

# Invasieve pulmonaire aspergillose

Analytische & klinische vergelijking van de verschillende diagnosemogelijkheden

Marthe Vanrenterghem  
Microbiologie – AZ Sint Jan Brugge

Supervisie: Dr. Marijke Reynders

# Overzicht

- Inleiding : invasieve pulmonaire aspergillose
- Huidige diagnostische mogelijkheden (literatuur & AZ Sint-Jan Brugge)
- Retrospectieve analyse BAL-stalen (hematologie-populatie)



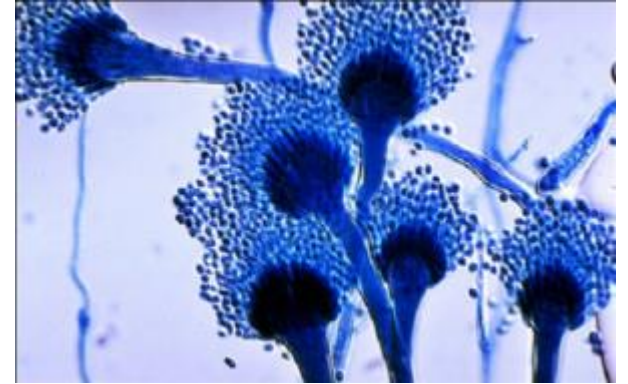
Wat is de plaats van een enkelvoudig positief PCR resultaat voor *Aspergillus fumigatus* binnen de hematologische patiëntenpopulatie?



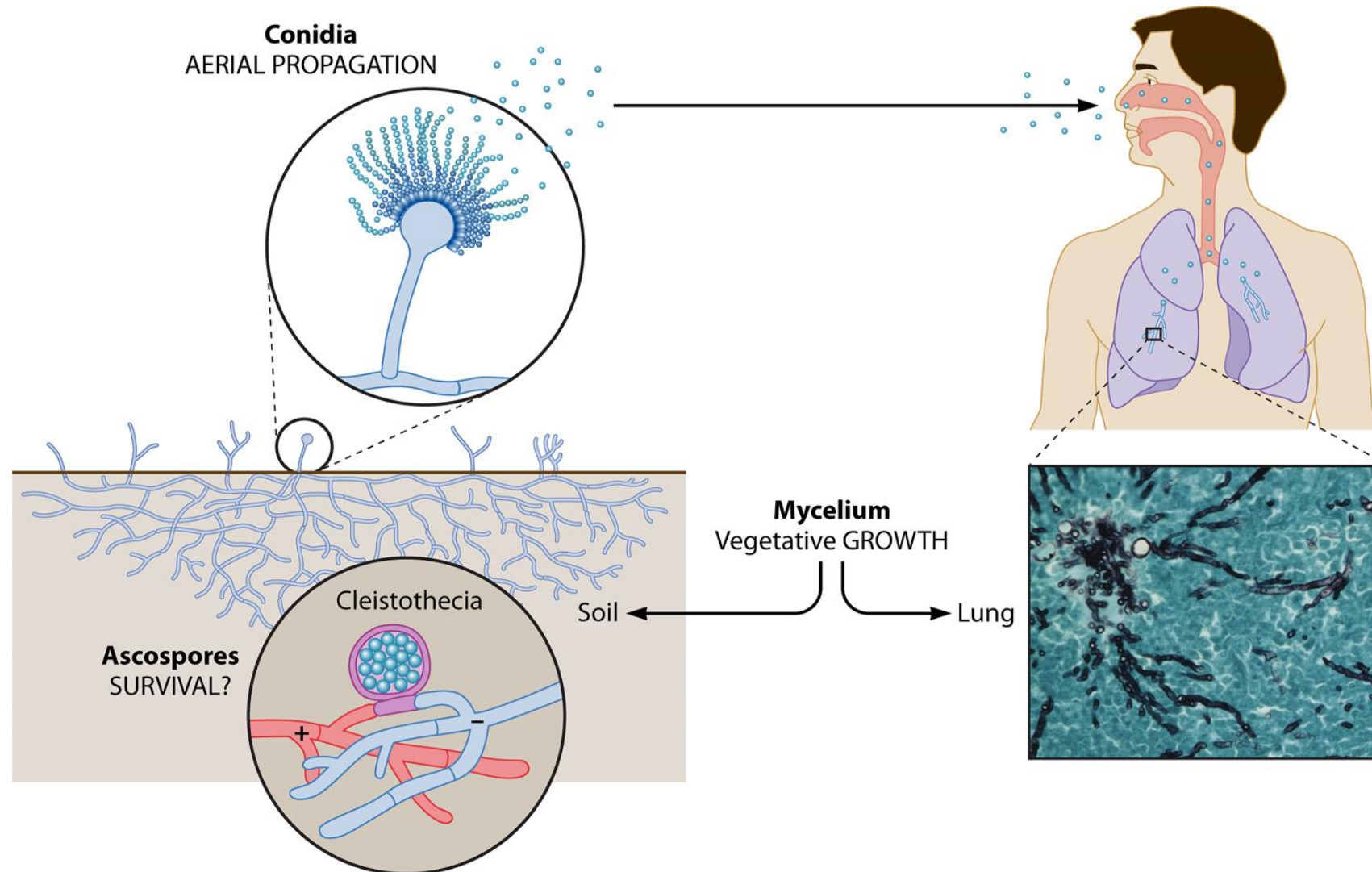
Invasieve aspergillose & COVID-19 : was er een toename van IPA in de post-virale setting?

# Inleiding - invasieve aspergillose

- Schimmelinfectie veroorzaakt door *Aspergillus spp.*
  - > 250 *Aspergillus* species
  - *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* en *A. niger*
- Breed klinisch spectrum
  - Allergische – en bronchopulmonaire syndromen tot invasieve, pulmonaire – en gedissemineerde infecties
- Immuungedeprimeerde populatie
  - HSCT en acute leukemie
  - Hoge morbiditeit en mortaliteit
- Intensieve zorgen
  - Post-virale infecties: COVID – 19 of influenza

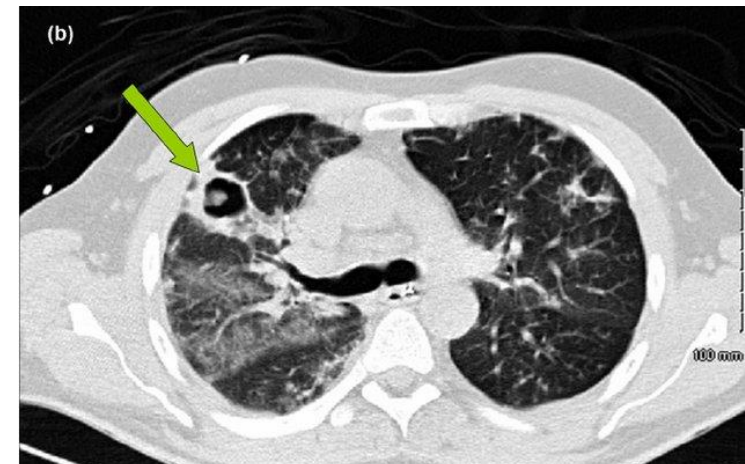


# Kliniek & pathofysiologie



# Kliniek & pathofysiologie

- Aspecifieke presentatie klinische en radiologische kenmerken
- Klinisch:
  - Koorts, hoesten, dyspneu, hemoptoë en/of pijn op de borst
  - Niet steeds aanwezig bij neutropene patiënten
- Radiologisch
  - “halo”-sign
  - Diffuse pulmonaire infiltraten
  - Matglas verdichtingen
  - Cavitaire letsels



# EORTC/MSG Guidelines

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

**Clinical Infectious Diseases® 2020;71(6):1367–76**

PROVEN

PROBABLE

POSSIBLE

Gastheerfactoren

Klinische kenmerken

Microbiologische criteria

### **Gastheerfactoren**

Neutropenie  
Allo-HSCT  
B / T- cel suppressie  
Corticosteroiden  
...

### **Klinische manifestaties**

Radiologische beeldvorming  
Nodules  
Halo-sign  
Consolidaties  
caviteit

### **Microbiologische evidentie**

Cultuur / rechtstreeks onderzoek / biopsie  
Galactomannan – 1,3 BDG  
PCR

## **PROVEN IA**

Histopathologisch bewijs  
conventionele cultuur

## **PROBABLE IA**

Gastheerfactoren

Klinische manifestaties

Microbiologische  
evidentie

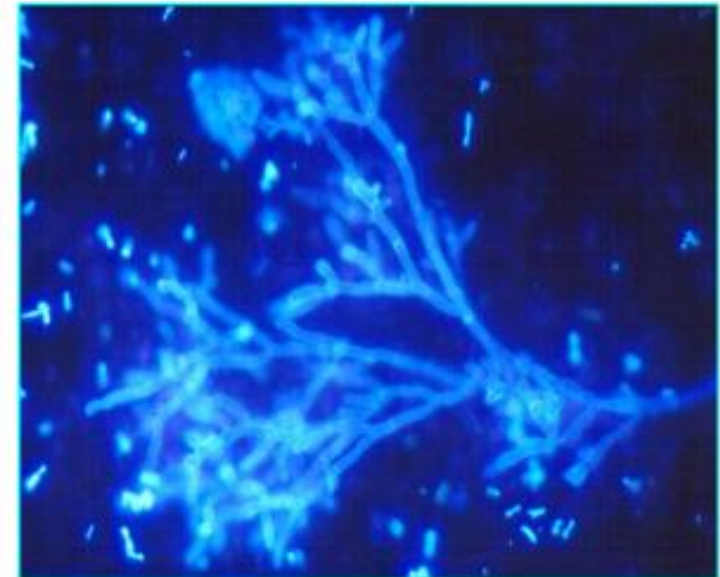
## **POSSIBLE IA**

Gastheerfactoren

Klinische manifestaties

# Diagnosemogelijkheden

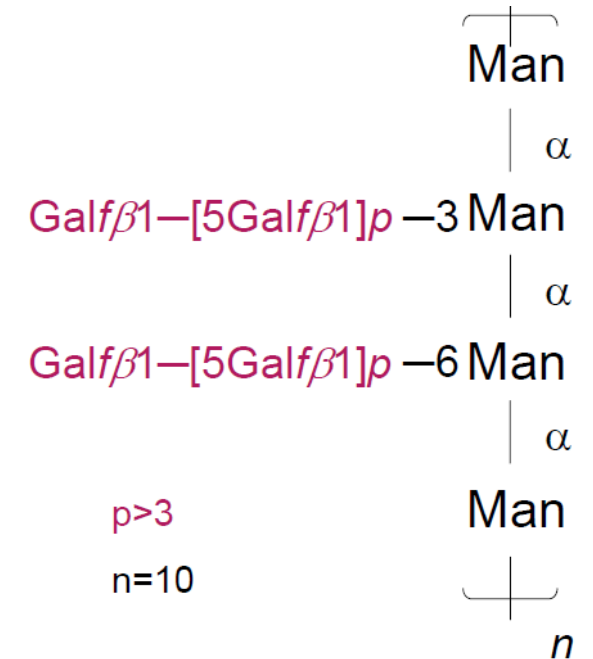
- Cultuur & RO
- Serologische bio-markers
  - **Galactomannan**
  - 1,3 B-D-G
- Lateral flow assay (LFA)
- Moleculaire diagnostiek: **PCR**





# Serologische bio-markers

- Galactomannan
- Heteropolysaccharide & majeure component celwand
- Release tijdens groei van de meeste *Aspergillus spp.*
- Double-sandwich enzyme immuno assay
  - IgM-antilichaam EB-A2 detecteert verschillende epitopen op  $\beta(1-5)$ -furanose-zijketens
- Serum/plasma, BAL



# Galactomannan

- Optical density index (ODI)

	Sensitiviteit	Specificiteit
CUT-OFF (BAL)		
0.5 ODI	0.82 - 0.87	0.89 – 0.92
1.0 ODI	0.75 – 0.86	0.94 – 0.95
1.5 ODI	0.70 – 0.92	0.95 – 0.98
2.0 ODI	0.61 – 0.84	0.95 – 0.96

# Galactomannan

- Patiëntenpopulatie
  - HSCTx, AML, neutropenie
- Invloed van antifungale therapie

	Sensitiviteit	Specificiteit
<b>Hematologische maligniteit</b>		
ja	0.85	0.91
nee	0.87	0.89
<b>Antifungale therapie of profylaxe</b>		
ja	0.76 – 0.85	0.89
nee	0.91	0.89

# PCR

- > 20 jaar ervaring
- European *Aspergillus* PCR initiative
  - EORTC / MSG 2020
- Serum / plasma / volbloed en BAL
  - Afhankelijk van het klinisch doel
  - Hoge NPV in screeningssetting op serum
  - Duplo analyse



# PCR

ASSAY <sup>22</sup>					
	PCR				
	Tuon	Sun <sup>28</sup>	Avni <sup>29</sup>	Mengoli <sup>30</sup>	Arvanitis <sup>31</sup>
Parameter	BAL			Bloed	
Sensitiviteit,%	78.4	79.6	76.8	88.0	84.0
Specificiteit,%	93.7	94.1	94.5	75.0	76.0
PPV,%	74.1	79.2	79.9	36.7	41.3
NPV,%	94.9	94.2	93.4	97.4	95.9

- Meerwaarde: identificatie tot op genus – en speciesniveau
- Opsporen van azole-resistentie
  - 1<sup>e</sup> – lijntherapie: voriconazole
  - Mutatie in het Cyp51A-gen
    - AsperGenius<sup>®</sup> en MycoGENIE<sup>®</sup>

# Diagnostische work-flow AZ Sint-Jan Brugge

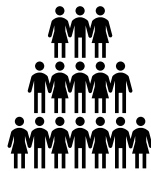
- **Galactomannan** (GM-EIA, Platela *Aspergillus* EIA, Bio-Rad)
  - Hematologie-pt: screening : min. wekelijkse analyse op serum
    - Positief resultaat: rerun ter confirmatie
  - Diagnostisch : BAL – procedure
  - Conventionele kweek en rechtstreeks onderzoek
- *Aspergillus fumigatus* **PCR**
  - TaqMan Low Density card – In house respiratoir screeningspaneel
  - 22 respiratoire DNA/RNA virussen, 9 bacteriën en 2 fungi

# Retrospectieve analyse



Wat is de plaats van een enkelvoudig zwak positief PCR resultaat voor *Aspergillus fumigatus* binnen de hematologische patiëntenpopulatie?

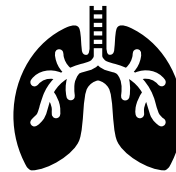
- Analyse van BAL stalen (2014 – 2021) :
  - hematologiepatiënten
  - **Voorwaarde:**  
aanvraag GM én PCR *A. fumigatus* (respiratoire multiplex) op éénzelfde staal



71 patiënten

Gastheerfactoren

Radiologische tekens  
CT



BAL

Mycologische evidentie  
RO / cultuur  
GM  
PCR

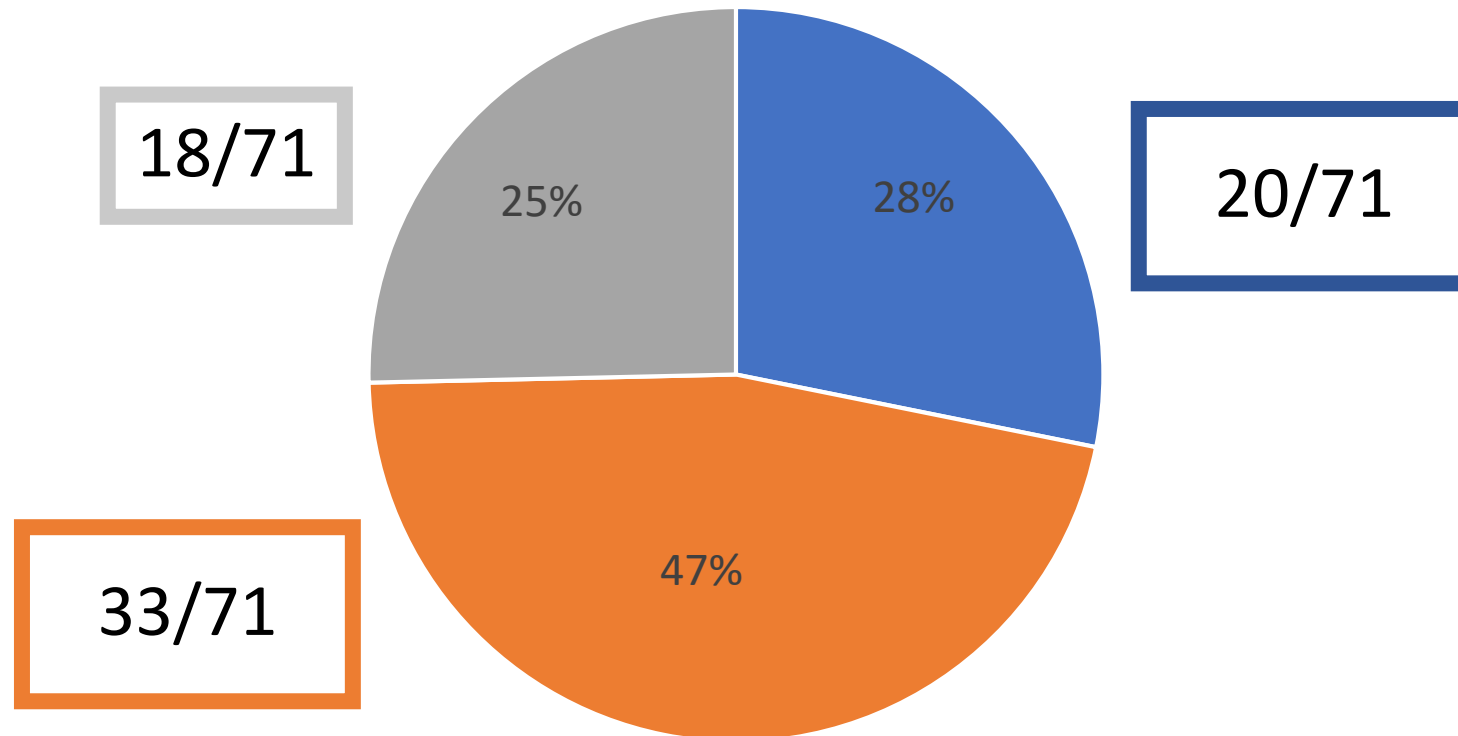
Gastheerfactoren

Radiologische tekens  
CT

Mycologische  
evidentie

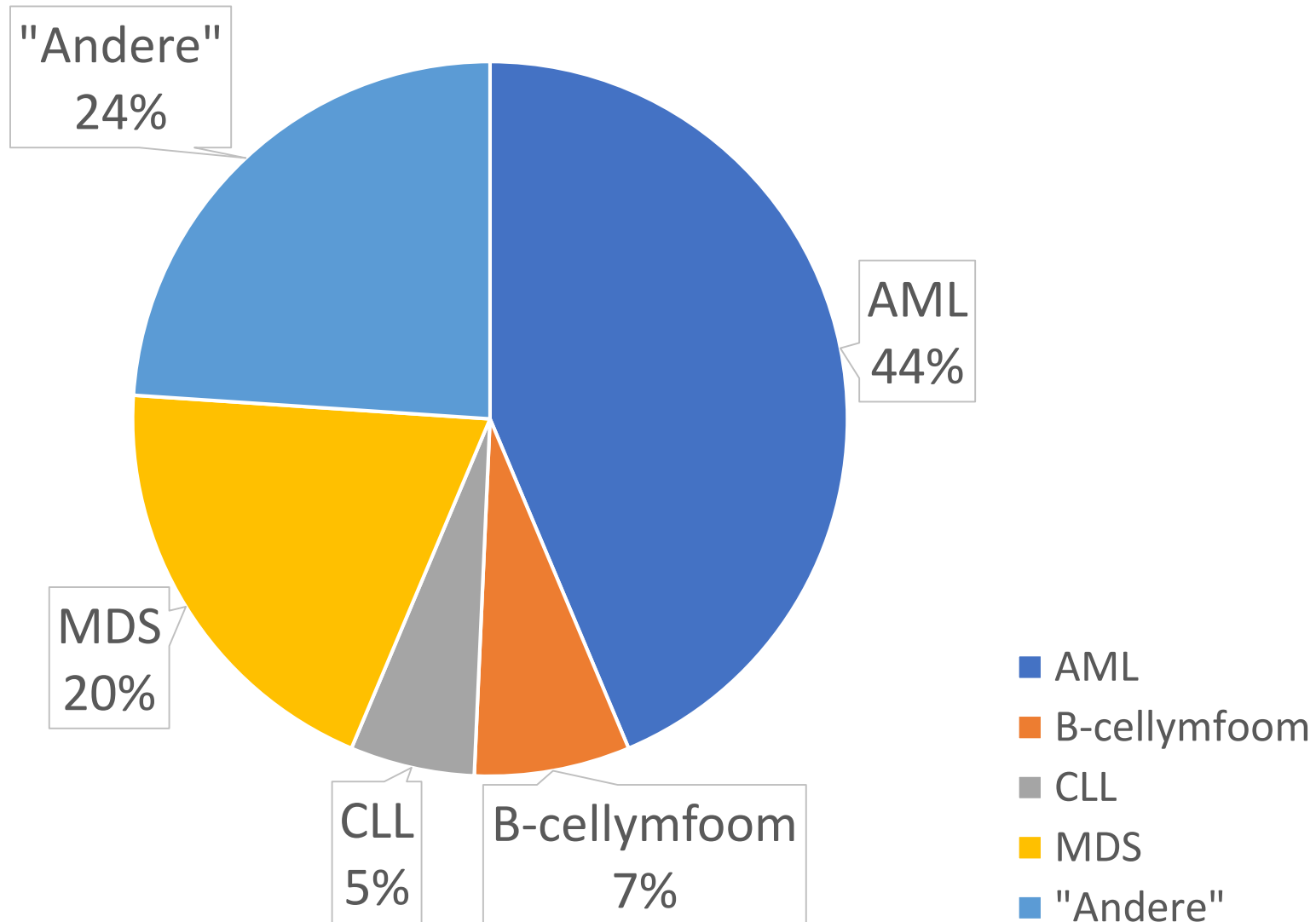
Indeling patiëntenpopulatie volgens  
EORTC/ MSG richtlijnen  
n = 71 (100%)

■ Proven + probable    ■ Possible    ■ No IA





Verdeling hematologische maligniteit (N=71)



# Mycologische criteria

Mycologische evidentie  
RO / cultuur  
GM  
PCR  
**N=71**

# Mycologische criteria

Mycologische evidentie  
RO / cultuur  
GM  
PCR  
**N=71**

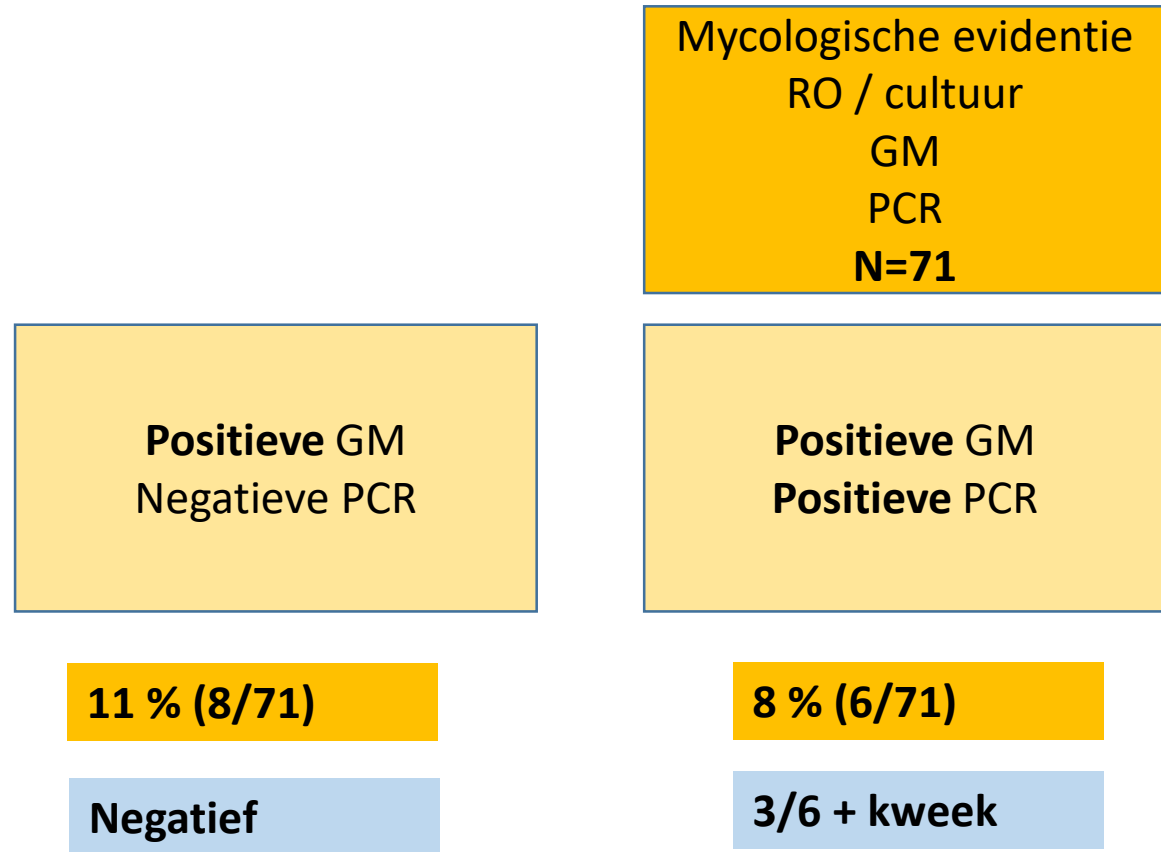
**Positieve GM**  
Negatieve PCR

**11 % (8/71)**

**Kweek en RO**

**Negatief**

# Mycologische criteria



Kweek en RO

Negatief

3/6 + kweek

# Mycologische criteria

Mycologische evidentie  
RO / cultuur  
GM  
PCR  
N=71

Positieve GM  
Negatieve PCR

11 % (8/71)

Negatief

Positieve GM  
Positieve PCR

8 % (6/71)

3/6 + kweek

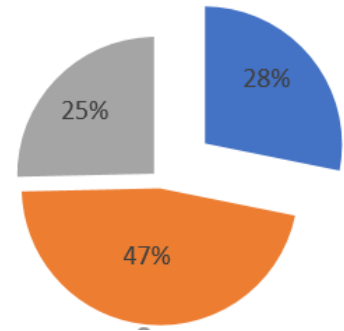
Negatieve GM  
Positieve PCR

8 % (6/71)

Negatief

Kweek en RO

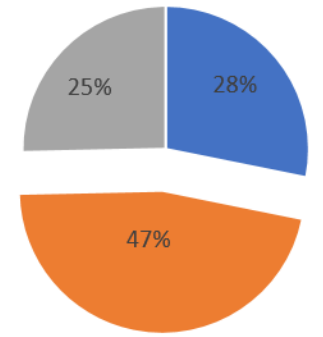
# Mycologische criteria



Positieve GM Negatieve PCR	11 % (8/71)
Positieve GM Positieve PCR	8 % (6/71)
Negatieve GM Positieve PCR	8 % (6/71)

- “proven” / “probable” IPA (20/71)
  - Geen herhaalde PCR
- Antifungale therapie
  - Voriconazole
  - Caspofungine + voriconazole
- Positieve PCR
  - Allen als IPA klinisch geclassificeerd
  - Allen behandeld

# Mycologische criteria



## POSSIBLE IA

Gastheerfactoren

Klinische manifestaties

**Geen mycologische  
evidentie**

- Possible IPA (33/71)
  - 17 patiënten met antifungale therapie (AFT) behandeld
- No evidence (18/71)
  - 2/18 AFT

*Pneumocystis jirovecii* (PJP)  
bacteriële pneumonie  
Influenza - B

Negatieve GM  
Positieve PCR

# Enkelvoudige positieve PCR

Analyse Ct-waarden : + PCR en negatieve GM

PCR	Ct-waarde	GM-EIA (ODI)
<i>Aspergillus fumigatus</i>		
Zwak positief	35.0	0,42
Zwak positief	37.0	0,10
Positief	32.0	0,38
Zwak positief	37.0	0,97
Zwak positief	35.0	0,06
Zwak positief	35.0	0,81

5/6 : Ct waarde 35,0 - 37,0

Analyse Ct-waarden : + PCR en + GM

PCR	Ct-waarde	GM-EIA (ODI)
<i>Aspergillus fumigatus</i>		
Positief	34.0	>5.0
Positief	22.0	>5.0
Positief	26.0	>5.0
Positief	25.0	>5.0
Positief	34.0	2,1
Zwak positief	35.0	3,08

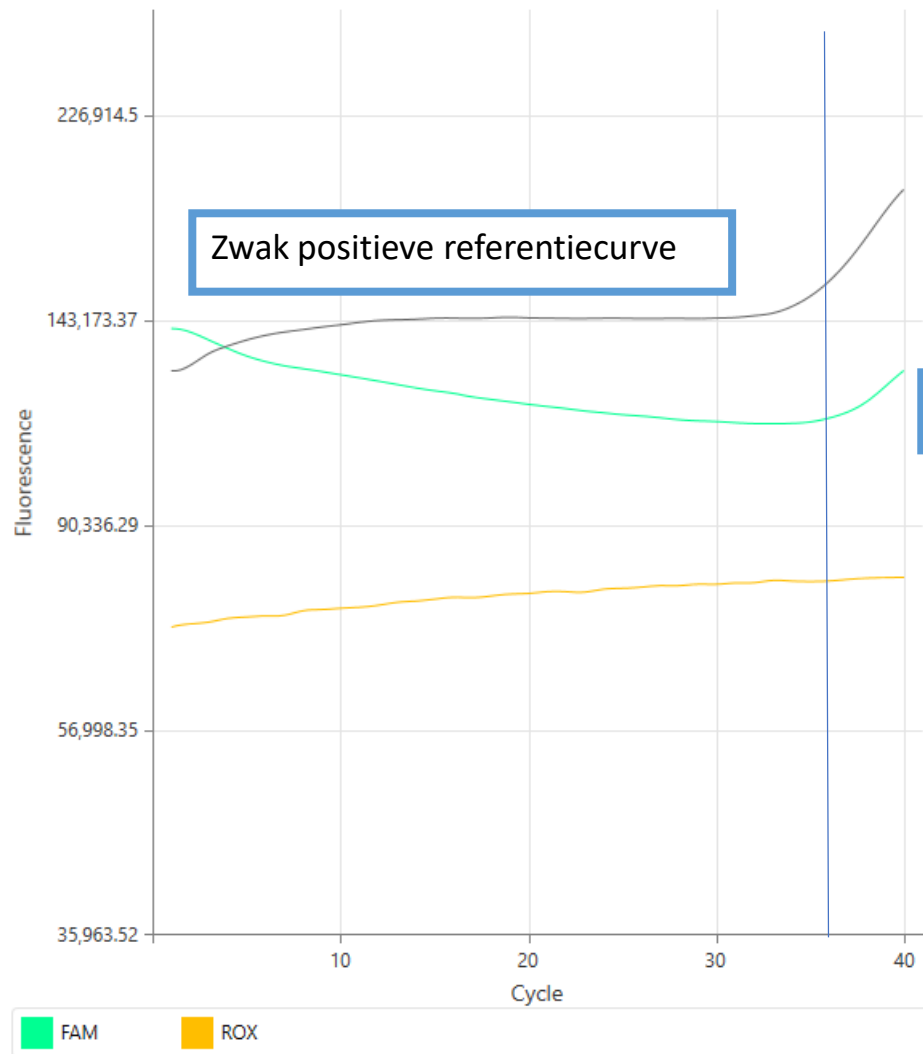
Ct waarde 22,0 - 35,0



Negatieve GM  
Positieve PCR

Amplification curves

P N Ref ▾ 🏠 ⚙️ 🔍






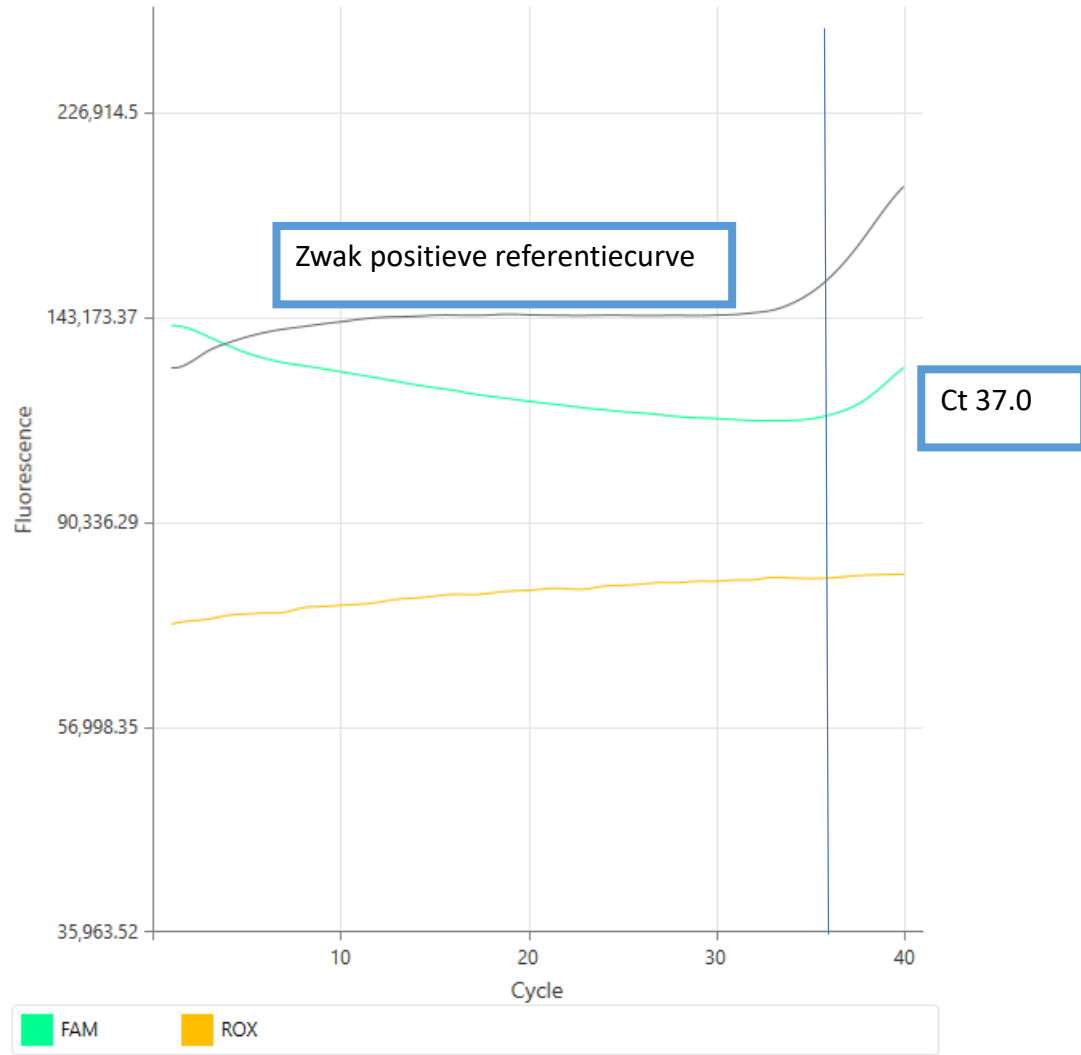
## Zwak positief

Zwak signaal, mogelijk van **beperkt klinisch belang**. Het kan hier gaan om dragerschap of contaminatie uit de omgeving, maar anderzijds tevens om een vroege fase van invasieve pulmonaire aspergillose in risicopopulaties (hemato-onco, ICU, post-influenza infectie, HD corticosteroiden, therapie met "biologicals", COPD,...).

**Te toetsen aan Ag GM resultaat in BAL** (en serum waar geïndiceerd), kliniek, beeldvorming, risicofactoren en eventueel andere aanvullende onderzoeken.”

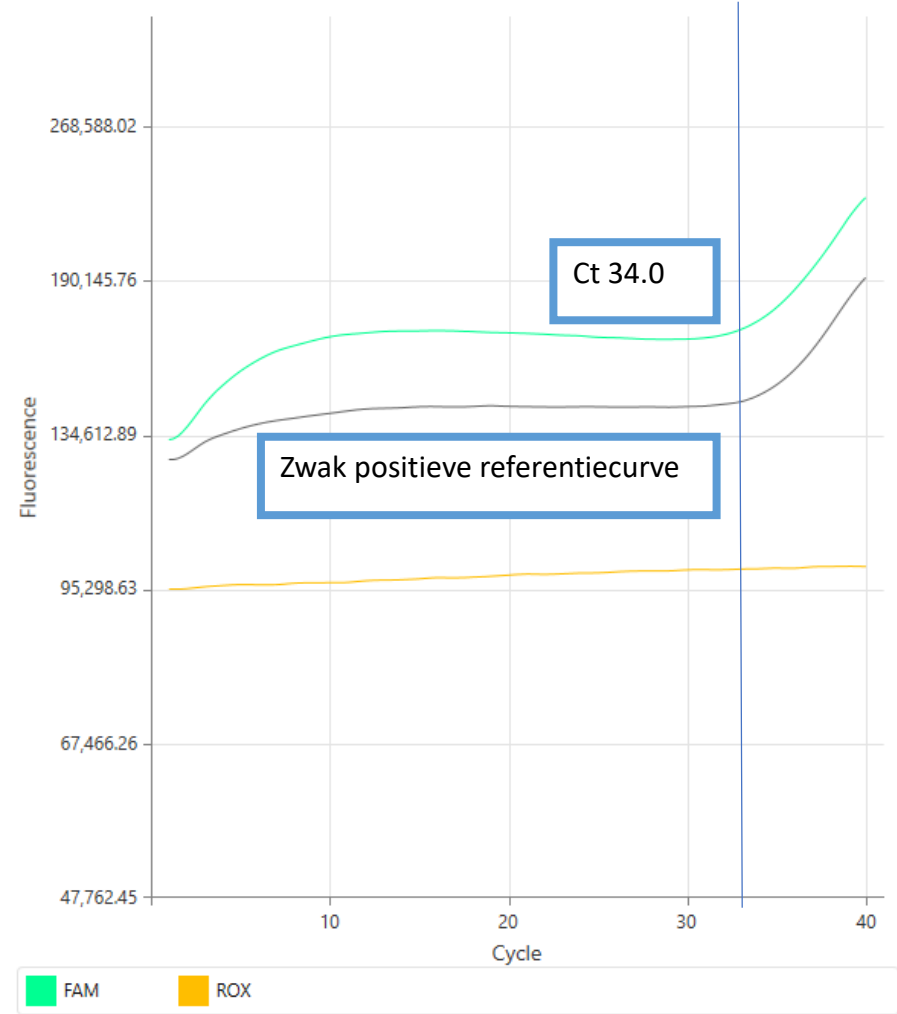
Amplification curves

P N Ref   



Amplification curves

P N Ref   





**Algoritme PCR  
*Aspergillus fumigatus***

**Positieve PCR Ct > 35,0**

**Bijaanvraag: GM-EIA**

**Positief**

**CT Thorax  
Klinische evaluatie**

**Start antifungale  
therapie**

**Zwak positief**

**Negatief**

**Radiologische  
opvolging CT Thorax**

**Afwachtende  
houding AFT**

**Twijfelachtig**

**Positieve PCR Ct ≤ 35,0**

**(Bijaanvraag: GM-EIA)**

**CT Thorax  
Klinische evaluatie**

**Start antifungale  
therapie**

**Positief**

# Invasieve pulmonaire aspergillose & COVID-19

- IPA in de post-virale setting (intensieve zorgen)
  - Influenza geassocieerde pulmonaire aspergillose (IAPA)
    - Incidentieratio (IZ): 19%
    - 90 dagen mortaliteit: 51 % VS 28% geen IAPA
  - COVID-19 geassocieerde pulmonaire aspergillose (CAPA)
    - Incidentie: 3-33%
    - Gelijkaardige mortaliteit beschreven
    - Mechanische ventilatie
    - Zonder voorafbestaande gastheerfactoren
  - Bronchoscopie?
  - Bronchusaspiraatsputa & hoog respiratoire stalen
    - Surveillance staal als trigger

**Onafhankelijke risicofactor**

# CAPA in ICU AZ Sint-Jan

- 40 COVID—19 patiënten : BAL (februari 2020 – april 2021)
  - 7/40 (17,5%) : + galactomannan & + PCR

Analyse Ct-waarden : stalen positieve PCR en positieve GM		
PCR <i>Aspergillus fumigatus</i>	Ct-waarde	GM-EIA (ODI)
Positief	29,25	1,81
Zwak positief	35,0	1,97
Positief	34,27	2,12
Positief	26,91	>4
Positief	30,97	>5
Positief	26,81	>5
Positief	30,69	>4

Ct waarde 26,25 – 35,0  
(5 stalen Ct ≤ 30)

# CAPA in ICU AZ Sint-Jan

- Mechanische ventilatie
- 10 dagen dexamethasone
  - RECOVERY – TRIAL
- Voriconazole therapie
  - TDM
- Geen gedefinieerde gastheerfactoren
- 2/7 structureel bronchiaal lijden (Astma, COPD gold IV)

Surveillancestaal  
= trigger

# Besluit / TO DO



- Waarde enkelvoudige zwak positieve PCR = onduidelijk
  - Afwachtende houding voor het instellen van AFT
  - Sensitieve PCR in house – zwak signaal *A. fumigatus* DNA wordt opgepikt
  - Multicentrische studies – klinische impact aantonen zwak positief resultaat
    - Ct-waarde impliceert een IPA
- CAPA ook in onze populatie = risicofactor ontwikkeling van IPA
  - Surveillancestaal : nuttig in deze setting

Zijn er nog vragen?  
Bedankt voor jullie aandacht