

# $\beta$ -D-glucane: Evaluation et mise en routine

# Plan

- Introduction
- Diagnostic des infections fongiques invasives (IFI)
- Dosage du  $\beta$ -D-glucane
- Objectifs du travail
- Evaluation
- Interférences
- Conclusion et perspectives

# Introduction

- **Généralités**

- Mycoses superficielles ou cutanées (teigne, folliculite, pityriasis versicolor, onychomycose, ...)
- Mycoses sous-cutanées (mycétomes)
- Mycoses au niveau des muqueuses (candidose orale, génitale, ...)
- Mycoses profondes ou systémiques



Teigne



Candidose orale



Mycétome



Onyxis

# Introduction

- **Mycoses profondes ou systémiques**

Catégories	Espèces fréquentes
Levures	<i>Candida spp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Trichosporon spp.</i>
Champignons filamenteux	<i>Aspergillus spp.</i> <i>Mucor</i> <i>Fusarium spp</i>
Champignons dimorphiques	<i>Histoplasma capsulatum</i>

### Présentation clinique peu spécifique :



- Etat septique (fièvre, toux, dyspnée)



- Foyer radiologique

- Autres localisations (cœur, reins, foie, œil, intestin, cerveau)

# Introduction

- **Mycoses profondes ou systémiques**
  - 2 CNR : UZ Leuven et CHU de Liège
  - 1,5 million de décès annuel dans le monde
  - 10 principales causes de mortalité infectieuse

## Comorbidités

- Hémopathies malignes
- SIDA
- Diabète
- Atteintes pulmonaires

## Traitements

- Corticothérapie
- Anticancéreux et immunosuppresseurs
- Transplantation
- Antibiothérapie à large spectre

## Liés au matériel de soin

- Cathéters intravasculaires
- Intubation de longue durée
- Intervention chirurgicale

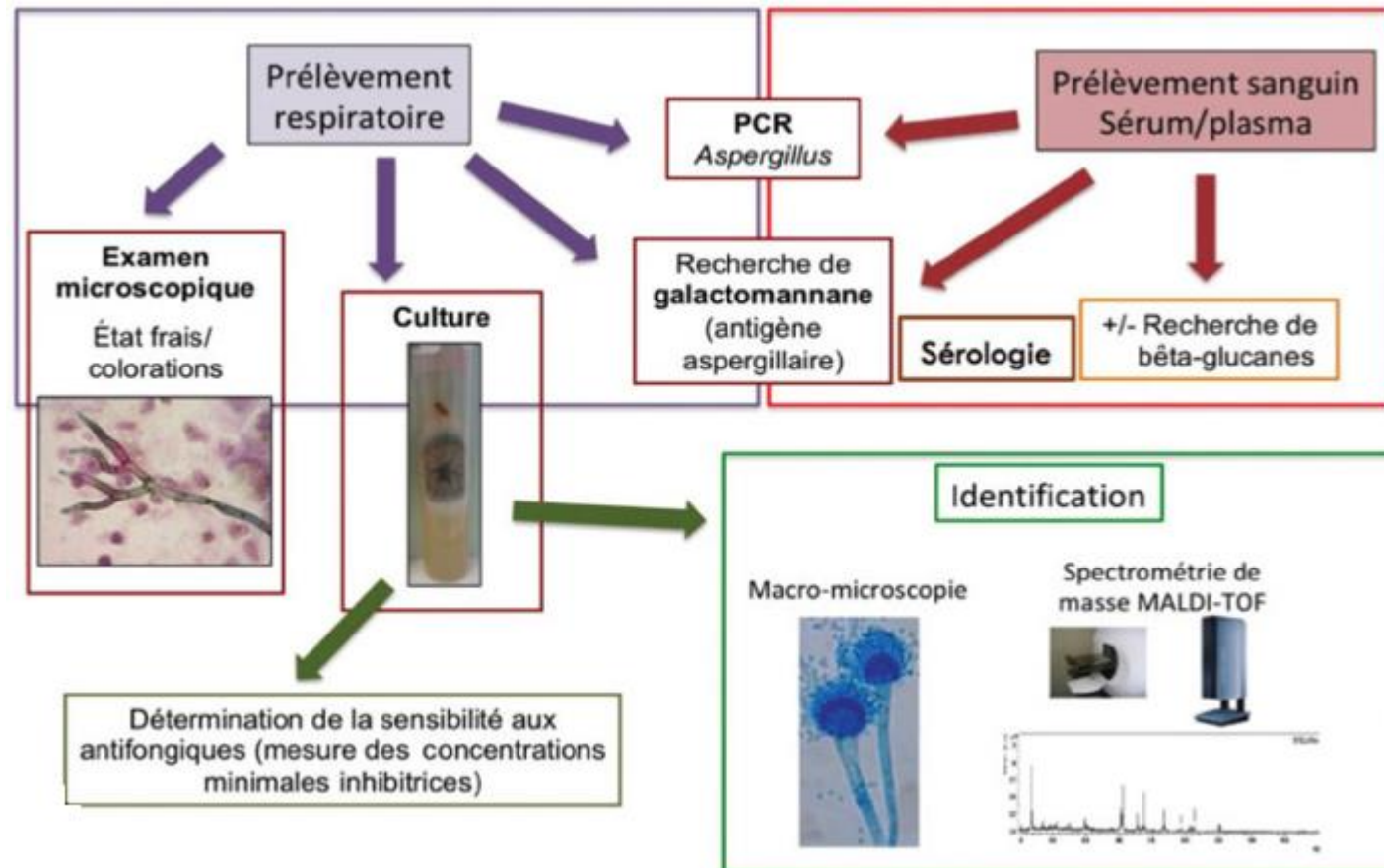
# Diagnostic des infections fongiques invasives (IFI)

- **Méthodes diagnostiques**

Infections	Tests diagnostics	Avantages	Inconvénients
Candidose	Hémoculture	Peu cher, spécifique	Faible sensibilité, lent
	Ag mannane	Rapide, peu cher	Faible sensibilité
	PCR	Rapide, sensible	Cher
Aspergillose	Galactomannane	Sensible	En batch
	Lateral Flow Assay	Rapide, single test	Laborieux
	PCR	Sensible	Cher
Pneumonie à <i>P. jirovecii</i>	PCR	Sensible	Cher
	Immunofluorescence	Spécifique	Faible sensibilité

# Diagnostic des infections fongiques invasives (IFI)

- **Méthodes diagnostiques**



# Diagnostic des infections fongiques invasives (IFI)

Faible spécificité des signes cliniques

Localisation profonde des foyers infectieux

Retard diagnostic et thérapeutique

➔ Amélioration du diagnostic pour une meilleure prise en charge thérapeutique



LIMUSAVE MT-7500

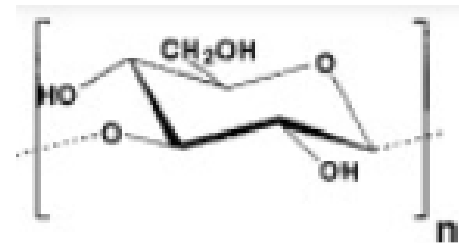


**FungitelSTAT**<sup>®</sup>  
(1→3)-β-D-Glucan Detection Assay

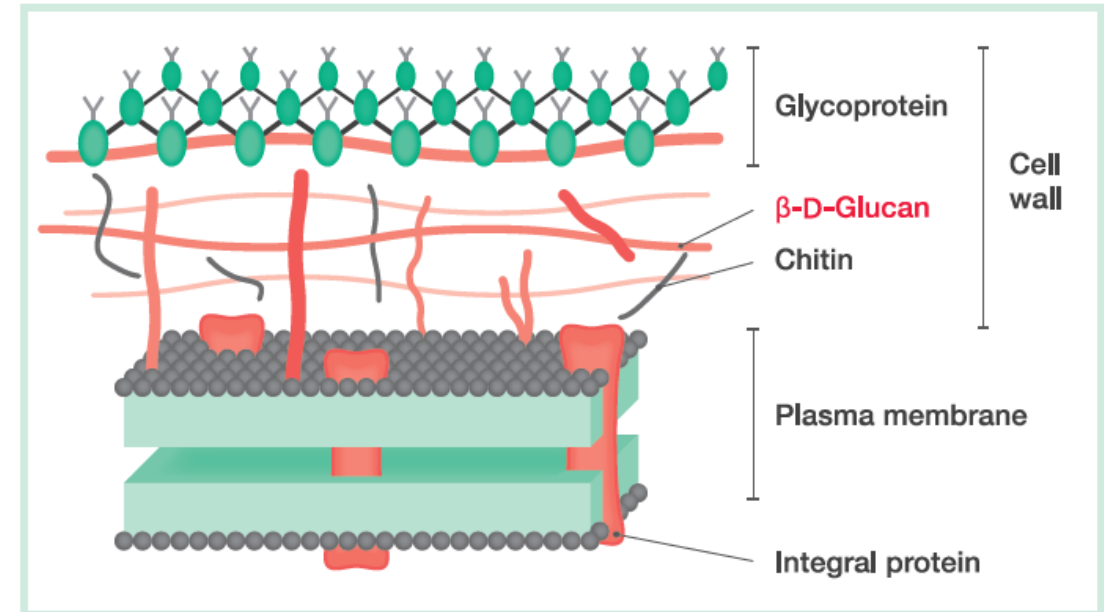


# Dosage du $\beta$ -D-glucane

- Composant ubiquiste de l'environnement
- Constituant polysaccharidique majeur de la paroi de nombreux champignons
- Libération et circulation dans le sang des patients atteints d'infections fongiques invasives



(1-3)- $\beta$ -D-glucan  
-3)- $\beta$ -D-Glcp-(1-

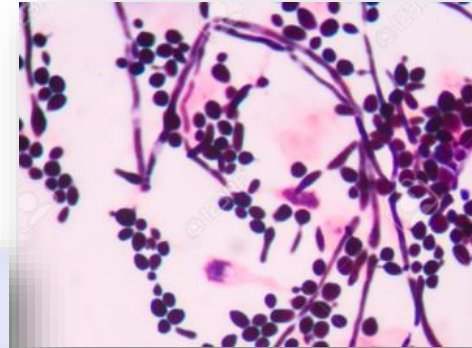


# Dosage du $\beta$ -D-glucane

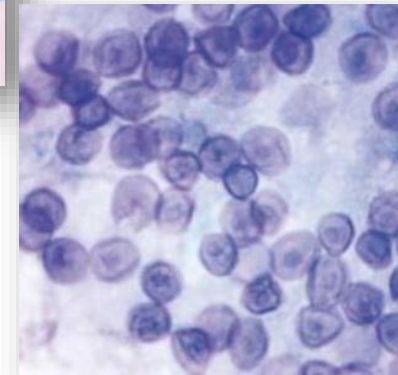
- Espèces avec  $\beta$ -D-glucane :
  - *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ...
  - *A. fumigatus*, *A. niger*, ...
  - *P. jirovecii*
  - *Saccharomyces cerevisiae*
  - *Fusarium spp.*
  - *Trichosporon spp.*
  - *Acremonium spp.*
  - *Coccidioides immitis*
  - *Histoplasma capsulatum*
  - *Sporothrix schenckii*, etc...



*Aspergillus sp*



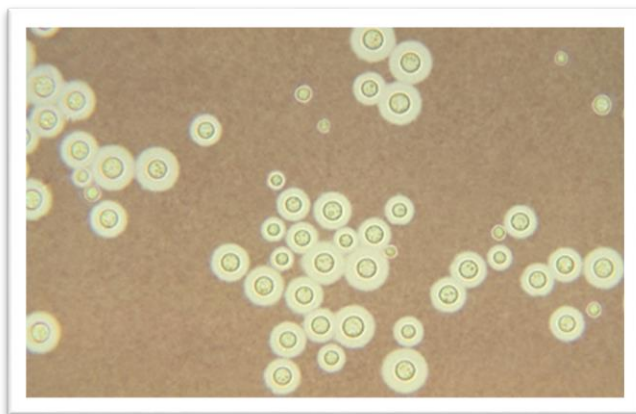
*Candida sp*



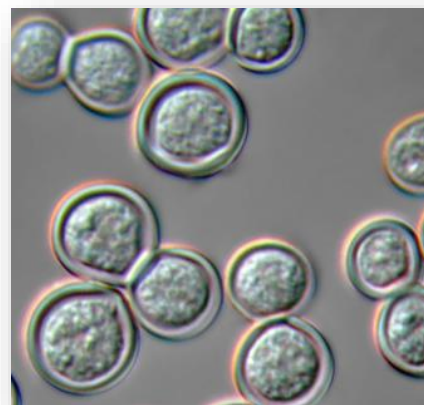
*Pneumocystis sp*

# Dosage du $\beta$ -D-glucane

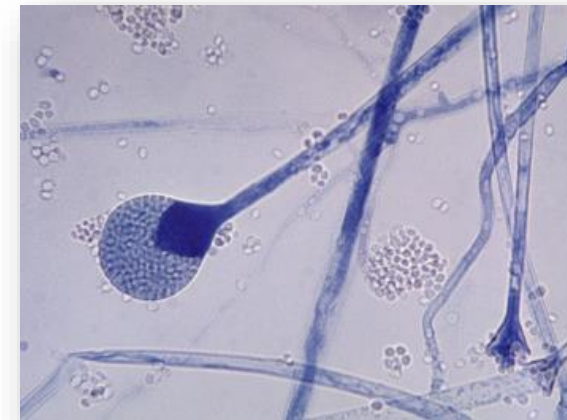
- Présence faible/absence de  $\beta$ -D-glucane:
  - *Cryptococcus spp.*
  - *Blastomyces dermatitidis*
  - Zygomycètes ou mucorales (*Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus*)



*Cryptococcus sp*



*Blastomyces dermatitidis*



Mucorales

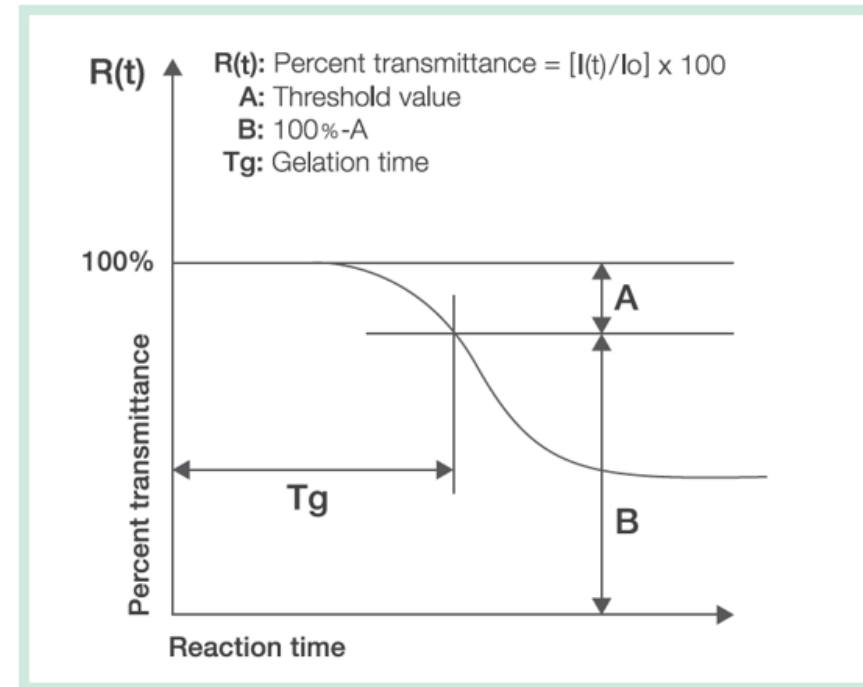
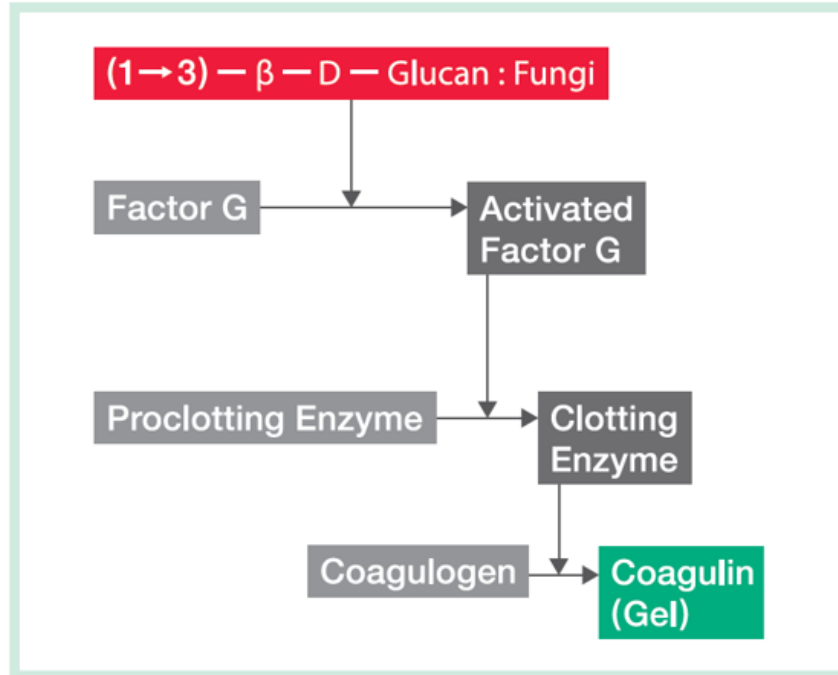
# Dosage du $\beta$ -D-glucane

- Limule ou « crabe en fer à cheval » (*Limulus polyphemus*)
- Test basé sur le LAL (Limulus amebocyte lysate)
- Réaction au contact de l'endotoxine et du  $\beta$ -D-glucane
- Clivage de la protéine coagulogène en coaguline insoluble responsable du gel-caillot
- Prétraitement par détergent non-ionique + polymyxine B → inactivation endotoxine



# Dosage du $\beta$ -D-glucane

- Principe du test



Test cinétique et turbidimétrique (quantitatif)  
Temps de mesure : Max. 90 minutes

# Dosage du $\beta$ -D-glucane

- **Caractéristiques:**
  - Réactif de test unique (pas de contamination)
  - Durée du test 90 minutes maximum
  - Matrices : sérum, plasma
  - Calibration : 4 points (usine)
  - Dosage quantitatif (1 → 3) - $\beta$ -D-glucane
  - Plage de mesure : 6 à 600 pg/mL
  - Valeur de référence:  $\leq 7$  pg/mL



# Dosage du $\beta$ -D-glucane

## SAMPLE PRETREATMENT

Pipette sample  
0.1 mL

Incubating 70 °C  
10 minutes

Cooling  
min. 3 minutes



Mixing  
▶▶▶▶



▶▶▶▶



Pretreatment  
Solution

LIMUSAVE MT-7500  
THERMOSTATION TS-70/20

Cooling Station

## MEASUREMENT

Transfer sample  
0.2 mL

Set the tube in the  
LIMUSAVE MT-7500



Mixing  
▶▶▶▶



Pretreated  
sample

LAL  
Reagent

LIMUSAVE MT-7500

# Dosage du $\beta$ -D-glucane

- Mesure de l'échantillon

Pipetter 200  $\mu$ L d'échantillon pré-traité dans le tube R2 \*



Vortexer 5 sec



Insérer doucement le tube dans le puit prévu jusqu'à ce que le tube touche le fond du puits. Un bip sonore retentit et la mesure commence.



[Well status (Screen)]

BDG

En attente de test:



Test en cours:



[Status LED (Optical unit)]

BDG

En attente de test: **Vert allumé**

Test en cours : **Vert clignotant**

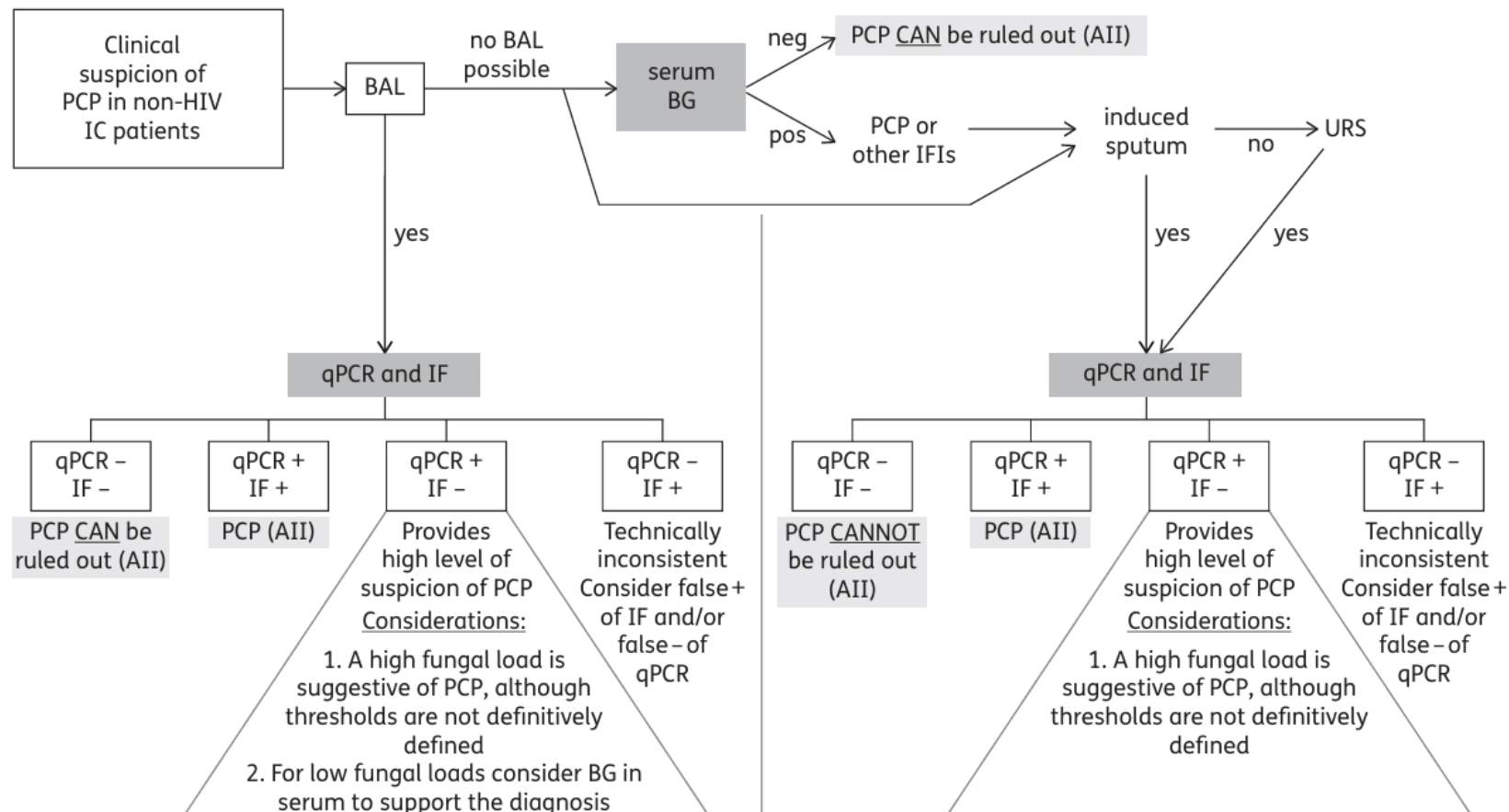
Vérifiez que le réactif LAL est complètement dissous et ne contient pas de bulles d'air.





# Diagnostic des infections fongiques invasives (IFI)

- Diagnostic de la pneumonie à *P. jirovecii*



# Diagnostic des infections fongiques invasives (IFI)

- **ECIL (European Conference on Infections in Leukemia) 2016**
  - Détection du  $\beta$ -D-glucane sérique = **outil de diagnostic contributif**
  - Exclusion du *P. jirovecii* avec un résultat de test négatif (**VPN élevée**)
- **ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) 2012**
  - Le  $\beta$ -D-glucane est recommandé en cas de **candidémie**
  - La détection en série (2 fois/semaine) chez l'adulte utile pour exclure une infection

# Diagnostic des infections fongiques invasives (IFI)

- **ESCMID-ECMM-ERS (European Confederation of Medical Mycology – European Respiratory Society) on Aspergillus diseases 2017**
  - Rôle limité au test exclusif du  $\beta$ -D-glucane
  - Association avec le **galactomannane** ou la **PCR**
- **New strategies for the current pandemic – detection of COVID 19 Associated Pulmonary Aspergillosis (CAPA)**
  - Test sérique du  $\beta$ -D-glucane recommandé comme exigence minimale (non invasif)
  - A combiner avec **galactomannane sur LBA et PCR**

# Objectifs du travail

- Dosage  $\beta$ -D-glucane :
  - Sous traitance à l'UZ Leuven
  - Désormais disponible au LHUB-ULB



## Mise en routine

- Améliorer le TAT et la prise en charge thérapeutique

## Intérêt du $\beta$ -D-glucane dans les IFI principales:

- Pneumonie à *P. jirovecii*
- Candidose
- **Aspergillose**

# Evaluation

- Comparaison TOXINOMETER vs. LIMUSAVE
- Valeur de référence :  $\leq 7\text{pg/mL}$
- Total = 35 échantillons



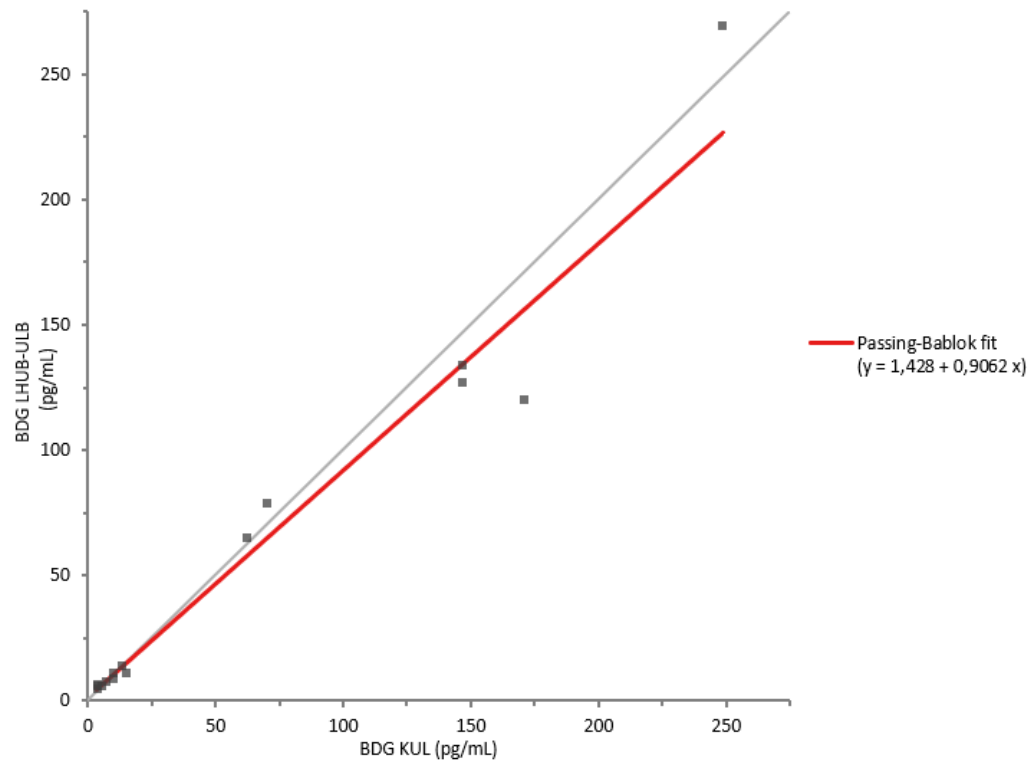
		LIMUSAVE MT-7500 (LHUB-ULB)	
		Positifs	Négatifs
TOXINOMETER MT-6500 (KUL)	Positifs	13	0
	Négatifs	0	22

 Concordance = 100%

# Evaluation

- Comparaison TOXINOMETER vs. LIMUSAVE
- Regression de Passing et Bablok (n=15/35)

**VALIDÉ**



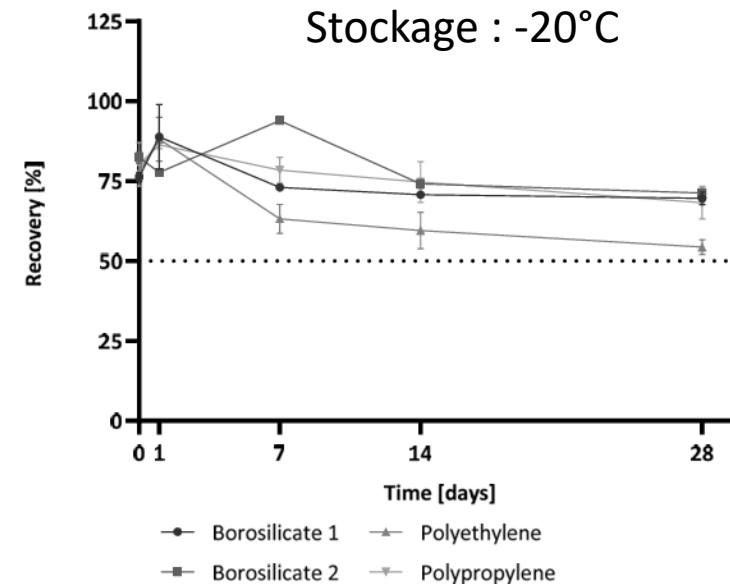
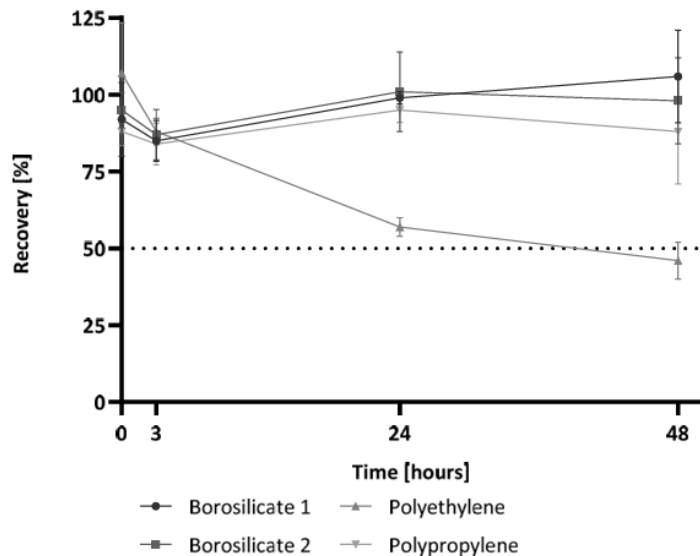
Paramètre	Coefficient	IC 95%
Pente	0,9062	0,6898 – 1,076
Ordonnée à l'origine	1,428	-0,02486 – 3,018

# Interférences

- Liées au préanalytique



- Nature des tubes de prélèvement



→ Pas de différence significative entre les différents contenant 3 heures après

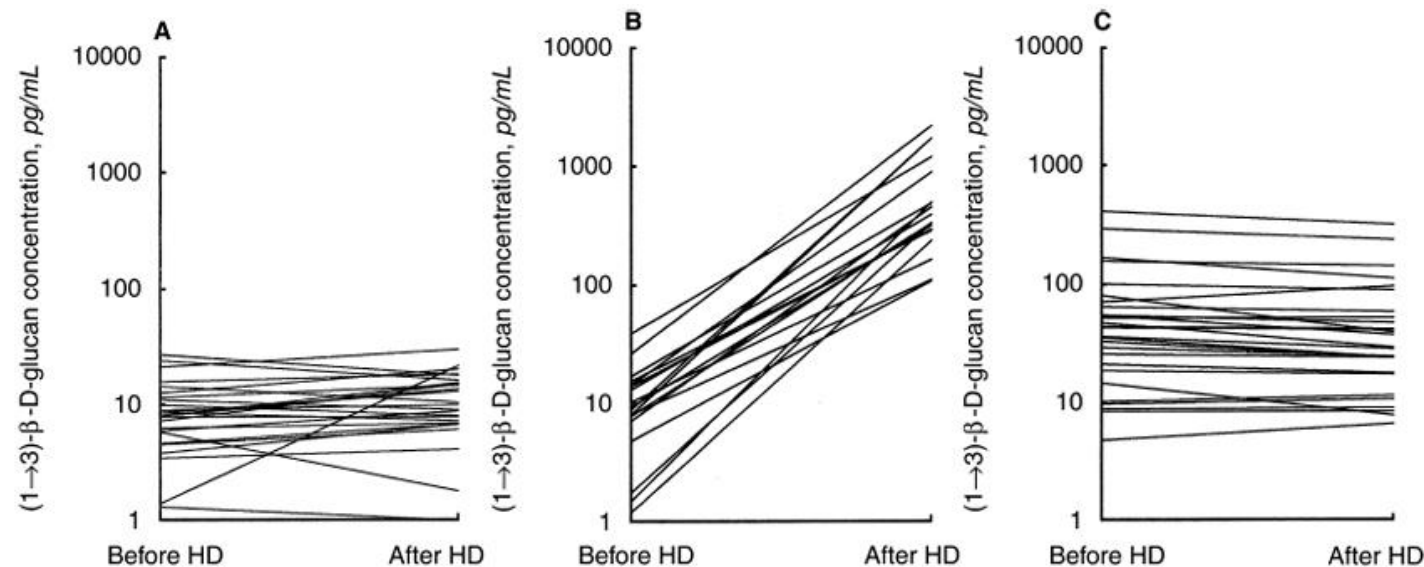
→ Contenant en polyéthylène : non adapté

# Interférences

- **Liées à la prise en charge du patient**



- Hémodialyse (membrane de cellulose!)



A: cellulose triacétate

B: cellulose



C: polymethyl methacrylate

→ Membrane de cellulose à éviter chez patients avec suspicion d'IFI

- Compresses (présence de  $\beta$ -D-glucane)



# Interférences

- **Liées à la prise en charge du patient** 
  - Immunoglobulines
  - Albumine
  - Facteurs de coagulation
  - Beta-lactamines (pipéracilline-tazobactam)
  - Chimiothérapie
- **Liées à des infections bactériennes** 
  - Bacilles gram négatif
  - Streptocoques

# Conclusion



## **β-D-glucane**

- Avantages :

- Test rapide, facile à mettre en oeuvre
- Indiqué en cas de suspicion d'infections fongiques invasives ( ⚠ champignons dépourvus de β-D-glucane )
- Outil contributif dans les pneumocytoses (VPN élevée) et les candidoses invasives

- Limites : Faible spécificité

- Outil complémentaire aux autres tests biologiques
- Risque de faux positifs et négatifs
- Place dans les aspergilloses invasives pas clairement établie

➔ Importance du contexte clinique, des résultats radiologiques et microbiologiques

# Perspectives

- Etude de la place du  $\beta$ -D-Glucane dans l'aspergillose invasive
- Relation entre  $\beta$ -D-Glucane et galactomannane
- Emettre des recommandations du dosage dans l'aspergillose invasive



# Bibliographie

- Bille J. , Le diagnostic des infections fongiques invasives. *Revue Médicale Suisse*, 1, 904–9, 2005.
- Lass-Flörl C, Samardzic E, Knoll M. , Serology anno 2021—fungal infections: from invasive to chronic. *Clinical Microbiology and Infection*, 27, 1230–41, 2021.
- Riera FO, Caeiro JP, Angiolini SC, Vigezzi C, Rodriguez E, Icely PA, Sotomayor CE. , Invasive Candidiasis: Update and Current Challenges in the Management of This Mycosis in South America. *Antibiotics*, 11, 877, 2022.
- WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action [WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action](#), 25/10/2022
- Alanio A, Hauser PM, Lagrou K, Melchers WJG, Helweg-Larsen J, Matos O, Cesaro S, Maschmeyer G, Einsele H, Donnelly JP, Cordonnier C, Maertens J, Bretagne S. , ECIL guidelines for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 2386–96, 2016.
- Blaize M, Jabet A, Piarroux R, Fekkar A. , Infections fongiques pulmonaires (à l’exception de la pneumocystose). *Revue Francophone des Laboratoires*, 2024, 51–62, 2024.
- PSO Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHRU de Lille, (1,3)- $\beta$ -D Glucane Intérêt dans le dépistage des infections fongiques invasives
- Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, Jensen HE, Lass-Flörl C, Richardson MD, Akova M, Bassetti M, Calandra T, Castagnola E, Cornely OA, Garbino J, Groll AH, Herbrecht R, Hope WW, Kullberg BJ, Lortholary O, Meersseman W, Petrikos G, Roilides E, Viscoli C, Ullmann AJ. , ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clinical Microbiology and Infection*, 18, 9–18, 2012.
- Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, Denning DW, Groll AH, Lagrou K, Lass-Flörl C, Lewis RE, Munoz P, Verweij PE, Warris A, Ader F, Akova M, Arendrup MC, Barnes RA, Beigelman-Aubry C, Blot S, Bouza E, Brüggemann RJM, Buchheidt D, Cadranet J, Castagnola E, Chakrabarti A, Cuenca-Estrella M, Dimopoulos G, Fortun J, Gangneux J-P, Garbino J, Heinz WJ, Herbrecht R, Heussel CP, Kibbler CC, Klimko N, Kullberg BJ, Lange C, Lehrnbecher T, Löffler J, Lortholary O, Maertens J, Marchetti O, Meis JF, Pagano L, Ribaud P, Richardson M, Roilides E, Ruhnke M, Sanguinetti M, Sheppard DC, Sinkó J, Skiada A, Vehreschild MJGT, Viscoli C, Cornely OA. , Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clinical Microbiology and Infection*, 24, e1–38, 2018.
- White SK, Schmidt RL, Walker BS, Hanson KE. , (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan testing for the detection of invasive fungal infections in immunocompromised or critically ill people. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020, 2020.
- Burgmaier L, Illes B, Leiss M, Avci-Adali M, Reich J. , Effects of Different Container Types on (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan Recovery. *Molecules*, 28, 6931, 2023.
- Nagasawa K, Yano T, Kitabayashi G, Morimoto H, Yamada Y, Ohata A, Usami M, Horiuchi T. , Experimental proof of contamination of blood components by (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan caused by filtration with cellulose filters in the manufacturing process. *Journal of Artificial Organs*, 6, 49–54, 2003.
- Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. , -D-Glucan Assay for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections: A Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 52, 750–70, 2011.

# Remerciements

- Hafid
- Cédric
- Magaly
- Serpil
- Annick

- Seher
- Sigi
- Mony
- Delphine

# Questions ?

