: 39333914; PMCID: PMC11429489.
- **Lee TC**, Prosty C, Mappin-Kasirer B, McDonald EG. Optimizing use of the (1-3)-β-D-Glucan Assay for the Diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *CMI Communications*. 2025;2(1):10506.
- **Finkelman MA**. Specificity Influences in (1→3)-β-d-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. *J Fungi (Basel)*. 2020 Dec 29;7(1):14. doi: 10.3390/jof7010014. PMID: 33383818; PMCID: PMC7824349.
- **Morjaria S**, Babady NE. Maximizing the diagnostic potential of 1,3 beta-D-glucan assays for invasive fungal infections. *Clin Microbiol Newsl*. 2025.
- **Tschopp J**, Brunel AS, Spertini O, Croxatto A, Lamoth F, Bochud PY. High False-Positive Rate of (1,3)-β-D-Glucan in Onco-Hematological Patients Receiving Immunoglobulins and Therapeutic Antibodies. *Clin Infect Dis*. 2022 Aug 25;75(2):330-333. doi: 10.1093/cid/ciab1028. PMID: 34996098.
- **Wan X**, Liufu R, Weng L, Liu R, Li Y, Peng J, Kong L, Du B. Impact of intravenous immunoglobulins on serum (1-3)-β-D-glucan. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2023 Jul;106(3):115942. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2023.115942. Epub 2023 Mar 18. PMID: 37116242.
- **Egger M**, Prüller F, Raggam R, Divjak MK, Kurath-Koller S, Lackner H, Urban C, Strenger V. False positive serum levels of (1-3)-β-D-Glucan after infusion of intravenous immunoglobulins and time to normalisation. *J Infect*. 2018 Feb;76(2):206-210. doi: 10.1016/j.jinf.2017.10.017. Epub 2017 Nov 23. PMID: 29174967.
- **Theel ES**, Doern CD. β-D-glucan testing is important for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol*. 2013 Nov;51(11):3478-83. doi: 10.1128/JCM.01737-13. Epub 2013 Jul 12. PMID: 23850953; PMCID: PMC3889722.
- **Wong J**, Zhang Y, Swift O, Finkelman M, Patidar A, Ramanarayanan S, Vilar E, Farrington K. Beta-glucans in advanced CKD: role in endotoxaemia and inflammation. *BMC Nephrol*. 2020 Apr 6;21(1):118. doi: 10.1186/s12882-020-01779-9. PMID: 32252666; PMCID: PMC7137517.

- **Ellis M**, Al-Ramadi B, Finkelman M, Hedstrom U, Kristensen J, Ali-Zadeh H, Klingspor L. Assessment of the clinical utility of serial beta-d-glucan concentrations in patients with persistent neutropenic fever. *J. Med. Microbiol.* 2008, 57 Pt 3, 287–295.
- **Bigot J**, Vellaissamy S, Senghor Y, Hennequin C, Guitard J. Usefulness of β -d-Glucan Assay for the First-Line Diagnosis of Pneumocystis Pneumonia and for Discriminating between Pneumocystis Colonization and Pneumocystis Pneumonia. *J Fungi (Basel)*. 2022 Jun 24;8(7):663. doi: 10.3390/jof8070663. PMID: 35887420; PMCID: PMC9318034.
- **Zhang L**, Zheng C, Sun Y, Chen X, Wang Y, Xiang H, Liang Y, Wei F, Zhang Y. Diagnostic tests performance in detecting *Pneumocystis jirovecii*: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2025 Apr;44(4):789-805. doi: 10.1007/s10096-025-05051-6. Epub 2025 Feb 3. PMID: 39900713.
- **Fauchier T**, Hasseine L, Gari-Toussaint M, Casanova V, Marty PM, Pomares C. Detection of *Pneumocystis jirovecii* by Quantitative PCR To Differentiate Colonization and Pneumonia in Immunocompromised HIV-Positive and HIV-Negative Patients. *J Clin Microbiol*. 2016 Jun;54(6):1487-1495. doi: 10.1128/JCM.03174-15. Epub 2016 Mar 23. PMID: 27008872; PMCID: PMC4879311.
- **Morjaria S**, Frame J, Franco-Garcia A, Geyer A, Kamboj M, Babady NE. Clinical Performance of (1,3) Beta-D Glucan for the Diagnosis of *Pneumocystis Pneumonia* (PCP) in Cancer Patients Tested With PCP Polymerase Chain Reaction. *Clin Infect Dis*. 2019 Sep 27;69(8):1303-1309. doi: 10.1093/cid/ciy1072. PMID: 30561560; PMCID: PMC6763633.
- **Huang Y**, Yi J, Song JJ, Du LJ, Li XM, Cheng LL, Yan SX, Li HL, Liu YM, Zhan HT, Dou YL, Li YZ. Negative serum (1,3) - β -D-glucan has a low power to exclude *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PJP) in HIV-uninfected patients with positive qPCR. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2023 Nov 20;22(1):102. doi: 10.1186/s12941-023-00650-7. PMID: 37986091; PMCID: PMC10662630.
- **Li YY**, Chen Y, Li S, Dong R, Yang QW, Peng JM, Du B. Identifying optimal serum 1,3- β -D-Glucan cut-off for diagnosing *Pneumocystis Jirovecii* Pneumonia in non-HIV patients in the intensive care unit. *BMC Infect Dis*. 2024 Sep 20;24(1):1015. doi: 10.1186/s12879-024-09873-1. PMID: 39304817; PMCID: PMC11414112.
- **Falcó-Roget A**, Albasanz-Puig A, Pérez-González A, Serradell S, Guillén A, Díaz-Lagares C, Revilla E, Los-Arcos I, Len Ò, Ruiz-Camps I, Martín-Gómez MT. Combined Serum (1,3)- β -D-Glucan and Oral Wash PCR as a Noninvasive Diagnostic Strategy for Early Detection of *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia: An Observational Retrospective Study. *Open Forum Infect Dis*. 2026 Jan 29;13(2):ofag033. doi: 10.1093/ofid/ofag033. PMID: 41725705; PMCID: PMC12923328.
- **Donnelly JP**, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, Clancy CJ, Wingard JR, Lockhart SR, Groll AH, Sorrell TC, Bassetti M, Akan H, Alexander BD, Andes D, Azoulay E, Bialek R, Bradsher RW, Bretagne S, Calandra T, Caliendo AM, Castagnola E, Cruciani M, Cuenca-Estrella M, Decker CF, Desai SR, Fisher B, Harrison T, Heussel CP, Jensen HE, Kibbler CC, Kontoyiannis DP, Kullberg BJ, Lagrou K, Lamothe F, Lehrnbecher T, Loeffler J, Lortholary O, Maertens J, Marchetti O, Marr KA, Masur H, Meis JF, Morrissey CO, Nucci M, Ostrosky-Zeichner L, Pagano L, Patterson TF, Perfect JR, Racil Z, Roilides E, Ruhnke M, Prokop CS, Shoham S, Slavin MA, Stevens DA, Thompson GR, Vazquez JA, Viscoli C, Walsh TJ, Warris A, Wheat LJ, White PL, Zaoutis TE, Pappas PG. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis*. 2020 Sep 12;71(6):1367-1376. doi: 10.1093/cid/ciz1008. PMID: 31802125; PMCID: PMC7486838.