

GALAKTOMANNAN VE BETA-D-GLUKAN TESTLERİ İÇİN KLİNİK ÖRNEK SEÇİMİ SERUM MU, BAŞKA ÖRNEK(LER) Mİ?

Dr. Gökhan Metan

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı, Kayseri

gokhanmetan@gmail.com



“Çıkar çatışması”

- Kongre katılımları için destek;
 - Roche, MSD, Pfizer, Bayer, Gilead
- Bilimsel araştırma desteği
 - Associates of Cape Cod Inc., East Falmount, MA
- “Honarium”
 - Gilead, Pfizer

Sunum planı

- Mantar enfeksiyonlarının sınıflandırmasında tanımlar
- Galaktomannan ve 1,3-beta-d-glukan testleri için genel bilgi
- Ülkemizde bu testleri hangi oranda kullanıyoruz?
- Testlerin farklı klinik örneklerdeki performansı

Serum

Plazma
Bronş lavajı
Bronkoalveolar lavaj (BAL)
Balgam
Beyin omurilik sıvısı (BOS)
Periton sıvısı
İdrar

Revised Definitions of Invasive Fungal Disease
from the European Organization for Research
and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections
Cooperative Group and the National Institute
of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study
Group (EORTC/MSG) Consensus Group

- **Kanıtlanmış ‘proven’ mantar enfeksiyonu**
 - Steril olarak alınan doku veya kan kültüründen izolasyon veya fungal elemanların gösterilmesi
- **Yüksek olasılıklı ‘probable’ mantar enfeksiyonu**
 - Konak faktörü, radyolojik bulgu ve mikolojik kriterler
- **Muhtemel ‘possible’ mantar enfeksiyonu**
 - Konak faktörü ve radyolojik bulgu

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmak üzere geliştirilmiş
RUTİN TANIDA YERİ YOKTUR

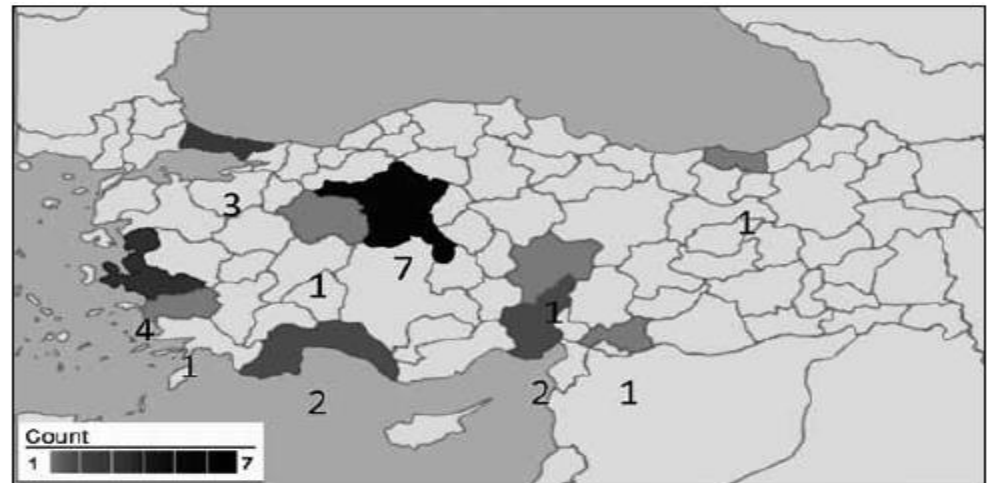
	Galaktomanan	(1,3)- β -D-glukan
Tanı kapsamı	Aspergillus ^a	Panfungal ^b
Yöntem	‘Sandwich’ ELISA Lateks agglütinasyon	Kalorimetrik
Ticari kit	Bio-rad (Fransa) Pastorex Aspergillus	Fungitell (ABD) Fungitec-G MK (Japonya) Wako (Japonya) Maruha (Japonya)
Sınır değer (serum) BAL	0.5-1.5 0.5-1	Fungitell 80 pg/mL Diğerleri 11-20 pg/mL
Erken tanı	5-8 gün	3-10 gün
Serum • Duyarlılık (D) • Özgüllük (Ö)	%29-100 %20-100	%47-98 %86-98
Uygulama süresi	Aynı gün	Aynı gün
Üreticinin önerdiği klinik örnekler	Serum, BOS, BAL	Serum
Maliyet	+	++?

^a*Penicillium*, *Histoplasma* ve *Fusarium*’a bağlı pozitif sonuçlara dikkat

^bMucorales ve *C. neoformans* hariç

Türkiye’de transplant merkezleri hangi yöntemleri kullanıyor?

- Yirmi üç transplant merkezi ile anket
 - Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi 21/23
 - Galaktomannan 20/23
 - Beta-Glukan 5/23
 - PZR 1/23



Hacettepe ÜTF, iki yıl süre ile

- 45 hematolojik malignite ve kök hücre nakil hastasında 53 epizod
- Kanıtlanmış 1, yüksek olasılıklı 4 invaziv aspergilloz (İA) olgusu
- Sınır değeri ≥ 0.5 ; Duyarlılık %60, Özgüllük %21

Tanrıöver MD, et al. *Mycoses* 2008

Erciyes ÜTF, Ocak 2008-Nisan 2011

- 129 hematolojik malignite ve kök hücre nakil hastası
- Olgulardan 2'si kanıtlanmış, 9'u yüksek olasılıklı, 40 muhtemel İA

GM İndeksi	>0.5	>0.7	>1	>1.5
Duyarlılık % (%95 CI)	56.8 (42.2- 70.7)	43.1 (29.3-57.8)	37.2 (24.1 – 51.9)	27.4 (15.9 – 41.7)
Özgüllük % (%95 CI)	84.6 (74.7 -91.8)	92.1 (84.0 -97.1)	94.8 (87.4 – 98.6)	98.7 (93.1 – 100)

Metan G, et al. *Mycoses* 2011 (Suppl 2)

Galaktomannan: Serum vs plazma

- İnvaziv aspergilloz 17 hasta (Kanıtlanmış 1, “probable” 6, “possible” 10 hasta) ve 48 invaziv mantar enfeksiyonu (İME) olmayan toplam 65 hastadan 284 örnek

	Serum	Plazma
	Kanıtlanmış +”probable” IA vs İME olmayan % (%95 Güvenlik aralığı)	Kanıtlanmış +”probable” İA vs İME olmayan % (%95 Güvenlik aralığı)
Duyarlılık	85.7 (48.7–97.4)	85.7 (48.7–97.4)
Özgüllük	79.2 (65.7–88.3)	85.4 (72.8–92.8)
Pozitif prediktif değer	37.5 (18.5–61.4)	46.2 (23.2–70.9)
Negatif prediktif değer	97.4 (86.8–99.6)	97.6 (87.7–99.6)

Doğrulanmış tek olguda hem serumda hem de plazmada galaktomannan negatif, tanı akciğer biyopsisi ile

Galaktomannan: Serum vs plazma

- İnvaziv aspergilloz 17 hasta (Kanıtlanmış 1, “probable” 6, “possible” 10 hasta) ve 48 invaziv mantar enfeksiyonu (İME) olmayan toplam 65 hastadan 284 örnek

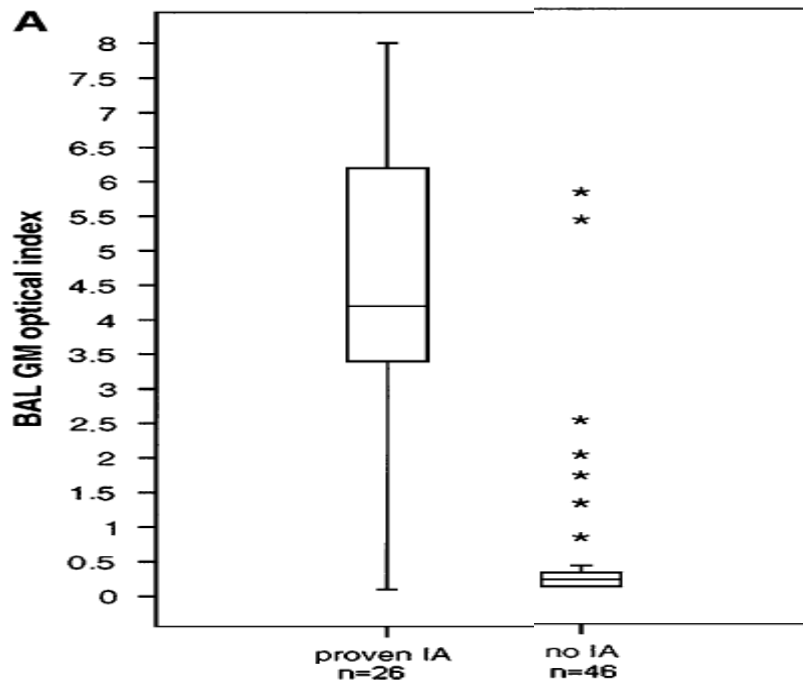
	Serum	Plazma
	“possible” İA vs İME olmayan % (%95 Güvenlik aralığı)	“possible” İA vs İME olmayan % (%95 Güvenlik aralığı)
Duyarlılık	0 (0–27.8)	40 (16.8–68.7)
Özgüllük	79.2 (65.7–88.3)	85.4 (72.8–92.8)
Pozitif prediktif değer	0(0–27.8)	36.4 (15.2–64.6)
Negatif prediktif değer	79.2 (65.7–88.3)	87.2 (74.8–94.0)

Serumda galaktomannan antijeni negatif olan dört hastada plazmada galaktomannan pozitif

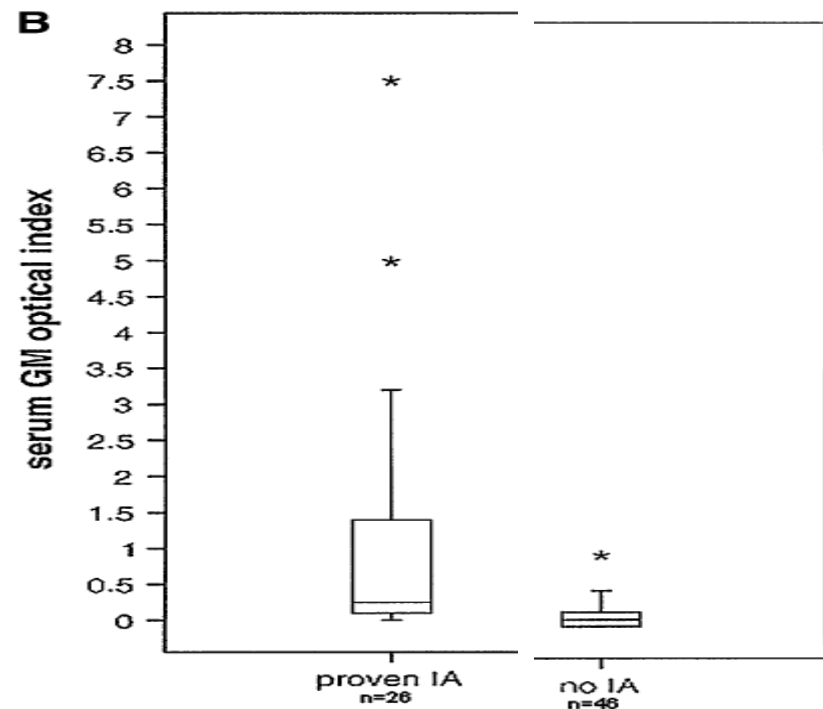
Galaktomannan: Serum vs BAL

- Yoğun bakım ünitesinde izlenen 110 olgu ,26 olguda biyopsi ile kanıtlanmış invaziv aspergilloz

BAL GM

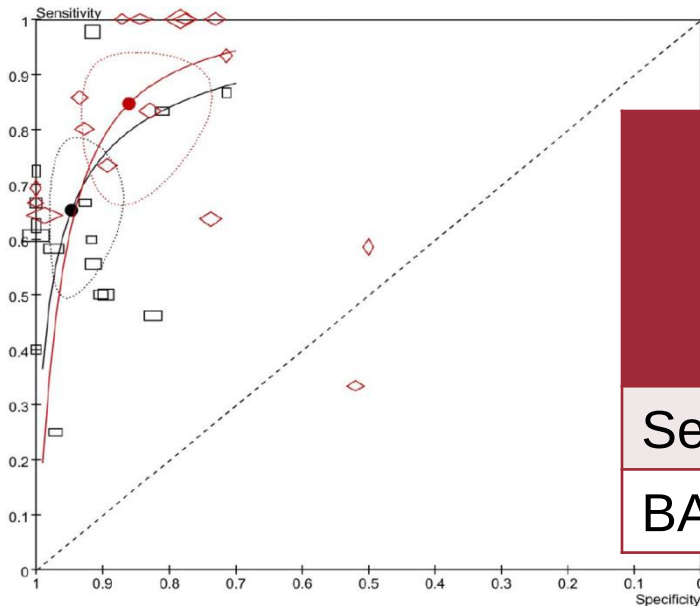


Serum GM



Systematic Review and Meta-Analysis of Detecting Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosing Invasive *Aspergillosis*

- Eş zamanlı olarak serum ve bronkoalveolar lavaj sıvısından galaktomannan antijen sonucu rapor edilen 16 çalışmanın havuz analizi



	Duyarlılık % (%95 Güvenlik aralığı)	Özgüllük % (%95 Güvenlik aralığı)
Serum GM	65 (54–75)	95 (90–97)
BAL GM	85 (72–92)	86 (78–92)

Galaktomannan: Bronkoalveolar lavaj vs Bronş veya alveol sıvısı

- İnvaziv aspergilloz şüphesi ile bronkoskopi yapılan 230 hasta, yedi kanıtlanmış, 21 “probable” İA

	Bronşiyal veya alveolar lavaj sıvısı % (%95 GA)	Alveolar lavaj SIVISI % (%95 GA)	Bronşial lavaj SIVISI % (%95 GA)
Duyarlılık	51.9 (31.9–71.3)	46.4 (27.5–66.1)	32.0 (14.9–53.5)
Özgüllük	100 (96.3–100)	100 (96.4–100)	100 (96.3–100)
PPD	100 (68.1–100)	100 (66.1–100)	100 (51.8–100)
NPD	92 (86.7–95.7)	90.9 (85.4–94.8)	89.8 (84.1–93.9)

GA; Güvenlik aralığı, PPD; pozitif prediktif değer, NPD; negatif prediktif değer
Sınır değer GM>1

Erciyes ÜTF'de durum?

- İnvaziv aspergilloz şüphesi ile tedavi edilen 31 hematolojik maligniteli hastanın tedavi öncesi bronkoalveolar lavaj ve serum galaktomannan antijen test sonuçları
- Hastaların 8'inde BAL'da *Aspergillus* türleri

Biyolojik belirteç	Hasta sayısı
Serum GM negatif, BAL GM pozitif	23 (%74.2)
Serum GM pozitif, BAL GM pozitif	5 (%16.2)
Serum GM pozitif, BAL GM negatif	2 (%6.4)
Serum GM negatif, BAL GM negatif	1 (%3.2)

Serum galaktomannan sınır değer >0.7 , BAL galaktomannan sınır değer >1

Genelde serum pozitif olgulara bronkoskopi yaptırmak açısından daha çekingen davranılıyor !!!

Galaktomannan:

Serum vs Balgam vs BAL

- Solunum sistemi örneklerinde *Aspergillus* izole edilen veya boyama gösterilen altı İA olgusu

	Age	Sex	Underlying disease	Risk factors	Sputum GM	BLF GM	Serum GM	Halo/crescent or cavity on CT	Microbiological evidence
Group A									
Case 1	49	F	NHL	SCT, steroid	>5.0	NA	1.2	Yes	<i>A. fumigatus</i>
Group B									
Case 1	79	F	NHL	Chemotherapy, steroid	1.2	NA	0.5	Yes	<i>A. fumigatus</i>
Case 2	77	M	AML	Neutropoenia, chemotherapy	>5.0	0.2	0.2	No	<i>A. fumigatus</i>
Case 3	75	F	NHL	Steroid	>5.0	NA	0.2	No	<i>A. glaucus</i>
Case 4	74	M	MM	Steroid	3.0	1.4	0.9	No	Hyphae in BLF Grocott stain
Case 5	58	M	MM	Steroid	>5.0	>5.0	1.0	Yes	<i>A. niger</i>

NA not assessed, NHL non-Hodgkin's lymphoma, AML acute myeloid leukaemia, MM multiple myeloma, SCT stem cell transplantation

Kimura et al, *Int J Hematol* 2009

İdrarda Galaktomannan antijeni

- Testin uygulanması için sınırlamalar;
 - Galaktomannan antijeninin idrardaki kinetiği yeterince bilinmiyor
 - Yöntem idrar için standardize değil
 - Çalışmaların önemli bir bölümü retrospektif
 - Hasta sayısı genelde az



Galaktomannan: Serum vs idrar

- Beş merkezden yaş ortalaması 7,8 yıl olan 198 hematolojik maligniteli hastadan 1865 serum ve 886 idrar örneği ve yedi bronkoalveolar lavaj sıvısı
- Bir hastada “probable”, 23 hastada “possible” İA

	Duyarlılık %	Özgüllük %	PPD %	NPD %	Yalancı pozitiflik oranı %
Serum GM >0.5	13	96	30	89	4.1
İdrar GM>0.5	19	79	11	88	20.9
Serum GM>1	13	98	43	89	2.3
İdrar GM>1	14	82	9.6	88	17.7

GM: Galaktomannan, PPD; Pozitif prediktif değer, Fisher et al. *Pediatric Infect Dis J* 2012
NPD; Negatif prediktif değer

ECIL-3 (1,3)- β -D-glukan meta-analizi

- Hematoloji/onkoloji hastalarında yapılmış 1771 hastayı içeren altı kohort çalışma

No. of Patients					
Total	Any IFI	Proven or Probable IFI	Invasive Candidiasis	Invasive Aspergillosis	Other IFI
283	53	20	11	3	6 ^a
80	38	26	12	14	0
871	209 ^d	112	41	32	39 ^e
215	30	16	0	16	0
149	24	11	0	11	0
173	60	30	16	14	0

215'i kanıtlanmış/yüksek olasılıklı 414 İME

- Sınır değeri: ardışık iki örnekte pozitiflik

Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD
%49.6 (%95 GA, 34.0–65.3)	%98.9 (%95 GA, 97.4–99.5)	%85.3	%94.6

Erciyes ÜTF, Ocak 2008-Nisan 2011

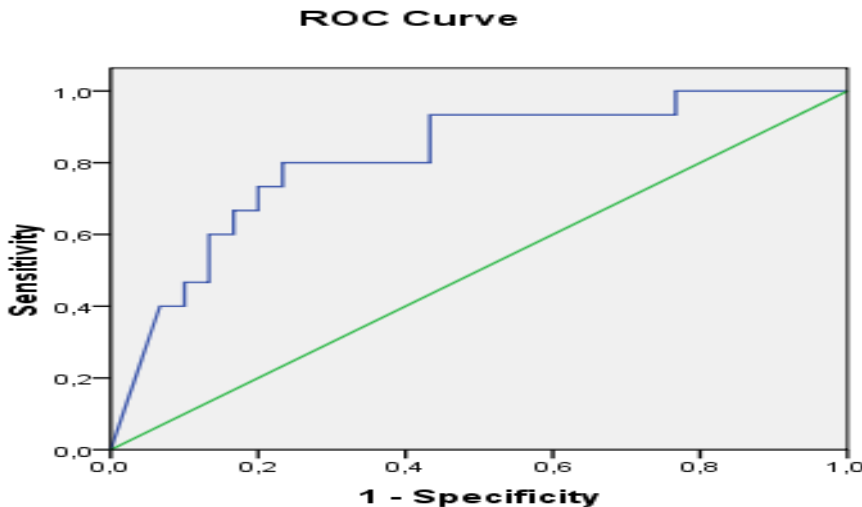
- Hematolojik maligniteli veya kök hücre nakil yapılan 128 hastada haftada iki kez Galaktomannan ve 1,3-beta-D-glukan
- Toplam 812 1,3-beta-d-glukan (BDG) testi, retrospektif değerlendirme
- Kanıtlanmış iki, “probable”48 invaziv aspergilloz olgusu, dokuz hastada *Aspergillus* izolasyonu

	Sınır değer >80 pg/mL % (%95 Güvenlik aralığı)	Sınır değer >150 pg/mL % (%95 Güvenlik aralığı)
Duyarlılık	66.0 (51.2–78.9)	52.0 (37.4–66.3)
Özgüllük	75.6 (64.6–84.6)	91.1 (82.4–96.3)
Pozitif prediktif değer	63.4	78.8
Negatif prediktif değer	77.6	74.7

İnvaziv aspergilloz tanısında BAL BDG

Sınır değeri (pg/mL)	Duyarlılık % (%95GA)	Özgüllük % (%95 GA)	PPD	NPD
80	93.3 (66-99.6)	53.3 (34.6-71.2)	50	94.1
150*	80 (51.9-95.4)	76.7 (57.7-90)	63.2	88.5

*Optimum sınır değeri belirlemek için 'ROC' eğrisi analizi ile elde edilen sonuç



- Erciyes ÜTF İA şüpheli 45 olgu
- Hastaların 15'inde 'probable' İA
- Olguların 10'unda BAL GM>1
- *A. fumigatus* BAL'da üç olguda

Eğrinin altındaki alan
0.81 (%95 Güvenlik aralığı, 0.66-0.91)

Bronkoalveolar lavajda BDG

	Tanı	Hasta sayısı	Duyarlılık %	Özgüllük %
Rose, et al. <i>J Infect</i> 2014	İnvaziv aspergilloz	14 (sekizi kültür pozitif)	71	67
Hoenigl, et al. <i>J Clin Microbiol</i> 2014	İnvaziv aspergilloz	Kanıtlanmış 3 “probable” 14	80	76
Rose, et al. <i>J Infect</i> 2014	İnvaziv fungal enfeksiyon	34 (kanıtlanmış veya”probable”)	53	68
Theel, et al <i>Mycopathologia</i> 2012	İnvaziv fungal enfeksiyon	Kanıtlanmış 4 “probable” 16 “possible” 14	50	55.1

BDG: Bronkoalveolar lavaj vs serum

		Duyarlılık %(%95, GA)	Özgüllük %(%95, GA)	PPD	NPD
Atalay, 2012	BAL BDG	93.3 (66-99.6)	53.3 (34.6-71.2)	50	94.1
	Serum BDG	40 (17.4-64.1)	90 (72.3-97.3)	66.6	75
Theel, 2012	BAL BDG	50 (29.9–61.4)	55.1 (44.7–65.0)	20	83
	Serum BDG	40 (21.8–61.4)	75.3 (65.3–83.1)	26.7	84.8

BAL; Bronkoalveolar lavaj, BDG; 1,3-beta-D-glukan, GA; Güvenlik aralığı, PPD; Pozitif prediktif değer, NPD; Negatif prediktif değer

Serebral Aspergillozda Galaktomannan

	Etken	Serum GM	BOS GM
Saitoh, et al. <i>Ann Hematol</i> 2007	<i>Aspergillus</i> türleri (PZR)	0.1	2.2
Van de Beek, et al. <i>Neurology</i> , 2008	<i>Aspergillus fumigatus</i>	0.3	6.4
Antinori, et al. <i>J Infect</i> 2013	<i>Aspergillus flavus</i>	2.5	7.4
Moling, et al. <i>Mycoses</i> , 2002	<i>Aspergillus candidus</i> grup	1.7	6.7
Van de Beek, et al. <i>Neurology</i> , 2008	<i>Aspergillus</i> türleri (Histopatoloji)	0.06	2.7
Viscoli, et al. <i>J Clin Microbiol</i> , 2002	<i>Aspergillus</i> türleri (Histopatoloji)	25.7	578

BOS; Beyin omurilik sıvısı, GM; Galaktomannan antijeni

- Hemafagositik sendrom (HS) tanısı ile izlenen 24 y erkek hasta
- Pulmoner ve serebral aspergilloz tanısı ile vorikonazol alıyor
- Klinik ve radyolojik düzelme olması üzerine HS için kemoterapi başlandı
- Baş ağrısı ve alt ekstremitelerde güçsüzlük >> Kraniyal MRI

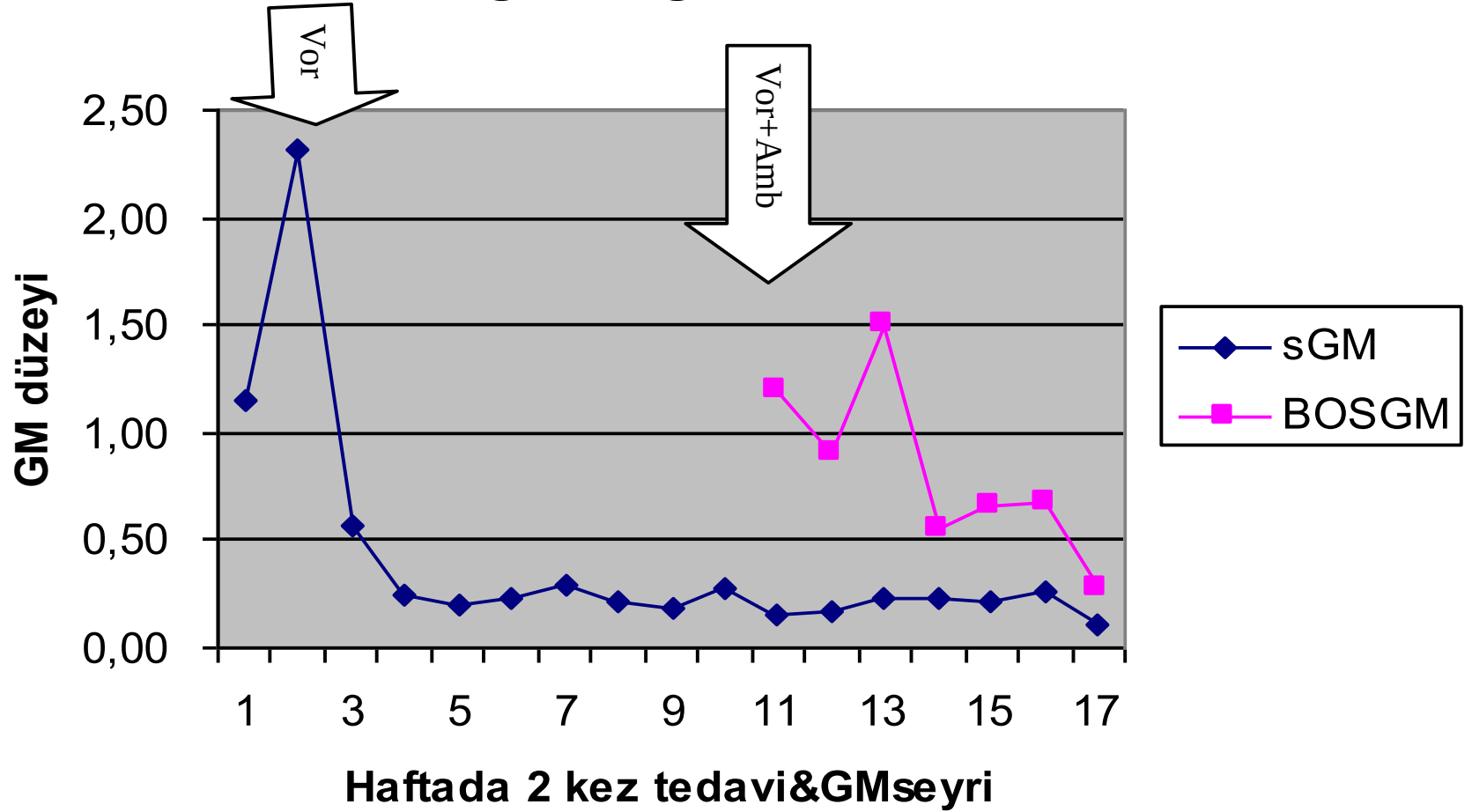
Lomber Ponksiyon:

- Lökosit: 900/ μ L,
- (% 34.3 nötrofil,%65.7 lenfomonositer hücre),
- Mikroprotein = 55.1 mg/dL,
- BOS glukoz = 78 mg/dL, (kan glc: 106)
- Galaktomannan :1,2
- 1,3-Beta-glukan >523 pikogram/mL



- Direkt bakıda mantar elemanı görülmedi. **Örneklemenin beşinci gününde BOS kültüründe *Aspergillus fumigatus* üremesi oldu*******

Tedavi etkinliđini deđerlendirmede GM takibi



Fungal menenjit tanı ve takibinde 1,3-beta-D-glukan

- Metil-prednizolon enjeksiyonu sonrası menenjit gelişen ve BOS kültüründe *Exserohilum rostratum* izole edilen 41 hasta

	Örnek sayısı	<138 pg/mL	138-230 pg/mL	> 230 pg/mL	Ortanca BDG pg/mL
Kanıtlanmış olgular	41	0	1	40	>500
Bakteriyel menenjit	9	8	0	1	<32
Menenjit olmayan olgular	27	27	0	0	<32
Diğer merkezi sinir sistemi sendromları	30	30	0	0	<32

Fungal menenjit tanı ve takibinde 1,3-beta-D-glukan

Sınır değeri	Duyarlılık % (%95 GA)	Özgüllük % (%95 GA)
138 pg/mL	100 (95-100)	98 (83-99)
230 pg/mL	99 (92-100)	98 (81-99)

- BOS'ta tedavi sırasında seri ölçümlerde BDG düzeyi düşen 18 hastada tedaviye iyi yanıt
- BDG düzeyi düşmeyen üç hastadan birisi tekrarlayan iskemik olaylar nedeniyle kaybedilmiş diğer iki hastada ise menenjit tekrarlamış

Aspergillus peritoniti tanısında Galaktomannan ve 1,3-beta-D-glukan

- Kronik periton diyalizi ile izlenen hastada peritonit tanısı ile başlanan intra peritoneal vankomisin + amikasin tedavisine yanıt vermedi
- Gram boyamasında özellik yok

Galaktomannan

- Serum: 1.05
- Periton sıvısı: 14.8

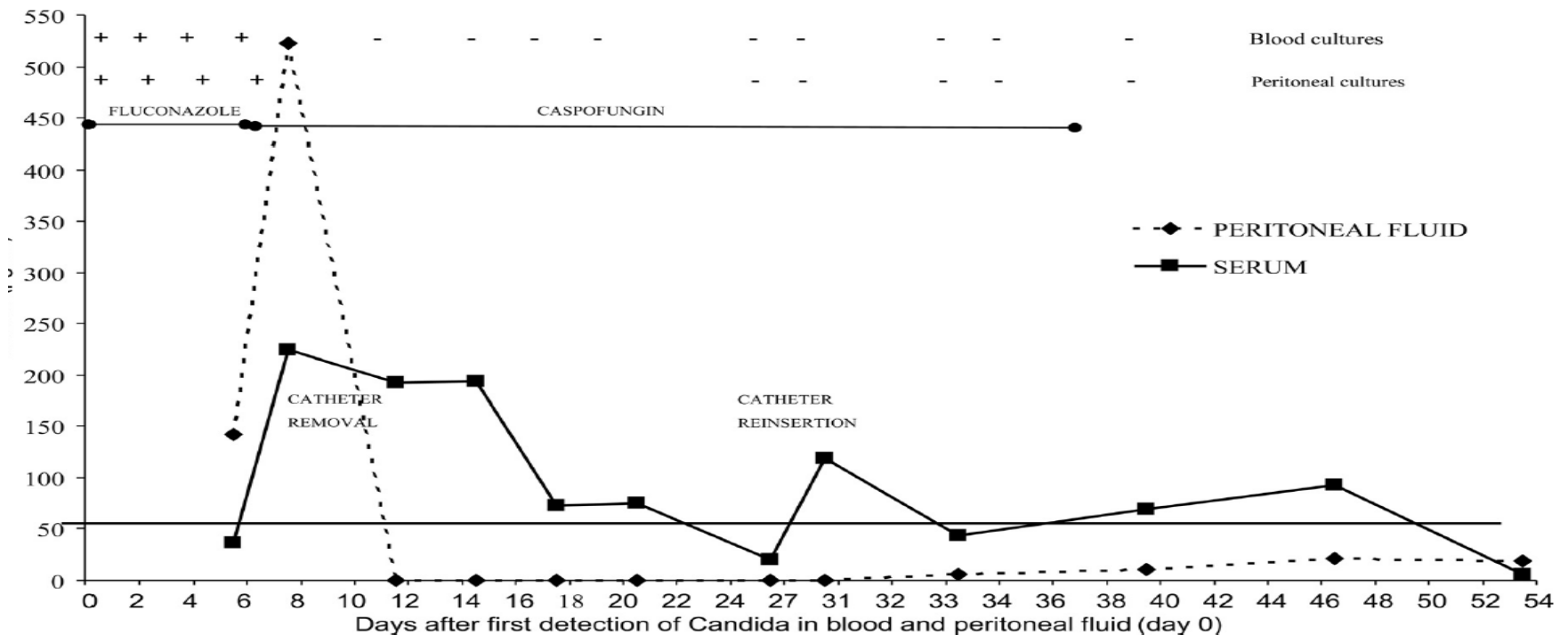
1,3-beta-D-glukan

- Serum: >523 pg/mL
- Periton sıvısı: >523 pg/mL

Periton diyaliz kateteri çekildi.
Kateter kültüründen *Aspergillus niger* izole edildi

Kandida peritoniti tedavi takibinde 1,3-Beta-D-glukan

- Periton diyaliz kateterinde ve kanda *Candida parapsilosis* üreyen dört yaşında hasta



Sonuç olarak;

- Enfeksiyon lokalizasyonundan alınan örneklerde GM ve BDG duyarlılığı serumdan daha yüksek
- BAL'da GM dışında tecrübeler çok sınırlı





TEŞEKKÜR EDERİM