

Sérologie aspergillaire, β -glucan, PCR Aspergillus, antigène galactomannane Pour qui ? Quand ? Qu'en faire ?

Pr C. Hennequin

Service de Parasitologie-Mycologie

Hôpital St Antoine



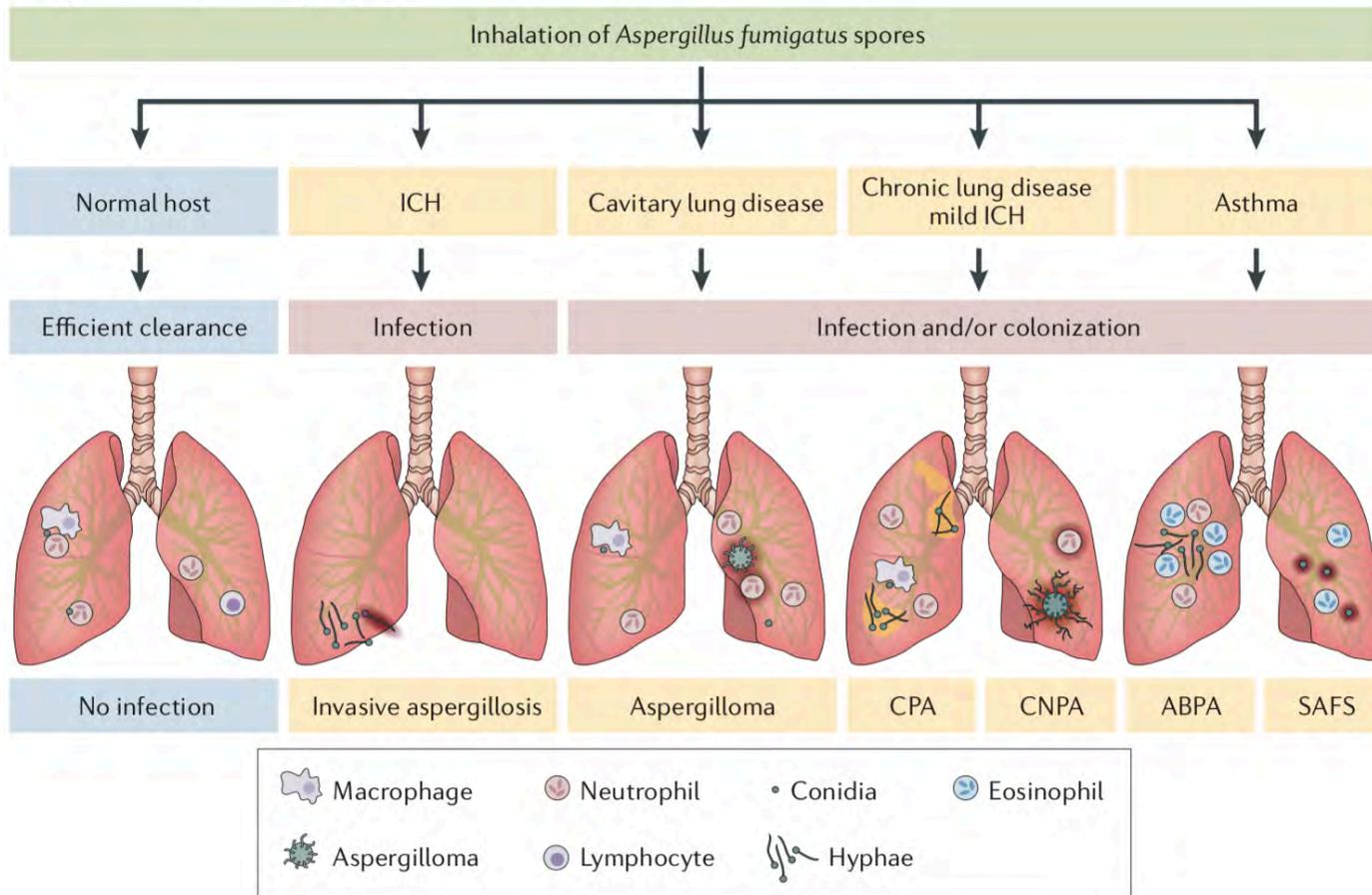
Liens d'intérêt

Orateur, congrès, contrat de recherche, valorisation

- Gilead
- Pfizer
- MSD
- Ademtech



Un *Aspergillus*-Des Aspergilloses



ICH, immunocompromised host
 CPA, chronic pulmonary aspergillosis
 CNPA, chronic necrotizing aspergillosis

Les aspergilloses en France

Table 1 Burden of serious fungal infections in France.
Poids épidémiologique des infections fongiques graves en France.

Infection	Number of infections per underlying disorder per year					Rate/100K	Total burden
	None/other	HIV/AIDS	Respiratory	Cancer/Tx	ICU		
ABPA	—	—	95,331	—	—	145	95,331
SAFS	—	—	124,678	—	—	189	124,678
Chronic pulmonary aspergillosis	—	—	3450	—	—	5.24	3450
Invasive aspergillosis	151	17	97	800	120	1.8	1185
Mucormycosis	10	—	—	69	—	0.12	79
<i>Pneumocystis</i> pneumonia	61	449	4	144	—	1	658
Candidaemia	533	28	85	1134	590	3.6	2370
Candida peritonitis	249	—	—	—	237	0.74	486
Oesophageal candidiasis	—	9075	—	?	—	13.8	9075
Recurrent vaginal candidiasis (4 ×/year +)	730,690	—	—	—	—	2220 ^a	730,690
Cryptococcosis	32	76	2	21	—	0.2	131
Total burden estimated	731,726	9645	223,647	2168	947		968,143

^a Rate for adult females only.

Une Aspergillose

Des tests diagnostiques

Diagnostic conventionnel vs Détection de biomarqueurs

Avantages/Inconvénients

- Facilité de mise en œuvre, rapidité du résultat

	Malades	Non malades
Test Positif	Vrai Positif	Faux Positif
Test Négatif	Faux Négatif	Vrai Négatif

Performances

- Sensibilité : $VP / (VP + FN)$
- Spécificité : $VN / (VN + FP)$
- Valeur Prédictive Positive : $VP / (VP + FP)$
- Valeur Prédictive Négative : $VN / (VN + FN)$

Update

Guidelines

ESCMID-ECMM guideline: diagnosis and management of invasive aspergillosis in neonates and children

A. Warris^{1, 7, 8, *}, T. Lehrnbecher^{2, 7, 8}, E. Roilides^{3, 7, 8}, E. Castagnola^{4, 7},
R.J.M. Brüggemann^{5, 7}, A.H. Groll^{6, 7, 8}

[Clinical Microbiology and Infection 25 \(2019\) 1096e1113](#)

Suspicion de ... Aspergillose Invasive

Contexte = Immunodépression

- Hématologie
- Greffe d'organe solide

Clinique = Pneumopathie, sinusite

- Clinique
- Radiologique

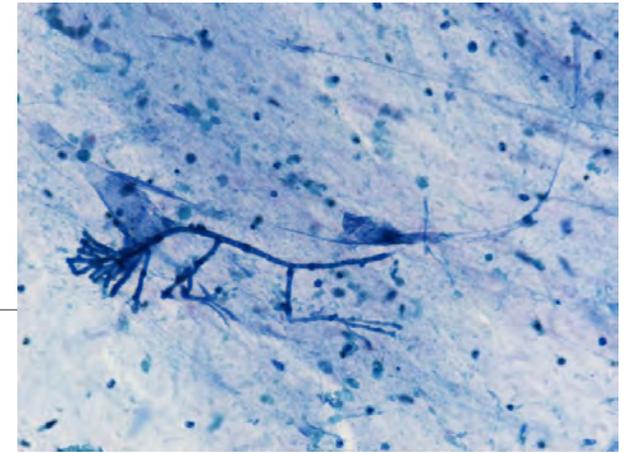
Pronostic très péjoratif + espèce (*A. terreus*, *A. lentulus*) ou souche (*A. fumigatus*) résistantes aux antifongiques → Diagnostic précis pour adapter la thérapeutique

Deux questions :

- Le patient est il sous antifongique ?
- Le patient est il neutropénique ?

Approche conventionnelle

Prélèvements broncho-pulmonaires, sinusien



	Sensibilité	Spécificité	Praticabilité	Délai Résultat
Examen direct	Faible	Médiocre ¹	Facile	Rapide (heures)
Culture	Médiocre	Médiocre ²	Facile	Long (jours)

¹ Ne différencie pas les différents genres : *Aspergillus*, *Fusarium*
ni le caractère invasif

² Ne différencie pas contamination/colonisation/infection

Mais valeur prédictive positive +++



Mise en évidence du caractère invasif

Anatomo-pathologie

- Invasif
- Long
- Non spécifique (genre, espèce)

Biomarqueurs

- Composant détecté dans différents fluides quelle soit la technique
- Sucres de paroi
- Mannoprotéine
- ADN

Galactomannane

« antigène aspergillaire »

Détection par ELISA → séries bi-hebdomadaires

Sensibilité analytique : 1 ng/ml

Sensibilité 80-90%

- ~50% chez non-neutropéniques

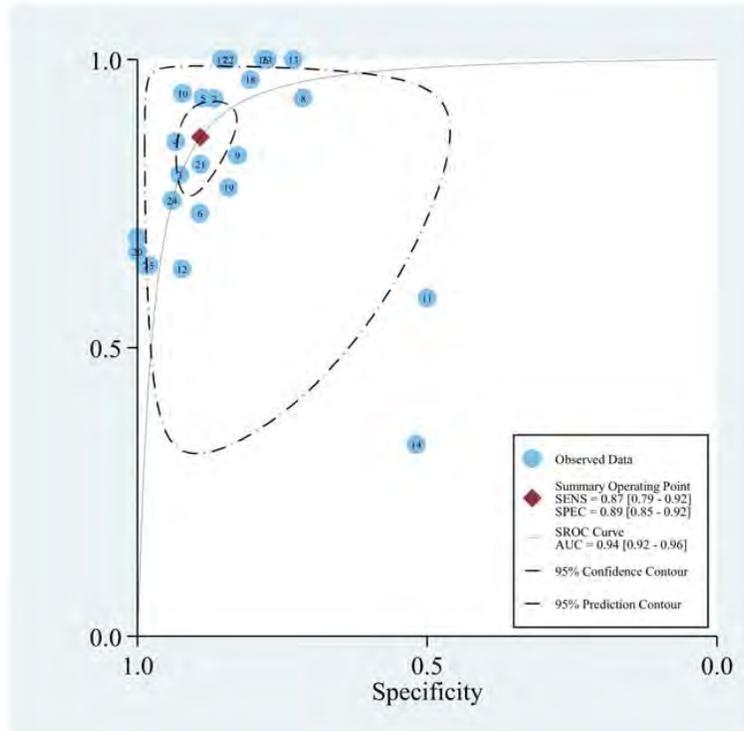
Spécificité : 80-90%

- Serum positif toujours re-testé
- Cross-réactivité : Fusariose, Histoplasmosse, talaromycose
- Antibiotiques, IgIV (Tégéline®), Plasmalyte,
- GVH digestive
- Muqueuse digestive vs microbiote (*Bifidobacteria*) de l'enfant ?

Screening vs targeted test sous antifongique : VPP 12% vs 89,6%



Galactomannane dans le LBA



Cut-off non défini

- Meilleures performances à 1

Sensibilité/spécificité 83-87/89%

ESCMID



A-II

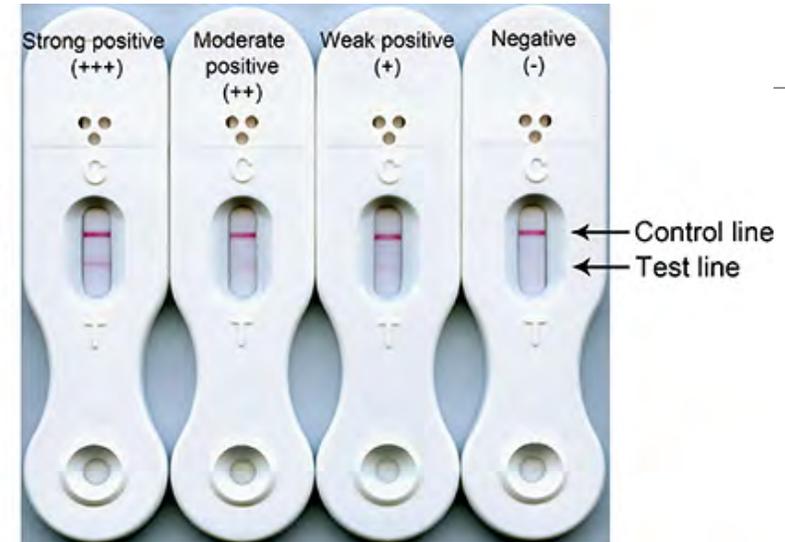
Des alternatives ?

Test immuno-chromatographique

Mannoprotéine

- Format unitaire rapide
- Applicable serum/LBA

Performances \leq Galactomannane



β -D-glucan



« Pan-fongique » : *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis*, pas mucormycetes

Des méta-analyses flatteuses

	Karageorgopoulos et al CID 2011	Onishi et al JCM 2012	Lamoth et al * CID 2011
N – proven/probable IFIs	2979 - 594	5543	1171 - 215
Sensibilité	77%	80 %	49.6%
Spécificité	85 %	82 %	98.9%
AUC/ROC Curve	0.89	0.88	0.8
VPP			83.5%
VPN			94.6%

* 2 positive consecutive tests, only Hematology

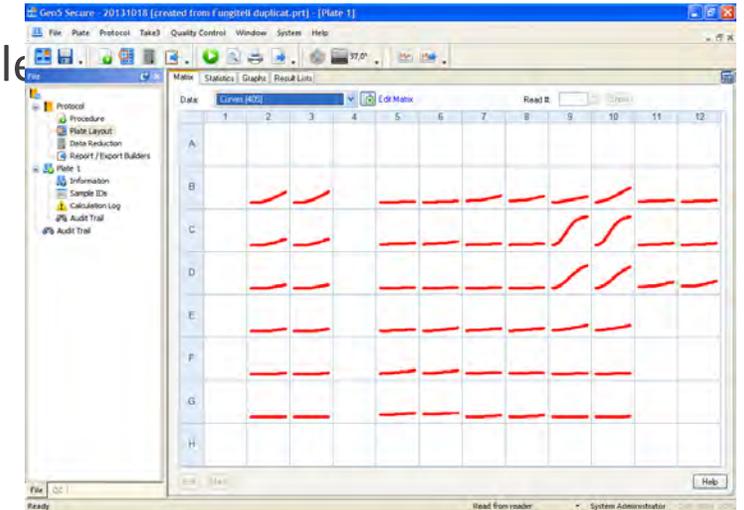
Mais

Une interprétation toujours délicate

- Faux + : immunoglobulines IV, dialyse, compresses chirurgicales, TPN
- Faux - : Traitement préemptif/empirique : échinocandines

Peu de données dans le diagnostic des API

- Prospective study,
- 305 cases of AL, 525 episodes of neutropenia
- 3067 β DGlucan assays in parallel with GLM
- Sensitivity, Specificity, PPV, NPV: 75.9 %, 77.9 %, 29.9 %, 96.3 %
- ➔ Weak performances but for excluding IA



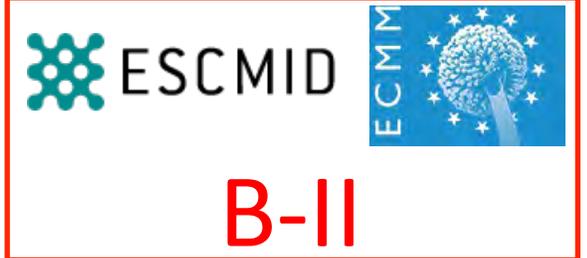
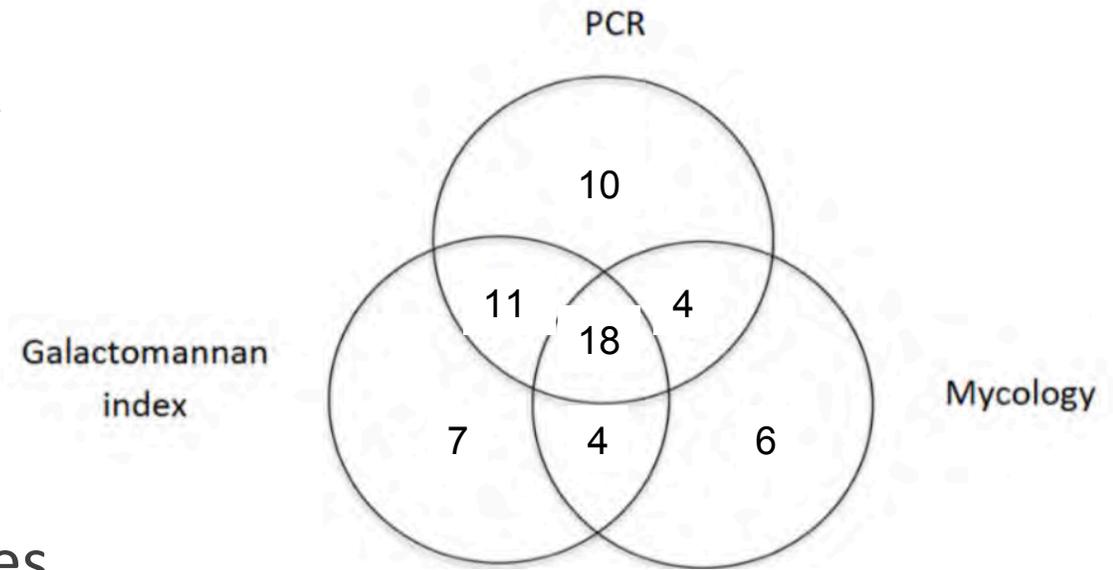
Détection d'ADN

Optimisation/standardisation

- Méthodes quantitatives
- Large volume, plasma > serum
- Cible ITS, contrôle interne
- *Aspergillus* spp vs *Aspergillus fumigatus*

Performances selon les formes cliniques

- 1 test + : Sens/Spé : 88% (95% CI 0.75–0.94) / 75% (95% CI 0.63–0.84)
- 2 tests + : Sen/Spé : 75% (95% CI 0.54–0.88) / 87% (95% CI 0.78–0.93)
- Dans le LBA
 - Sensibilité/spécificité : 75-80%/90-95%



The more, the better

Test (combination) and condition	Sensitivity, % (n=37)	Specificity, % (n=29)	PPV, %	NPV, %
PCR (BAL)	32 (12/37)	100 (29/29)	100	54
PCR (blood)	5 (2/37)	97 (28/29)	67	44
GM (BAL)	43 (16/37)	97 (28/29)	94	57
GM (blood)	19 (7/37)	100 (29/29)	100	49
BDG (BAL)	73 (27/37)	48 (14/29)	64	58
BDG (blood)	65 (24/37)	97 (28/29)	96	68
Chip (BAL)	16 (6/37)	86 (25/29)	60	45
Chip (blood)	11 (4/37)	86 (25/29)	50	43
PCR (BAL) OR GM (BAL)	54 (20/37)	97 (28/29)	95	62
PCR (blood) OR GM (blood)	22 (8/37)	97 (28/29)	89	49
PCR (BAL) OR BDG (blood)	76 (28/37)	97 (28/29)	97	77
GM (BAL) OR BDG (blood)	92 (34/37)	93 (27/29)	94	90
PCR (BAL) OR GM (BAL) OR BDG (BAL)	78 (29/37)	48 (14/29)	66	64
PCR (BAL) OR GM (BAL) OR BDG (blood)	92 (34/37)	93 (27/29)	94	90
PCR (BAL) OR GM (BAL) OR BDG (blood) OR Chip (BAL)	97 (36/37)	79 (23/29)	86	96
PCR (BAL) OR GM (BAL) OR BDG (blood) OR Chip (BAL, non-IA)	97 (36/37)	86 (25/29)	90	96

Suspicion... d'Aspergillose Pulmonaire Chronique

Contexte

- ATCD de tuberculose
- Sarcoidose
- Cancer nécrosé
- Absence d'immunosuppression ; corticothérapie <7.5 mg/j de prednisolone

Altération de l'état général, toux ± expectoration , hémoptysie ≥ 3 mois

Imagerie

- Cavités évolutives
- Fungus ball
- Fibrose périlésionnelle
-

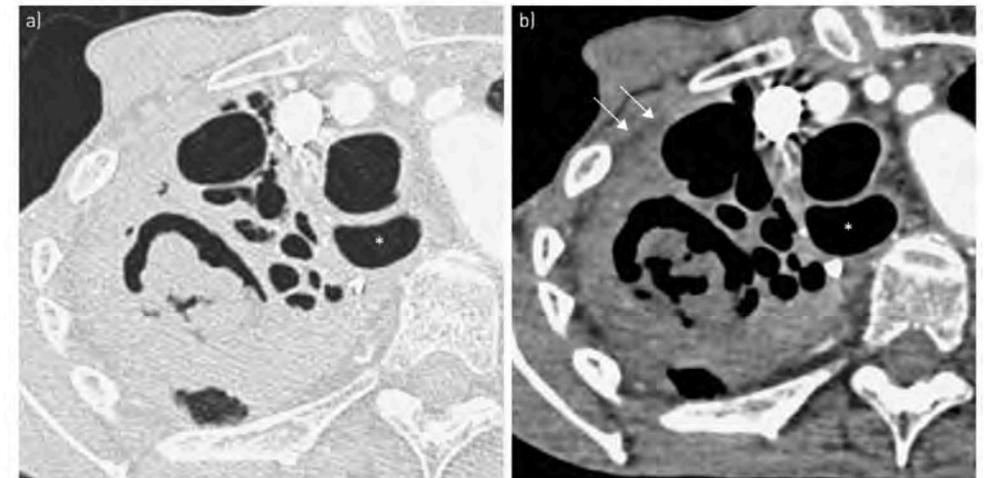
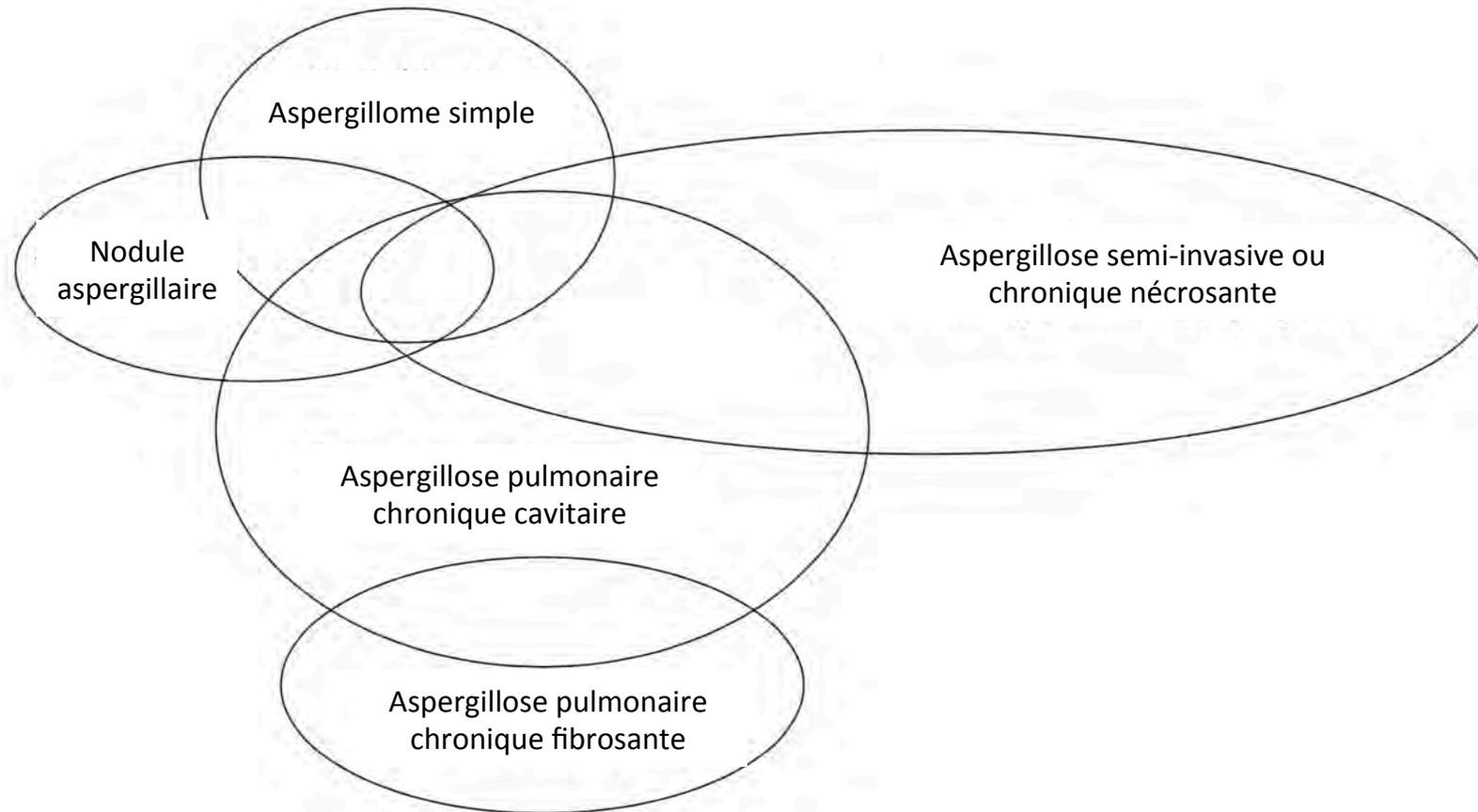


FIGURE 4 Imaging showing chronic cavitary pulmonary aspergillosis showing an axial view with a) lung and b) mediastinal windows at the level of the right upper lobe. Multiple cavities are visible with a fungus ball lying within the largest one. The wall of the cavities cannot be distinguished from the thickened pleura or the neighbouring alveolar consolidation. The extra pleural fat is hyperattenuated (white arrows). *: the dilated oesophagus should not be confused with a cavity.

Des frontières perméables



Le sérodiagnostic

Stratégie de screening

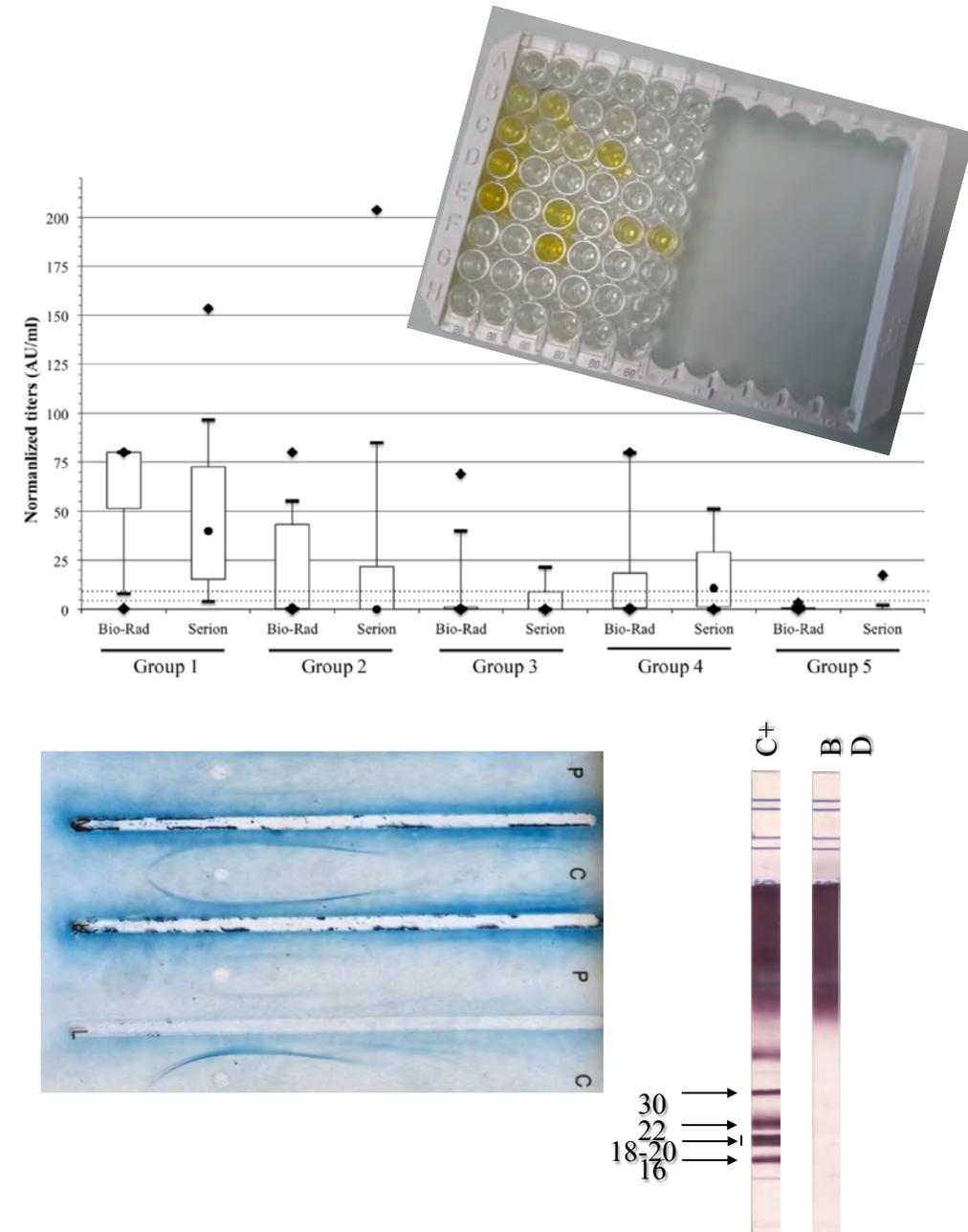
- ELISA : performances variables selon les kits

Confirmation

- Immuno-électrophorèse : non standardisé, long, lecture subjective, semi-quantitative
- Western-blot : sensibilité, spécificité imparfaites

Les limites

- Ne permet pas de distinguer les différentes formes clinico-pathologiques



Au total

Forme invasive ?

- Ag galactomannane \pm PCR

Forme chronique

- Sérologie

Dans tous les cas interprétation globale

➔ interaction clinico-biologique +++

Merci

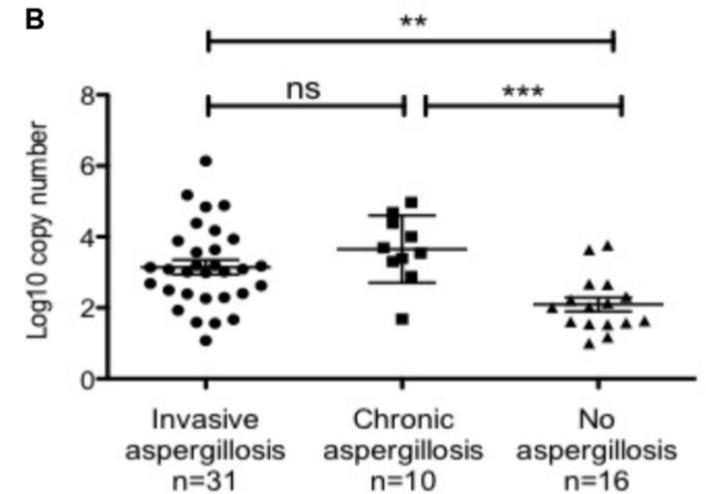


Western blot *Aspergillus*

299 sera (s) from 144 patients (p)		WB	IPD
Aspergillosis p=116, s= 258	Chronic Aspergillosis, n= 190	87,9% - 94,7%**	87,4%
	Aspergilloma, n= 12	91,7% - 100%**	100%
	ABPA, n= 56	92,9% - 100%**	85,7%
Colonization p=28, s= 41	Colonization in CF patients, n= 18	100% - 100%**	72,2%
	Colonization in non CF patients, n=23	47,8% - 60,9%**	39,1%

Clinical form	Method	Number of samples with result		Sensitivity (%)	p-value ^a	Specificity (%)	p-value ^a	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
		Positive	Negative						
All aspergillosis	PCR	41	7	85.4		97.2		71.9	98.7
	GM	20	25	44.4	<0.001	97.9	0.41	64.5	95.4
	Mycology (direct examination) ^b	32 (15)	14 (31)	69.6	0.06	96.4	0.45	61.5	97.4
Invasive aspergillosis	PCR	31	4	88.6		95.5		54.4	99.3
	GM	18	14	56.3	0.003	97.6	0.05	58.1	97.4
	Mycology (direct examination)	21 (11)	12 (22)	63.6	0.01	94.5	0.44	40.4	97.8
Chronic pulmonary aspergillosis	PCR	10	3	76.9		92.2		17.5	99.5
	GM	2	11	15.4	0.002	94.9	0.06	6.5	98.0
	Mycology (direct examination)	11 (4)	2 (9)	84.6	0.62	93.0	0.59	21.2	99.6
No aspergillosis	PCR	16	549	-	-	-	-	-	-
	GM	11	523	-	-	-	-	-	-
	Mycology (direct examination)	20 (0)	532 (0)	-	-	-	-	-	-

^ap-value for comparison with PCR results, calculated by Chi-square test. ^bMycological examination ('mycology' in the table) included microscopic analysis and Sabouraud agar culture of respiratory samples.



Classification des Aspergilloses invasives

Sensibilité/Spécificité
imparfaite de tous les tests



Critères d'hôte
Critères radio-cliniques
Critères mycologiques



Critères EORTC-MSG

Classification des Infections
Prouvée
Probable
Possible

TDR

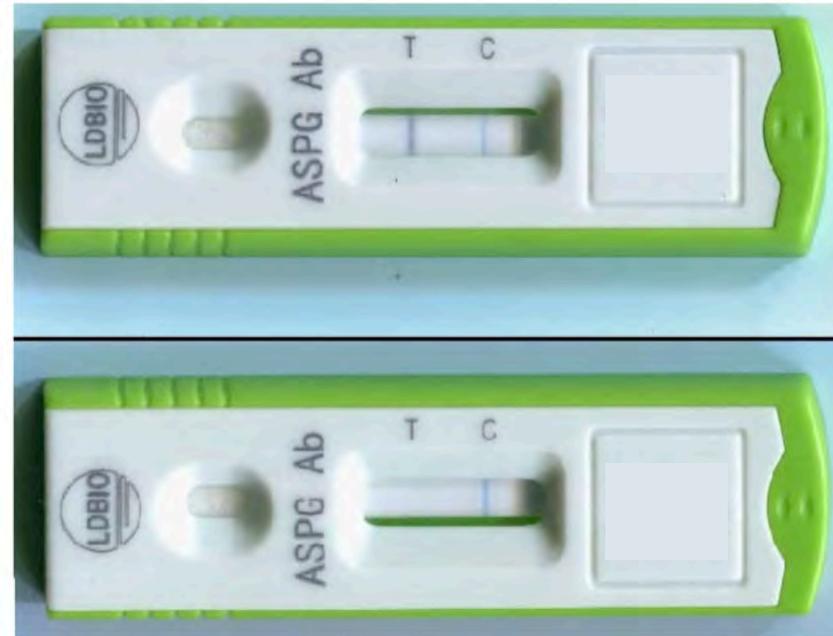
Facile, rapide

Aucun appareil

Sensibilité \pm 90%

Spécificité 96%

A tester sur le terrain



Update

Guidelines

ESCMID-ECMM guideline: diagnosis and management of invasive aspergillosis in neonates and children

A. Warris^{1, 7, 8, *}, T. Lehrnbecher^{2, 7, 8}, E. Roilides^{3, 7, 8}, E. Castagnola^{4, 7},
R.J.M. Brüggemann^{5, 7}, A.H. Groll^{6, 7, 8}

[Clinical Microbiology and Infection 25 \(2019\) 1096e1113](#)

Merci



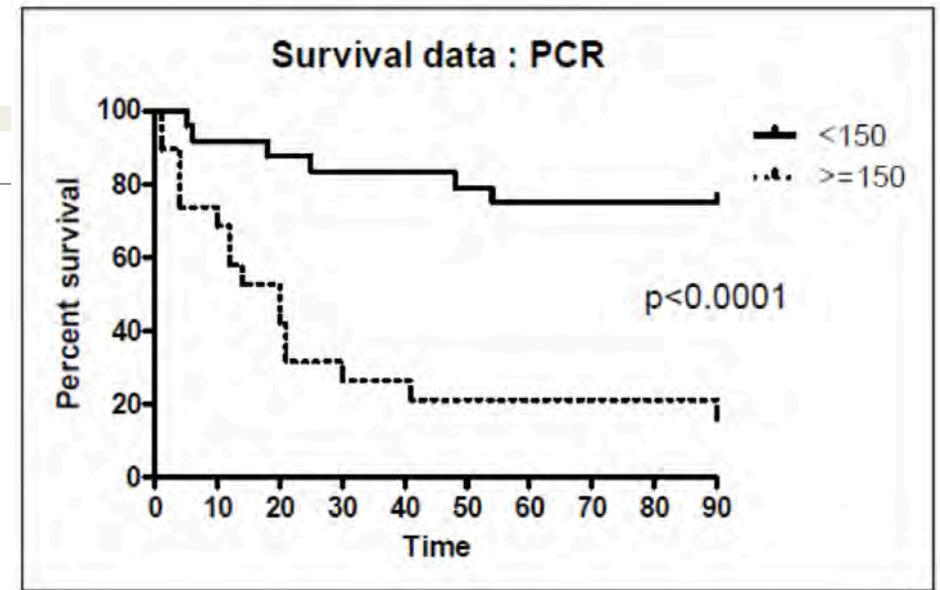
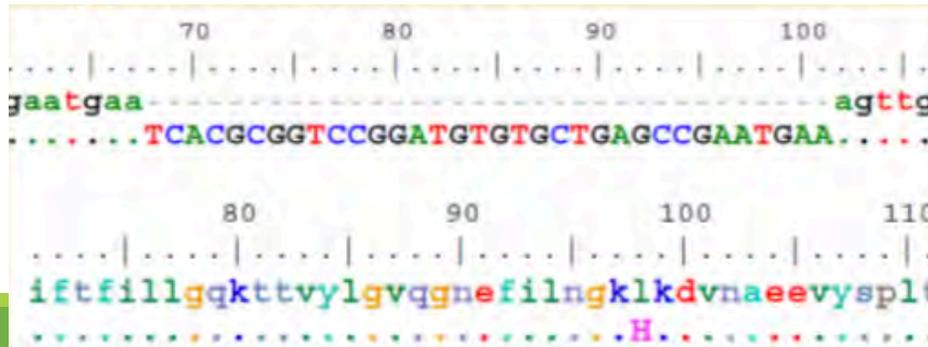
Détection d'ADN

Facteur pronostique

- Décision thérapeutique ?

Détection de mutation associée à la résistance aux azolés

- Mutation(s) CYP51A



PCR

Now standardized, different kits available

Not recommended for screening but for targeted diagnosis

Both on serum AND BAL

Some kits also test CYP51A mutation

- Genotype predictive of resistance

	RT-PCR assay		GM assay
	large volume	small volume*	
Sensitivity	100.0	76.5	88.2
Specificity	96.7	96.7	95.8
Positive predictive value	81.0	81.3	75
Negative predictive value	100.0	95.6	98.3