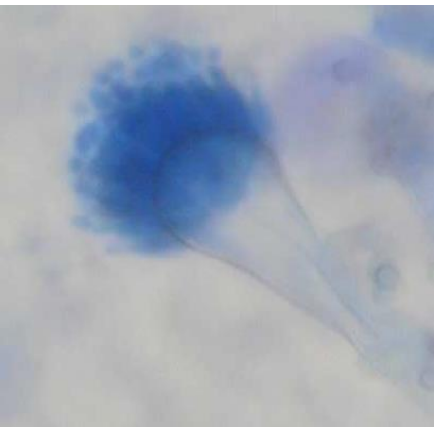


Μυκητιάσεις Αρχές διάγνωσης μυκητιασικών λοιμώξεων

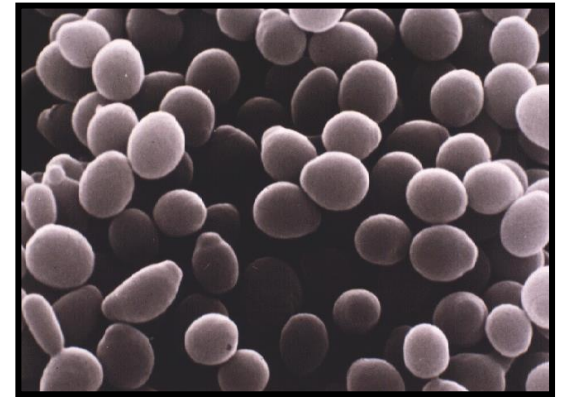
Σαμπατάκου Ελένη

Αν. Καθηγήτρια Παθολογίας Λοιμώξεων

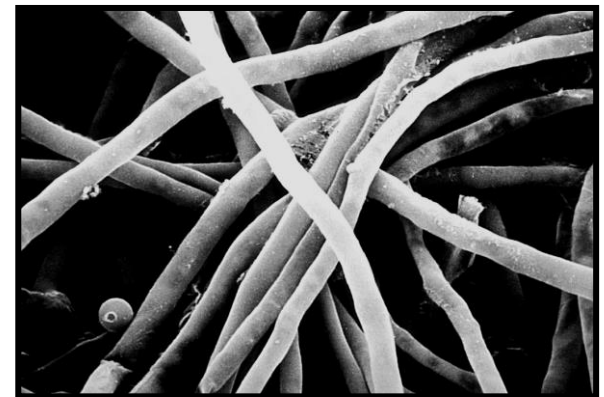


Διάκριση των μυκήτων βάσει της μορφολογίας τους

- Οι μύκητες αποτελούν μορφολογικά ποικιλόμορφη και ετερογενή ομάδα μικροοργανισμών
- **Ζυμομύκητες ή ζύμες ή βλαστομύκητες**
 - Μονοκύτταροι και μονοπύρηντοι
- **Μυκηλιακοί ή νηματοειδείς ή υφομύκητες**
 - Πολυκύτταροι και πολυπύρηντοι
- **Δίμορφοι**



Ζυμομύκητες



Υφομύκητες

ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΜΥΚΗΤΙΑΣΕΙΣ

ΣΥΝΗΘΕΙΣ ΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ

Ζυμομύκητες

- *Candida albicans*
- *Cryptococcus neoformans*

Υφομύκητες

- *Aspergillus sp.*
- *Zygomycetes*

- *Fusarium*
- *Scedosporium*

Ενδημικοί δίμορφοι

- *Histoplasma capsulatum*
- *Coccidioides immitis*
- *Blastomyces dermatitidis*
- *Paracoccidioides sp.*

Μυκητιακές Λοιμώξεις: Ταξινομούνται κυρίως σε τρεις τύπους:

- **Επιφανειακές/Επιπολής:**

παρουσιάζονται στο δέρμα, τα μαλλιά και τα νύχια.

- **Υποδόριες:**

λοιμώξεις στους υπό το δέρμα ιστούς

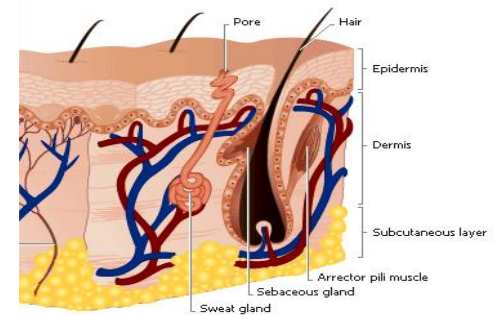
- **Συστηματικές (δύο τύποι) :**

“Αληθώς παθογόνα”

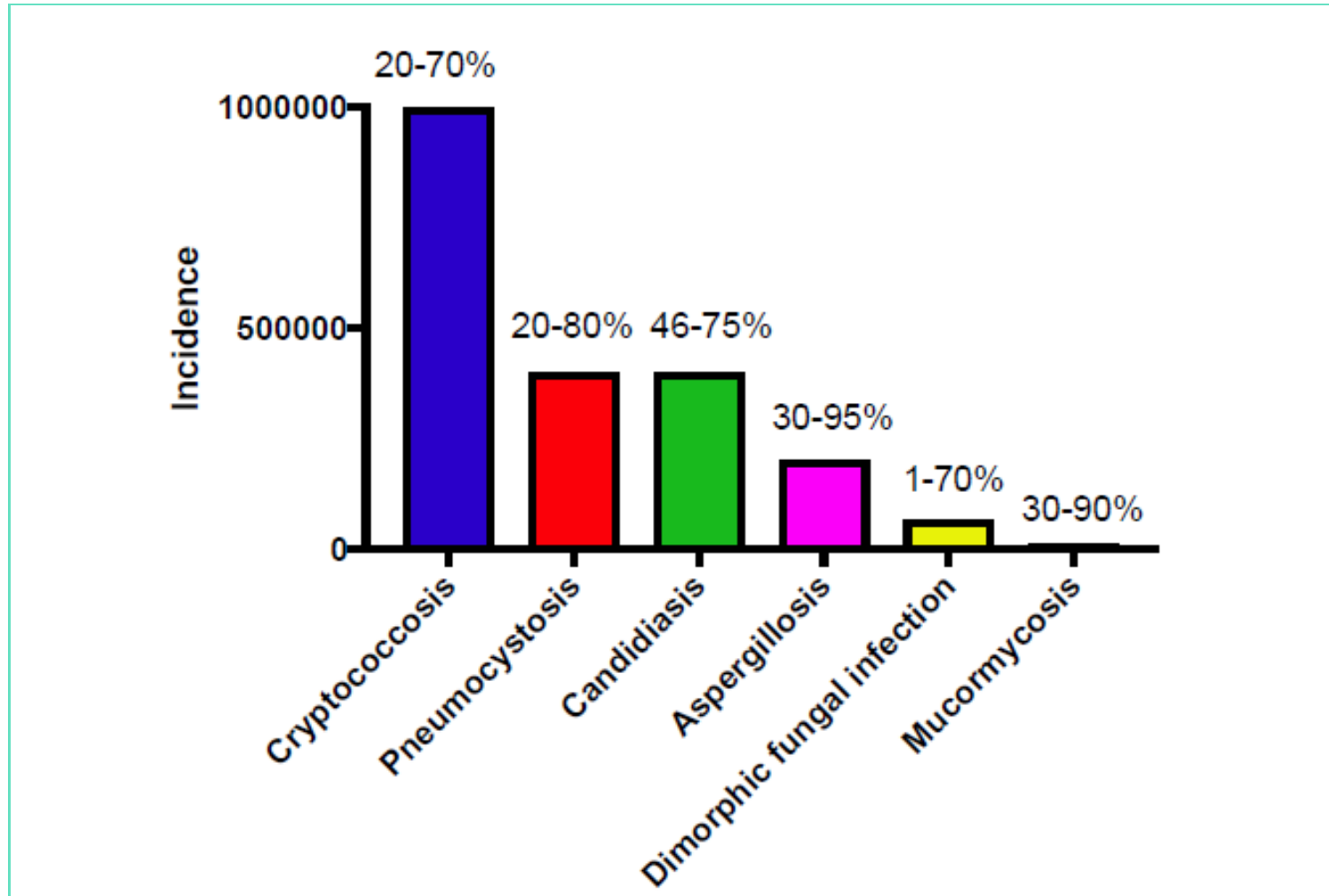
προκαλούν λοίμωξη σε υγιείς ξενιστές (ενδημικοί μύκητες)

“Ευκαιριακά παθογόνα”

όταν προκαλούν λοίμωξη σε ανοσοκατασταλμένα άτομα



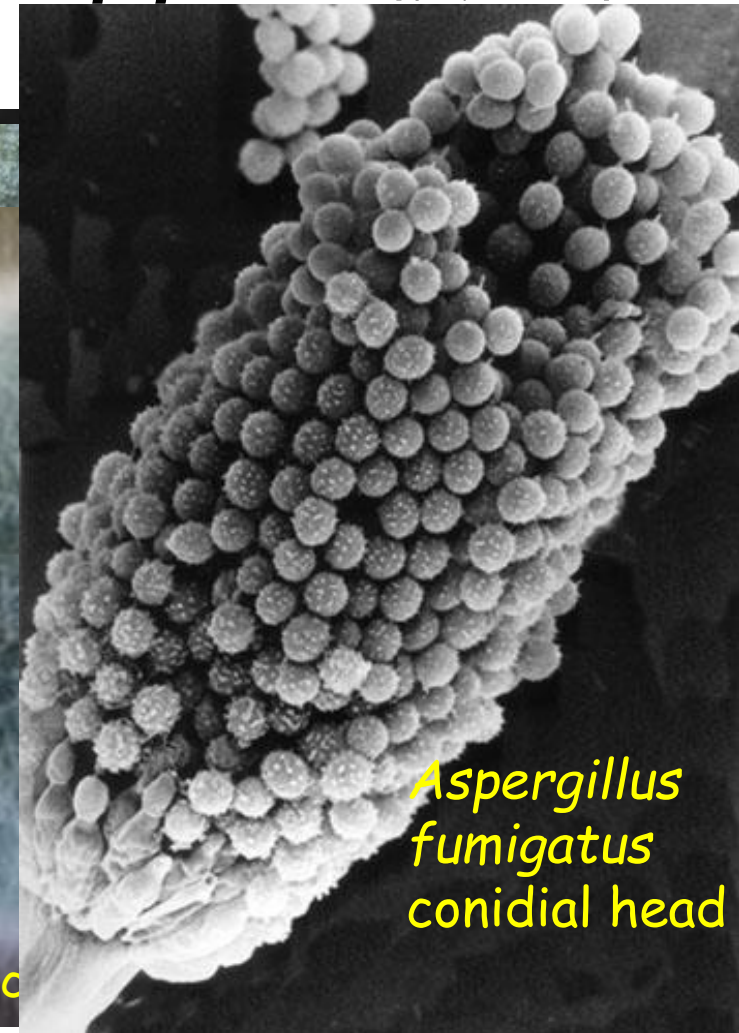
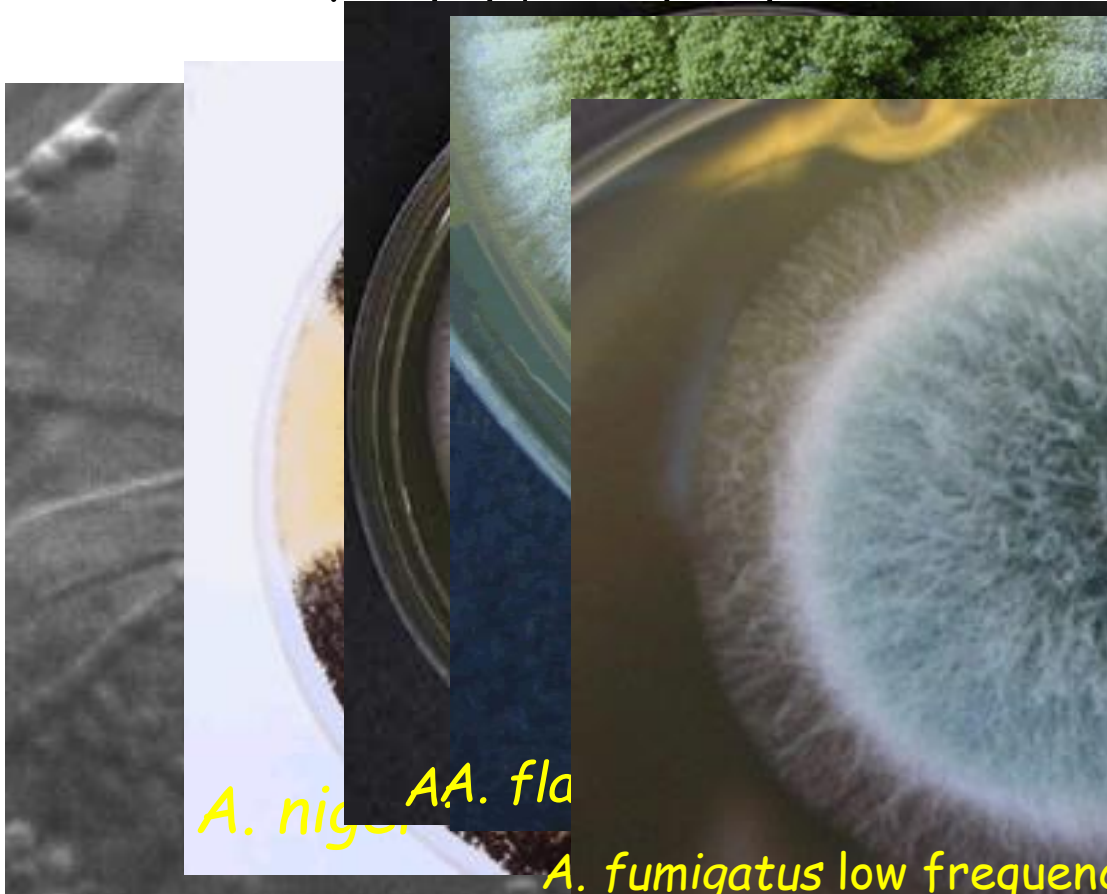
Παγκόσμια κατανομή διηθητικών μυκητιάσεων ετησίως και ποσοστά θνητότητας επί τοις εκατό (Brown *et al.*, 2012).



Το γένος *Aspergillus* – ~180 είδη,

85-90% *A. fumigatus*, 5-10% *A. flavus*, 3-7% *A. niger*
and 1% *A. Nidulans*. Παντού στο περιβάλλον χώμα, νερό,

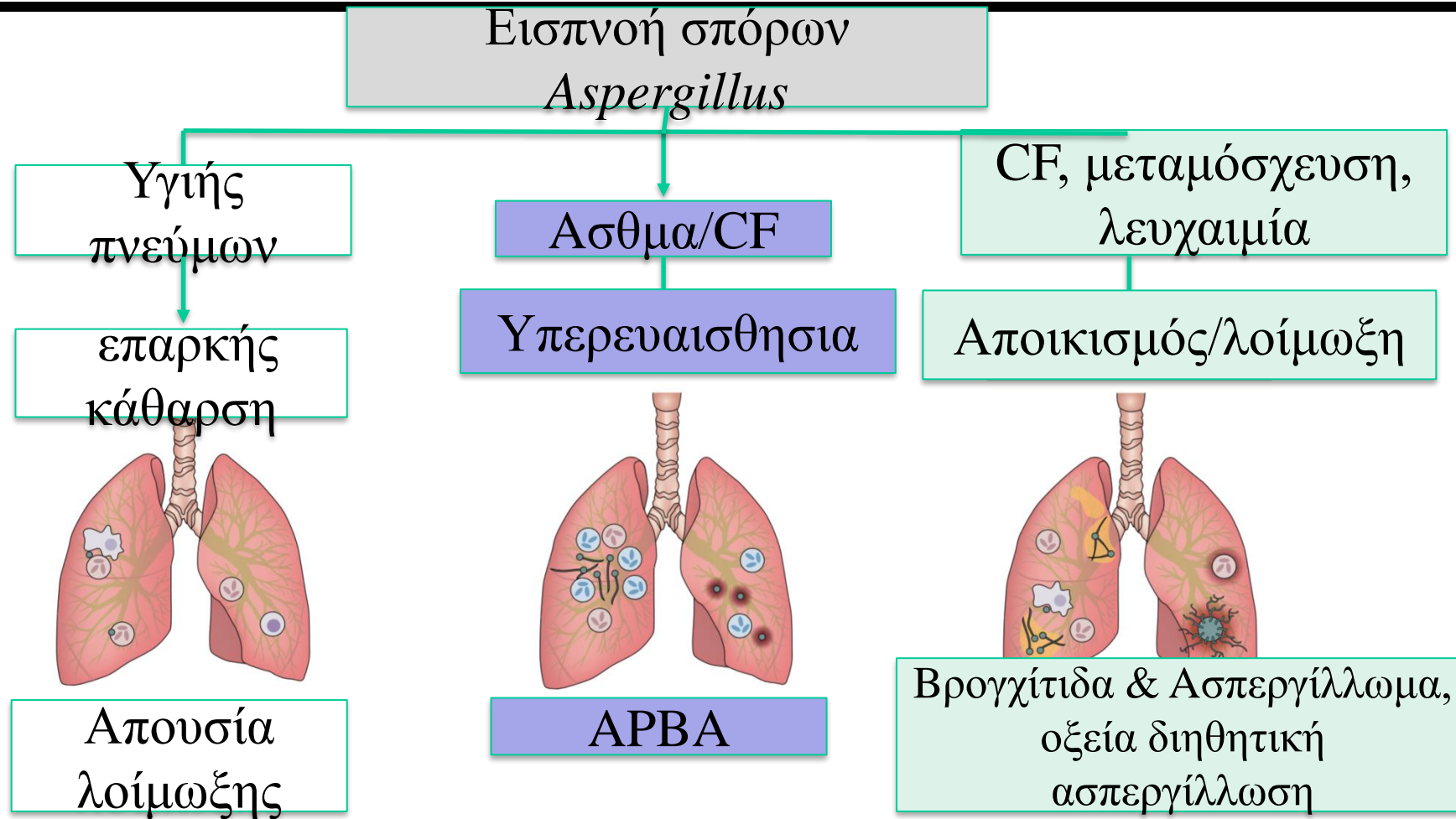
αποσυντιθέμενη οργανική ύλη



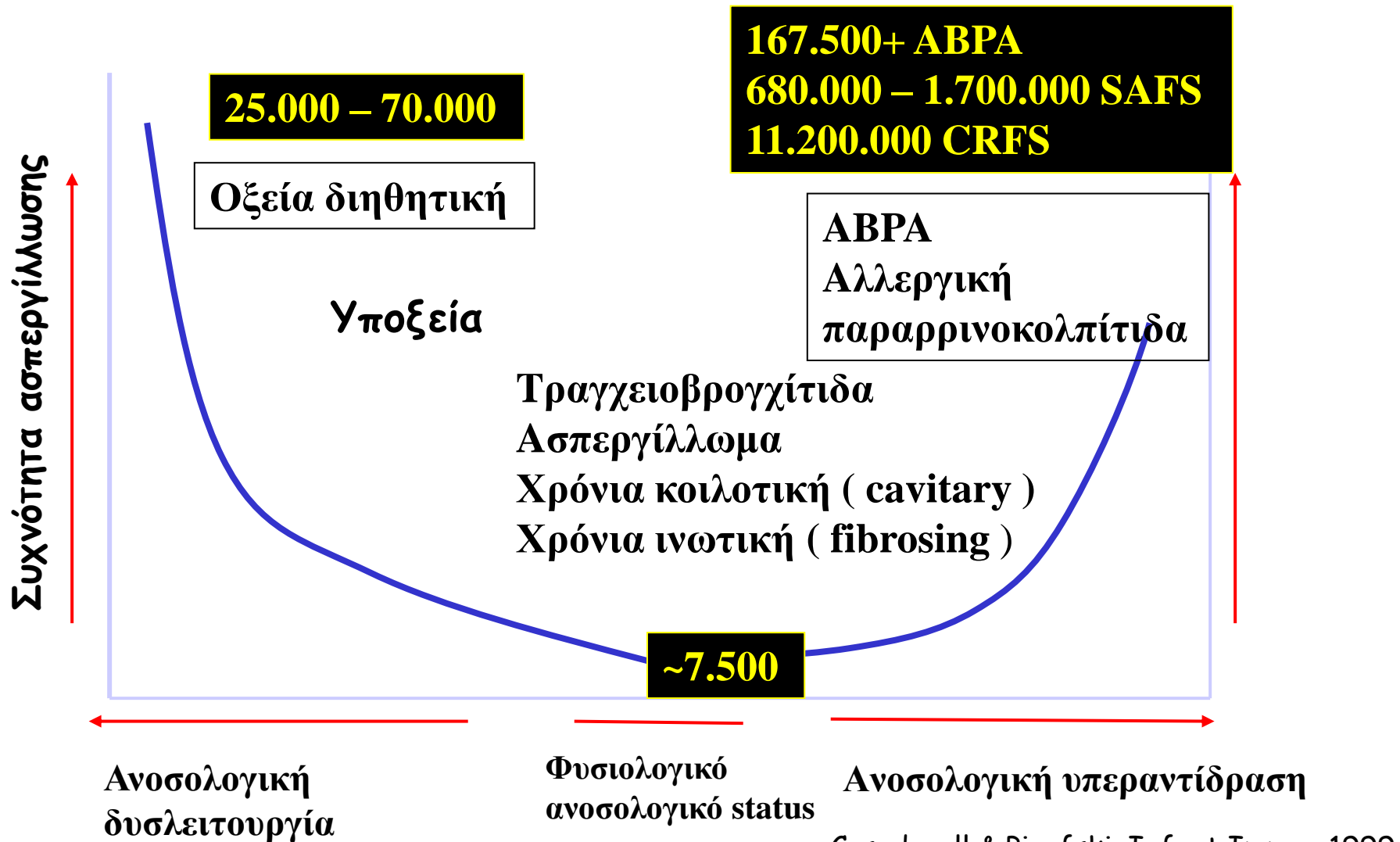
Ανεύρεση *Aspergillus* sp σε βρογχικές εκκρίσεις– τι σημαίνει?

- Αποικισμός ?
- Αλλεργία?
- Λοίμωξη?

Ευρύ φάσμα εκδηλώσεων ασπέργιλλου



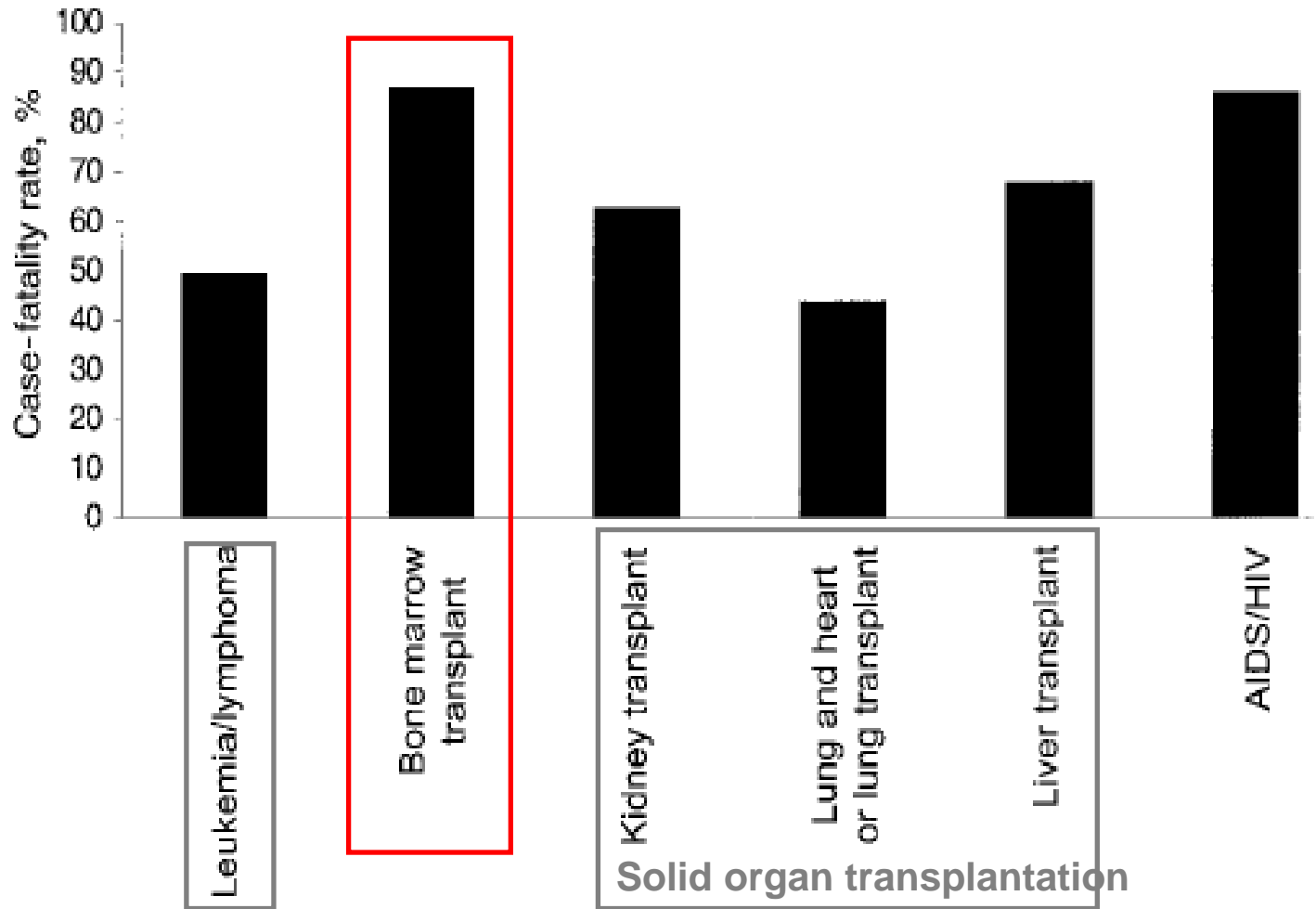
Αλληλεπίδραση *Aspergillus* με ξενιστή επίπτωση σε Ευρώπη



Οικοδομικές εργασίες! Σκόνη, κλιματισμός



Ασπεργίλλωση: Ποσοστά θνητότητας Υποκείμενα νοσήματα



(Lin et al. Clin Infect Dis 2001;32:358-366)

ΕΜΒΟΛΟ ΑΠΟ *ASPERGILLUS*



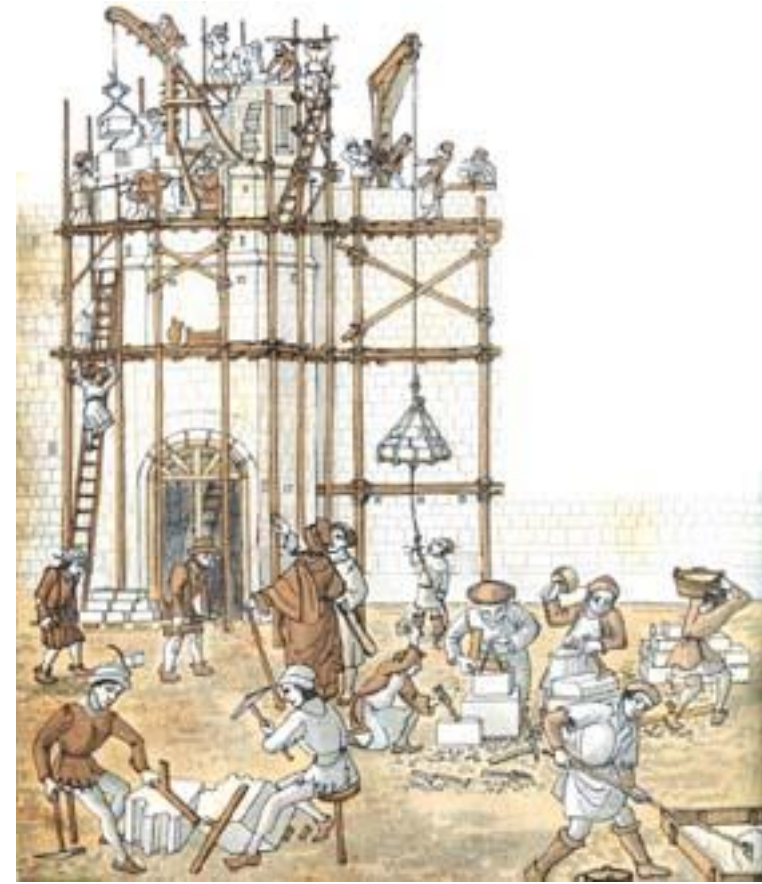
Παράγοντες κινδύνου για ασπεργίλλωση

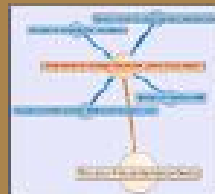
Κύριοι

- Ουδετεροπενία
- Λήψη στεροειδών

Άλλοι

- Ιδιοπαθής CD4 λεμφοπενία
- Συγγενείς ανοσοανεπάρκειες (πχ CGD)
- Ανατομική αλλοίωση/νόσος πνευμόνων (ΧΑΠ)
- Κίρρωση
- Χρήση μαριχουάνας
- Μεγάλη έκθεση





DEBATEGRAPH
How to
respond to
Iran's nuclear
ambitions?



Anglian Home Imp

News

Opinion

Environment

Sport

Life & Style

Arts & Entertainment

Travel

UK

World

Business

People

Science

Media

Education

Obituaries

Corrections

V

[Home](#) > [News](#) > [UK](#) > [Home News](#)

Man died after inhaling spores of garden fungus

By Amol Rajan

Friday, 13 June 2008

SHARE | PRINT | EMAIL | TEXT SIZE

A potentially lethal biohazard could be breeding in gardens across Britain, according to a report in the medical journal *The Lancet*.

Doctors issued the warning after it emerged that a healthy middle-aged man died after inhaling fungal spores from rotting plant material. The 47 year-old man from Buckinghamshire was thought at first to have developed pneumonia following a minor bacterial infection. But after a week in which he suffered chest pains, shortness of breath, and a sputum-inducing cough, he was admitted to hospital. At the time he was suffering from a fever. Within 24 hours he became so short of breath that, despite being given oxygen, he was placed in intensive care.

SPONSORED LINKS:

Ads by Google

Mazda Scrappage Deal

Get up to £6000 off any new Mazda. 5.9% APR. No deposit needed.
www.mazda.co.uk/Scrappage

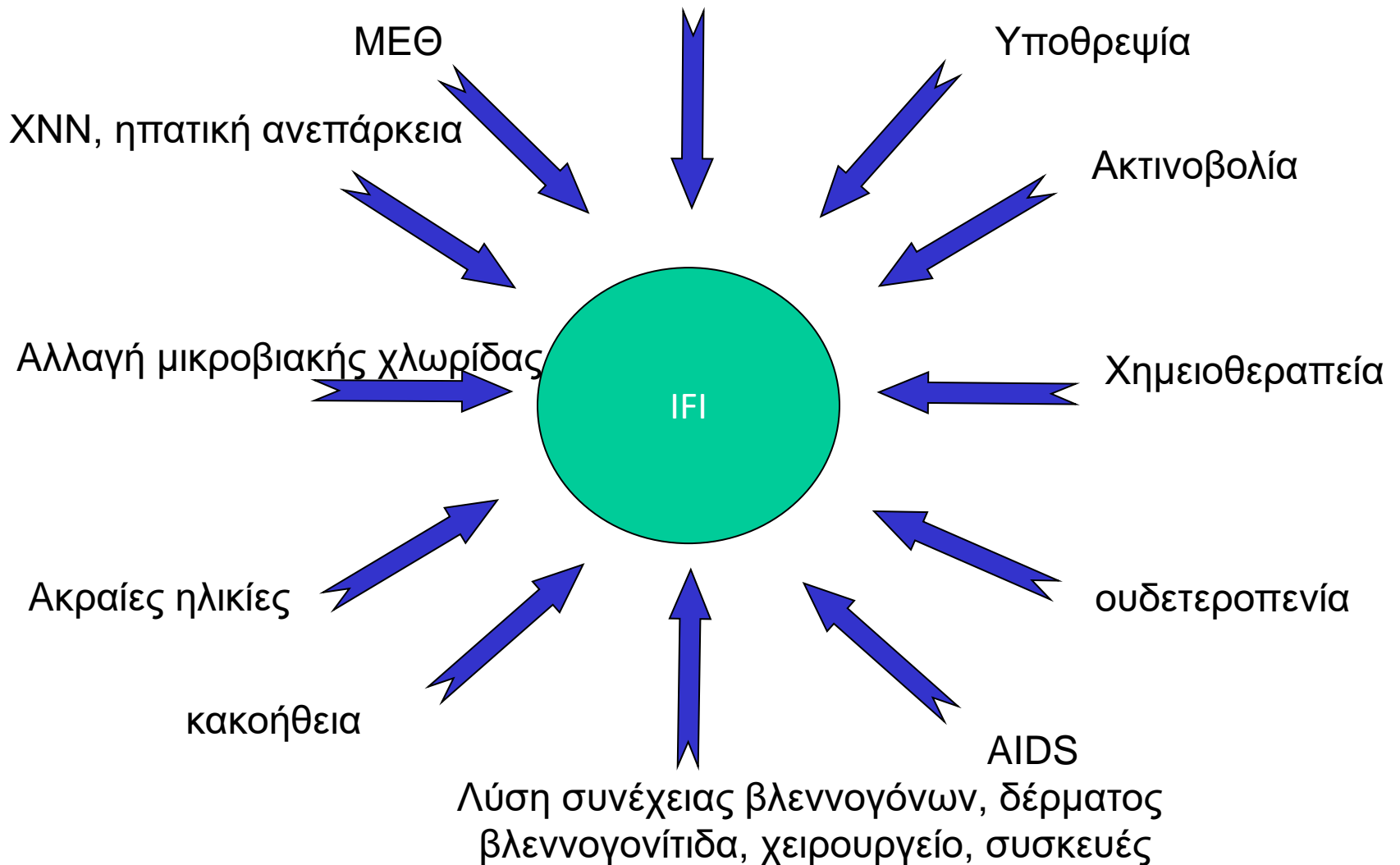
100% Funded MBA With ACCA

Study A MBA For Free With Your ACCA Qualification!
250 Places, Book Now
ACCAMBA.com

Προδιαθεσικοί παράγοντες για διηθητική μυκητίαση

Dimopoulos G, Vincent JL, 2002

Ανοσοκαταστολή, κυκλοσπορίνη, στεροειδή



Συστηματικές μυκητιάσεις κλινικό δείγμα

- Πύον
- Βιοψία
- BAL
- Ούρα
- Πτύελα
- ΕΝΥ
- Αίμα
- Απόξεση ή swabs από τις βλάβες

Αποστειρομένος συλλέκτης για συλλογή υλικού για καλλιέργεια μυκήτων



Συνθήκες μεταφοράς για διάγνωση μυκητιακών λοιμώξεων

Υλικό	Συνθήκες μεταφοράς
Πτύελα	Αποστειρωμένος συλλέκτης
Βρογχοσκοπικό υγρό	Αποστειρωμένος συλλέκτης
ΕΝΥ	Σε καθυστέρηση επεξεργασίας του δείγματος, το υλικό θα πρέπει να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου
Ούρα	Σε καθυστέρηση >2hrs, συντήρηση σε 4°C
Αίμα	Ειδικές φιάλες αιμ/γείων για μύκητες με Biphasic agar broth
Βιοψία ιστού	Υλικό δεν πρέπει να ψυχθεί ή να αφυδατωθεί πριν την καλ/γεια

Συλλογή υλικού, μεταφορά και επεξεργασία

- **Επαρκές υλικό** (≥ 2 ml βιολογικού υγρού) αποστέλλεται στο εργαστήριο.
Ανεπαρκές υλικό μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα.
- Σε νεκρωτική εσχάρα, **λήψη υλικού κάτω από τη νέκρωση**
- Μεταφορά του υλικού εντός 2 h και άμεση επεξεργασία.
- Σε καθυστέρηση, **συντήρηση ούρων σε 4°C (αίμα, μυελός, ΕΝΥ και ιστός συντήρηση στους 35-37°C).**
- Ιδανικά, συλλογή δείγματος με την έναρξη εκδήλωσης συμπτωμάτων και προ της έναρξης αντιμυκητιακών.
- **Αποφυγή επιμόλυνσης** και διασφάλιση ασφάλειας του προσωπικού που τα διαχειρίζεται.

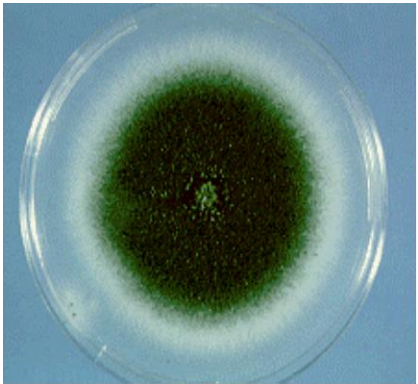
Καλλιέργειες για μύκητες

- **Απαιτούμενη θερμοκρασία**
 - Πλειονότητα μυκήτων – 37°C
 - Επιπολής μυκητιάσεις – 30°C
 - Δίμορφοι μύκητες – 25°C & 37°C
- **Χρόνος επώασης**
 - ≥ 4 βδομάδες
 - Συνήθως θετικές σε 7-10 ημέρες
 - Candida & Aspergillus - 24 έως 72 hrs

Γιατί υπάρχει μικρή πρόοδος στη διάγνωση?



- ❑ Σημεία και συμπτώματα **μη ειδικά**
- ❑ Διηθητική νόσος δύσκολα διακρίνεται από **αποικισμό**



- ❑ Τα κλασσικά διαθέσιμα τεστ θετικοποιούνται αργά και χαρακτηρίζονται από **χαμηλή ευαισθησία και/ή ειδικότητα**

- ❑ Αδυναμία διενέργειας επεμβατικών διαγνωστικών



Εργαστηριακή διάγνωση

- Άμεση μικροσκόπηση
- Καλλιέργεια
- Ορολογικά tests
- Δερματικά tests
- PCR & άλλες μοριακές μέθοδοι

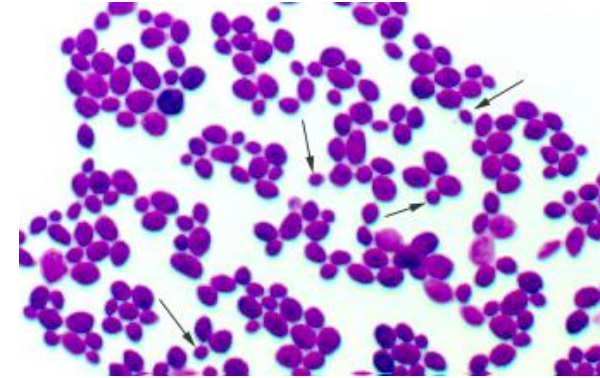
Τεστ αίματος για ασθενείς με εν τω βάθει και συστηματικές μυκητιακές λοιμώξεις

Τα τεστ αίματος δεν είναι χρήσιμες για την διάγνωση επιπολής λοιμώξεων. Σε υποδόριες και συστηματικές μυκητιάσεις διάφορα τεστ είναι επιβοηθητικά.

- **Καλλιέργειες**
- **Αντισώματα** (ιστοπλάσμωση, κοκκιδιοειδομύκωση)
- **Αντιγόνο** (κρυπτοκόκκωση, ασπεργίλλωση, καντιντίαση, ιστοπλάσμωση).

1. Άμεση μικροσκόπηση

Gram χρώση – οι μύκητες είναι gram θετικοί



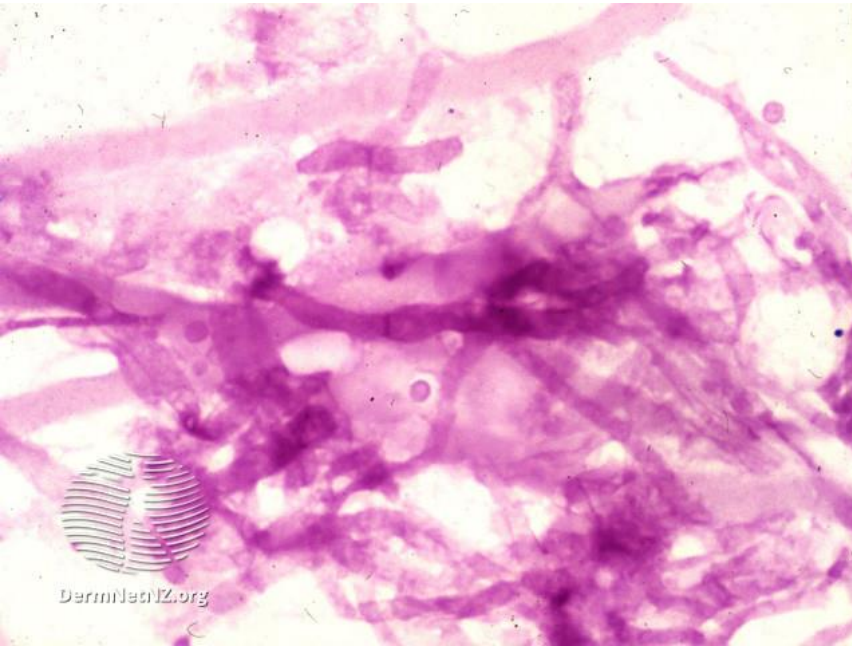
- Ιστοπαθολογία

- χρώση ρουτίνας – Hematoxylin & Eosin (HE)
- ειδικές χρώσεις – PAS (Per Iodic acid), GMS (Grocott Gomori Methanamine Silver), Mayer's mucicarmine, Gridley's stain

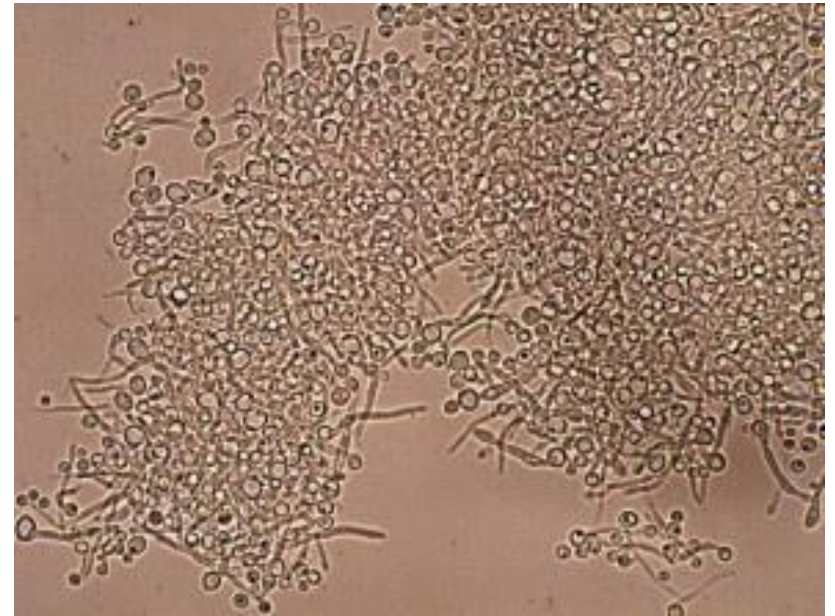
- Χρώση φθορίζουσα αντισωμάτων Fluorescent

- Ανίχνευση Ag μυκήτων σε κλινικό υλικό, such όπως πύο, αίμα, ENY, ιστούς

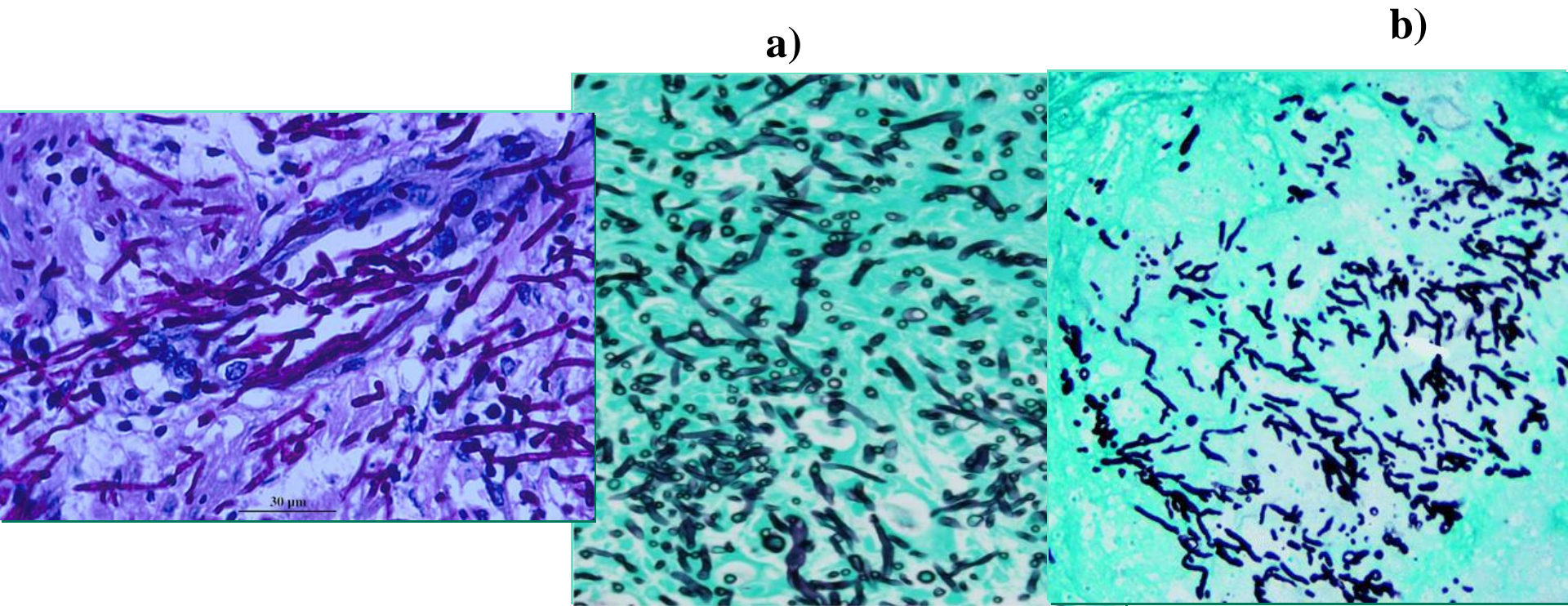
Άμεση μικροσκόπηση



PAS χρώση σε aspergillus σε βιοψία
δέρματος



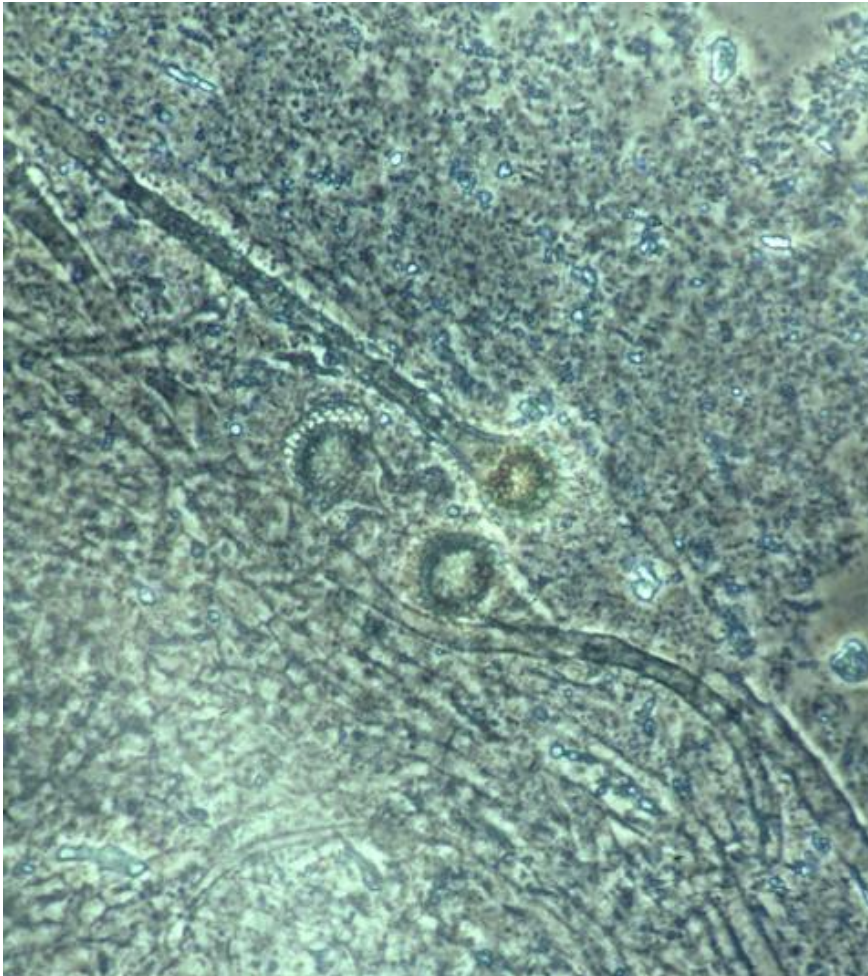
candida με KOH



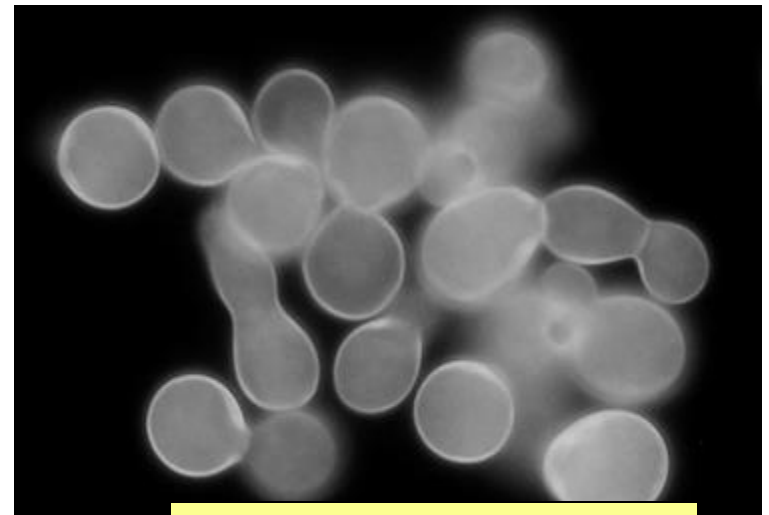
PAS χρώση για διηθητική καντιντίαση
(Mohammadi *et al*, 2015).

Grocott's χρώση για μύκητες σε
ιστοπαθολογικό δείγμα ιστού.
Mucor sp (a) *Aspergillus fumigatus*
(b)(Cho *et al.*, 2007; Chow *et al.*, 2015).

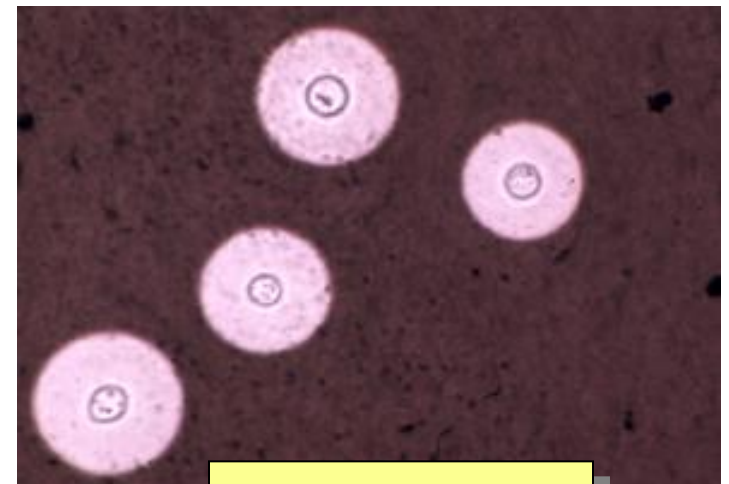
Άμεση μικροσκόπηση



KOH - Aspergillus



**CFW – yeast form of
Blastomyces**

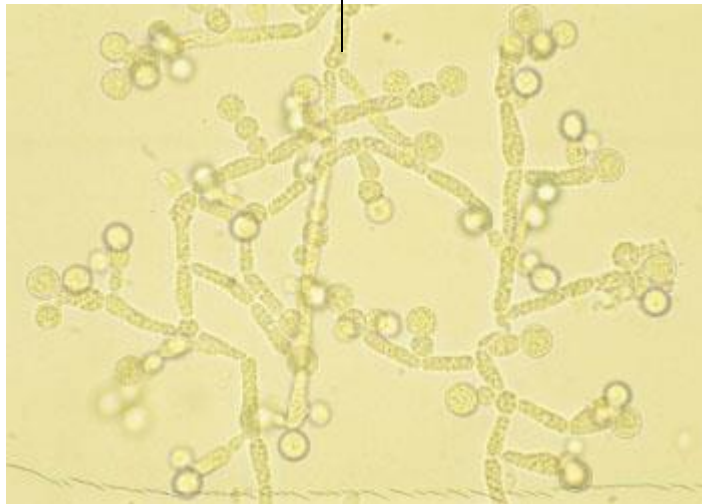
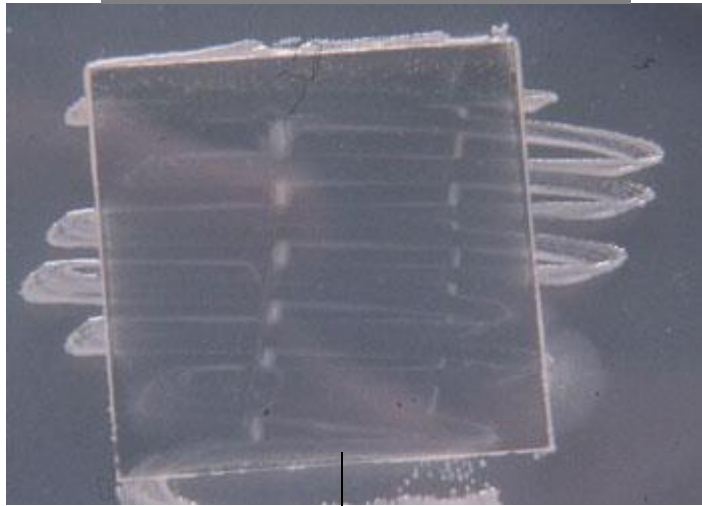


**India ink -
Cryptococcus**

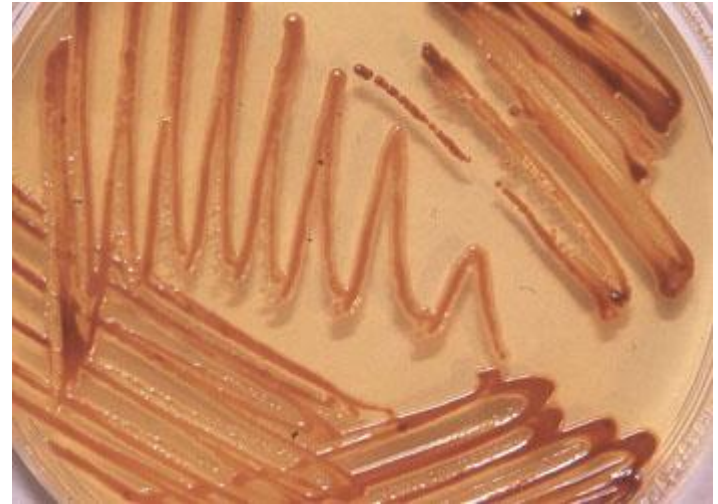
2. Καλλιέργεια μυκήτων

- Sabouraud Dextrose Agar (SDA)
 - περιέχει 2% dextrose, αντιμικροβιακά (gentamicin, chloramphenicol) και cycloheximide
- Εκλεκτικά υλικά
 - Corn meal agar (CMA) – σε παρουσία γλαμυδοσπορίων
 - Bird seed agar – cryptococcus, σχηματίζει καφεόχρες αποικίες
 - Brain Heart Infusion (BHI) agar – δίμορφοι & άλλοι βραδέως αναπτυσσόμενοι μύκητες

Corn Meal Agar



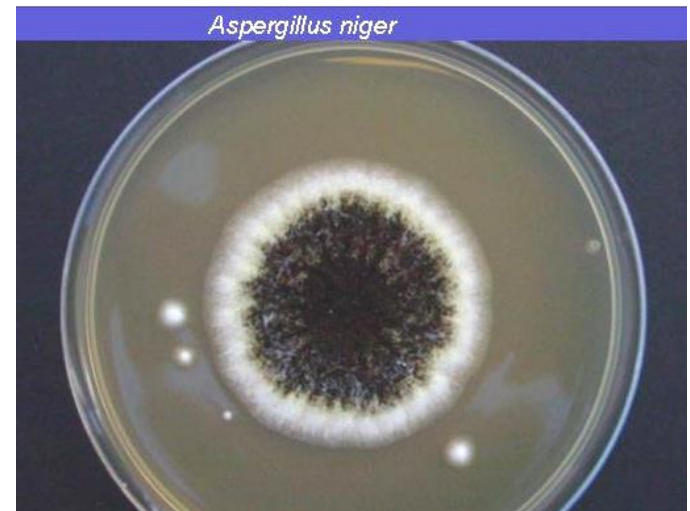
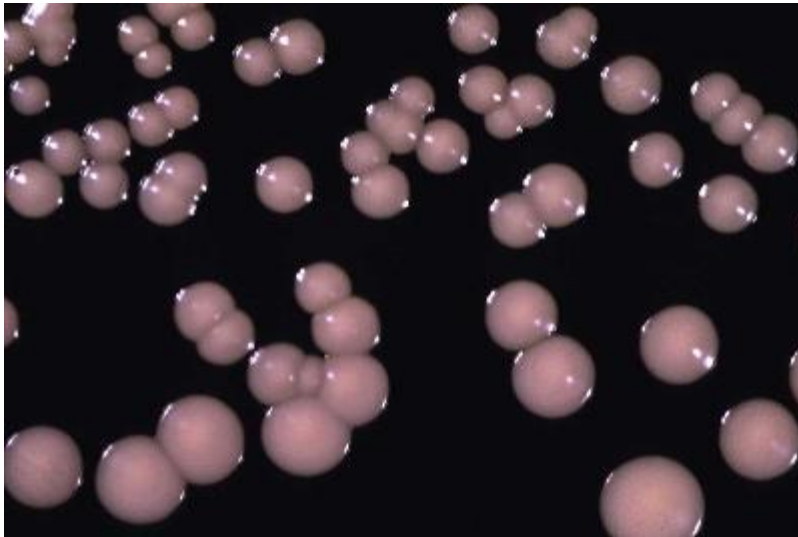
Καλλιέργεια μυκήτων



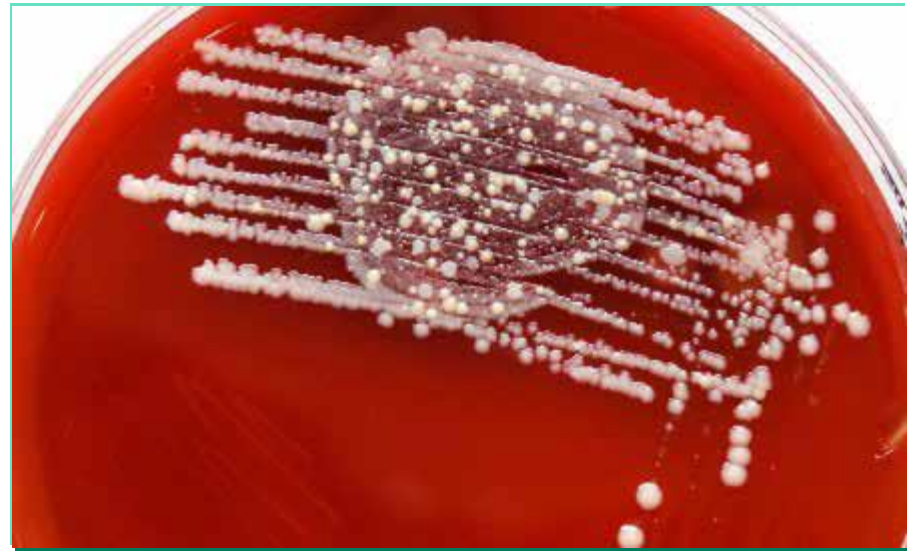
Bird Seed Agar

Απομόνωση μυκήτων από καλλιέργεια

Μορφολογία αποικιών – χρώμα, υφή, παραγωγή χρωστικής



Μυκητιασική οισοφαγίτιδα

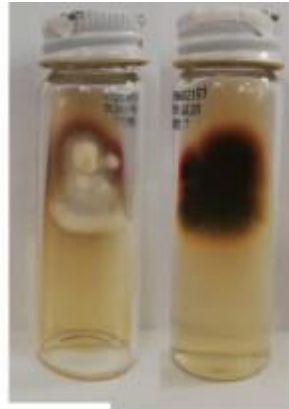


Αιματούχο άγαρ
Candida albicans

Καλλιέργεια μυκήτων



Σωληνάρια με Agar
για καλλιέργεια
δερματόφυτων

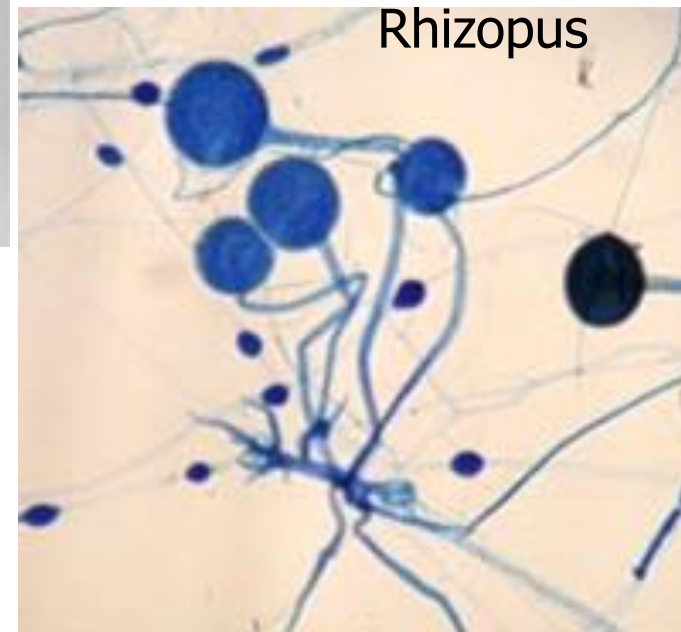
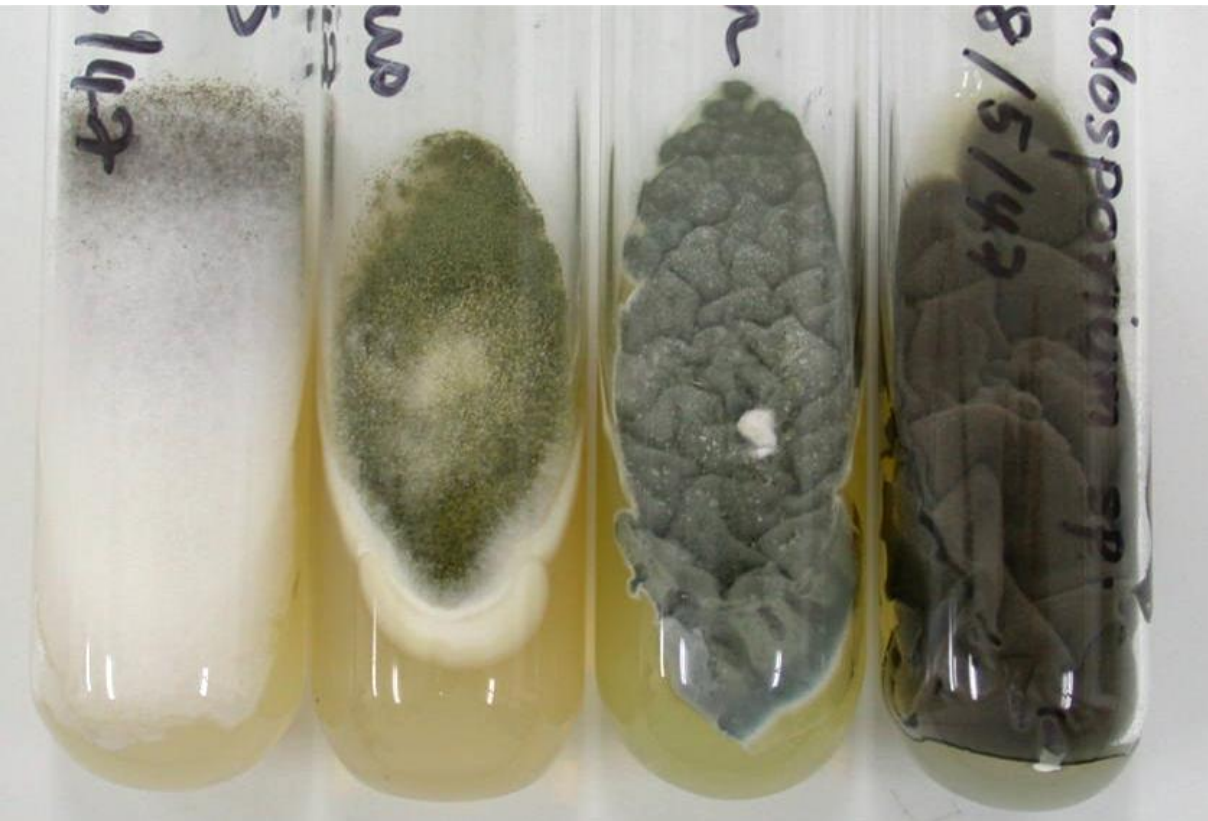


Καλλιέργεια
*Trichophyton
rubrum* σε
agar



Rhodotorula

ΥΦΟΜΥΚΗΤΕΣ



C. auris

C. auris, culture on BiGGY agar



Close-up view shows small to medium oval yeasts

C. auris, culture on BiGGY agar

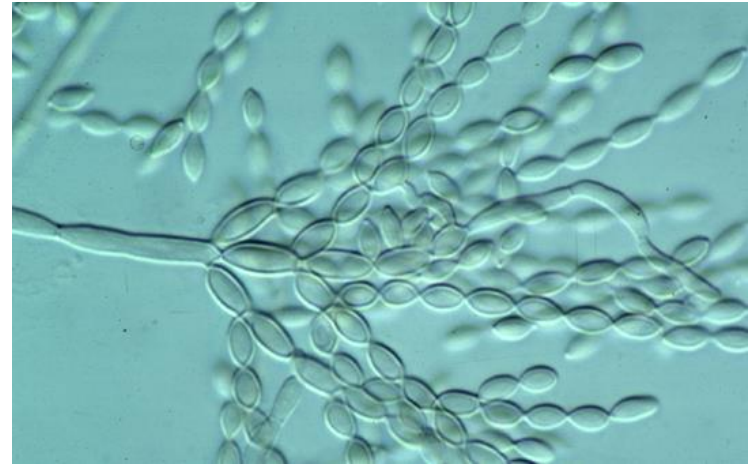


Susceptibility testing

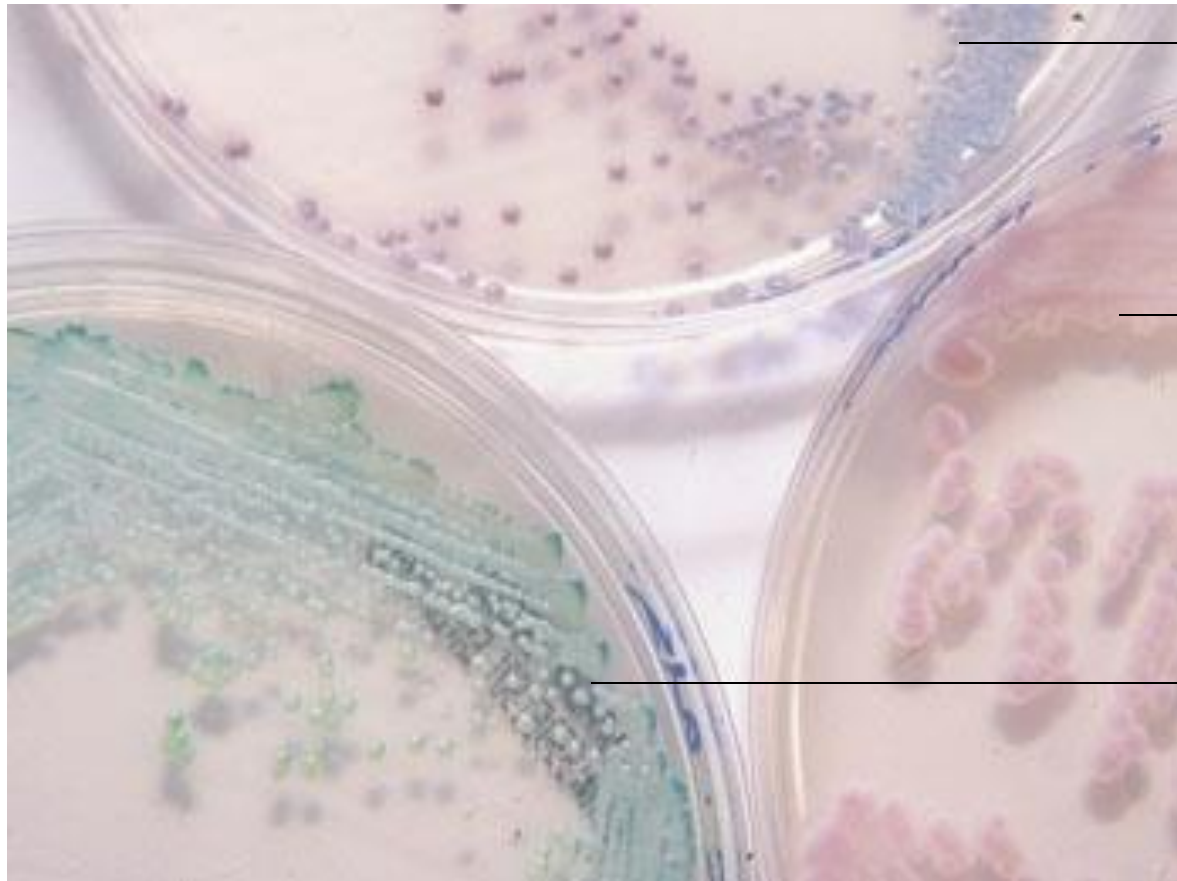


Απομόνωση μυκήτων σε καλ/γυειες

- **Μορφολογία μυκήτων**
μικροσκόπιο – με χρήση Lactophenol Cotton Blue (LPCB) χρώση
- Σύσταση LPCB
 - **Lactic acid** – διατηρεί τη δομή του μύκητα
 - **Phenol** – σκοτώνει κάθε ζώντα οργανισμό
 - **Glycerol** – εμποδίζει την ξηρότητα
 - **Cotton blue** – προσδίδει μπλέ χρώμα



Απομόνωση ειδών
Ειδικές τεχνικές



C.tropicalis

C.krusei

C.albicans

CHROM Agar

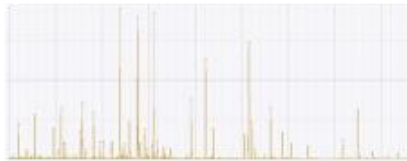
Νέα μέθοδος, η φασματομετρία μάζας MALDI TOF για ταχεία διάγνωση (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight).



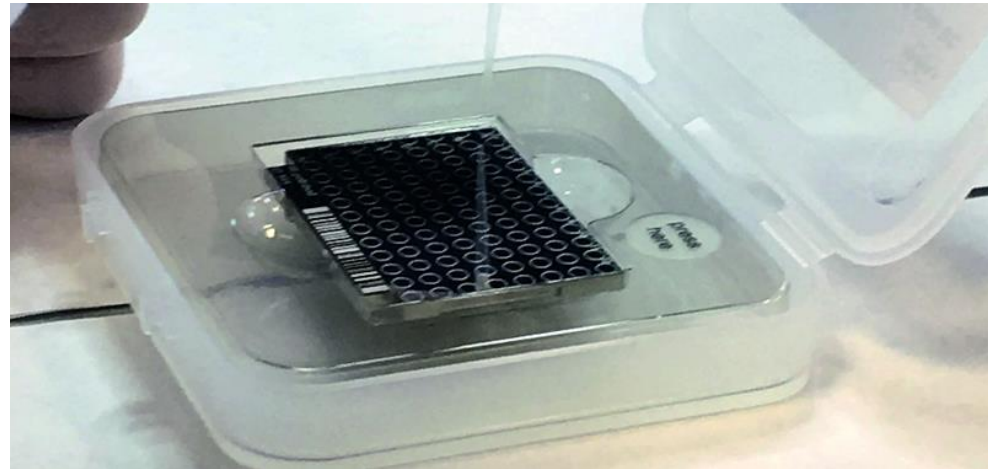
Spot colony on MALDI
plate, add matrix, dry
and place in machine



Import and clean up in
BioNumerics



Perform cluster analysis,
biomarker search,
identification,...



Ταυτοποίηση ειδών Candida

Αυτοποιημένες μέθοδοι (βιοχημικές αντιδράσεις)

Οι πλέον χρησιμοποιούμενες, εμπορικά διαθέσιμες:

- Auxacolor system (Sanofi Diagnostics Pasteur, Paris, France)
- Vitek 2 system (Biomérieux, Marcy-l'Etoile France)
- API Candida (BioMérieux, Marcy-l'Etoile France).
- Σε μετανάλυση 26 μελετών, η ακρίβεια των συστημάτων ήταν 89% για την Auxacolor, 80% για την API ID32C και 93% για την Vitek 2 (Posteraro et al., 2015).

API



Vitek 2 system



Αυτοματοποιημένη μέθοδος VITEK 2 για ταυτοποίηση βακτηρίων και μυκήτων και τεστ ευαισθησίας





Examen direct

10µm



Culture



AuxaColor™ 2

Candida albicans

C.Neg	GLU.	MAL.	SAC.	GAL.	LAC.	RAF.	INO.
CEL.	TRE.	ADO.	MEL.	XYL.	ARA.	HEX.	POX/PRO



REF

LOT

4A0190

26 GAP

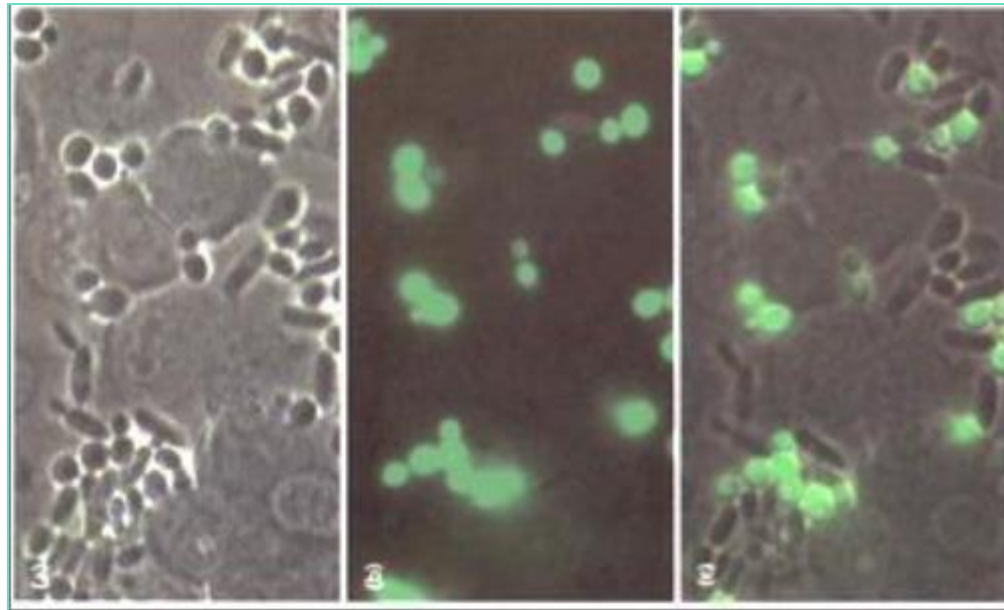
Fluorescence in situ hybridisation (FISH) για απομόνωση ζυμομυκήτων

-

(a)

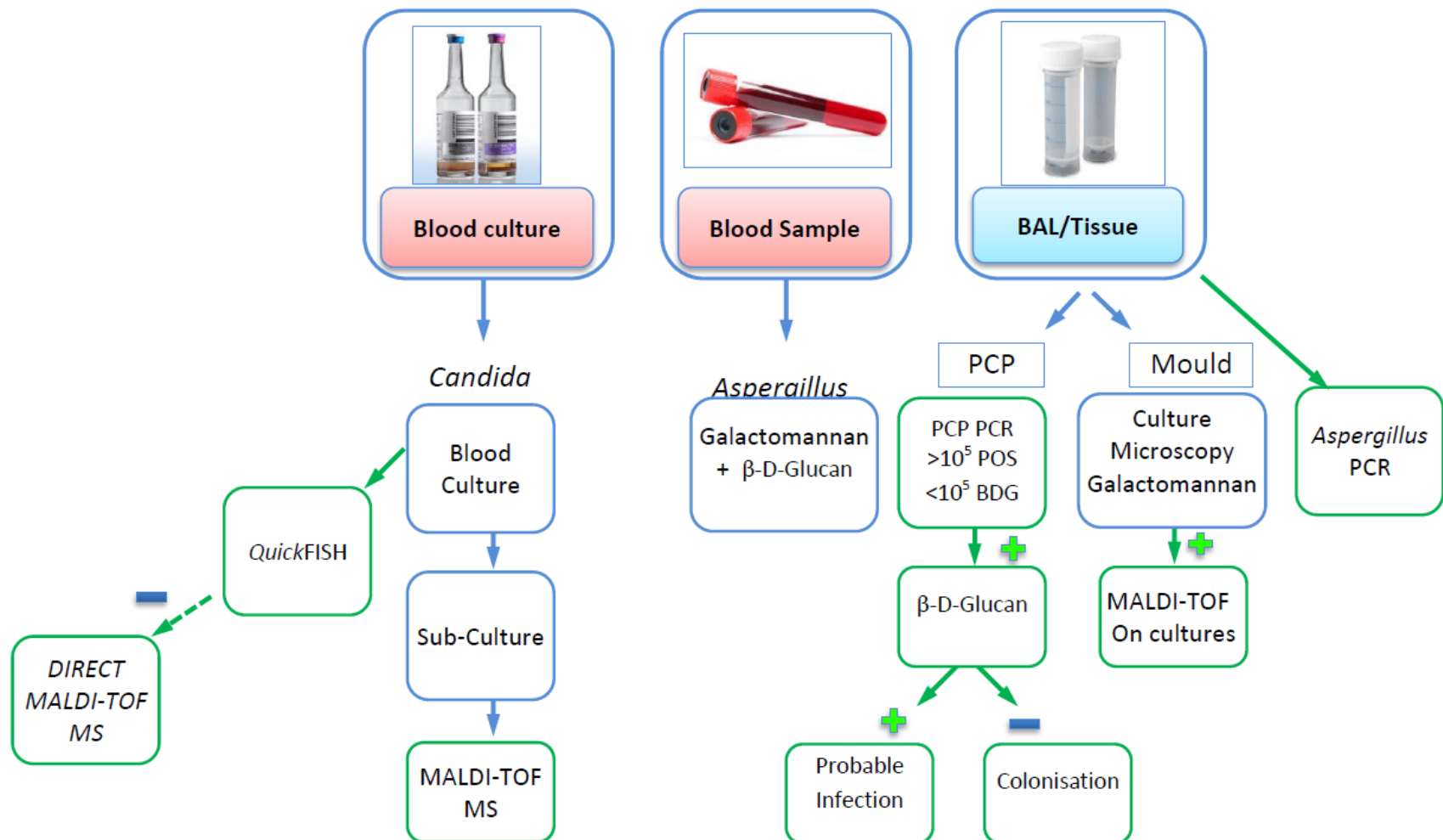
(b)

(c)



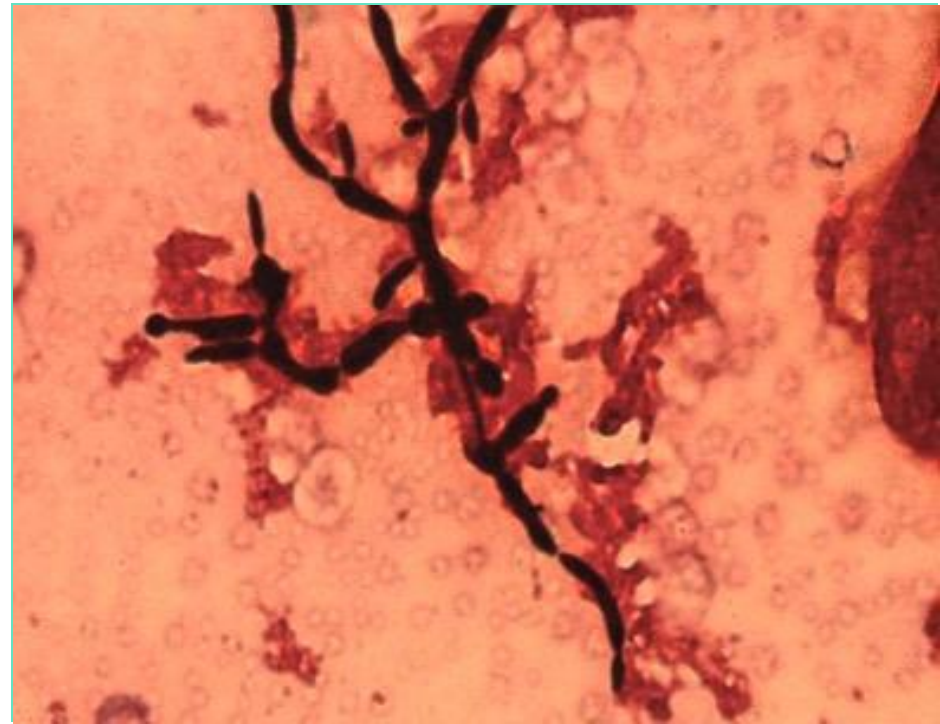
(a) Phase contrast micrograph showing the round *C. albicans* and the oval-shaped *C. krusei* adhering to the endothelial cells. (b) The same section viewed by fluorescence microscopy. (c) Double exposure of the phase contrast and fluorescence micrographs. Note that only the round *C. albicans* cells, but not the longer *C. krusei* cells are stained by the fluorescently labelled probe 020 (Lischewski et al., 1996).

Routine Diagnostic Service in the new HSL microbiology laboratory – 2017



Καλλιέργεια αίματος για *Candida*

- Μόνο 35%-50% έχουν θετική καλλιέργεια κατά την έναρξη των συμπτωμάτων
- Η προφύλαξη μειώνει την ευαισθησία
- > 72 ώρες για θετικοποίηση για *Candida*
- Άλλες 48 ώρες για ταυτοποίηση – μυκητόγραμμα
- Σε ιστό ή βιολογικά υγρά το standard of care είναι μικροσκόπηση και καλλιέργεια σε ειδικά θρεπτικά υλικά (Schelenz *et al.*, 2009).



Καντινιασική ενδοφθαλμίτιδα



Detection mannan and anti-mannan



EFISG

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

ESCMID FUNGAL INFECTION
STUDY GROUP

Mikulska et al. *Critical Care* 2010, **14**:R222
<http://ccforum.com/content/14/6/R222>



RESEARCH

Open Access

The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia

Malgorzata Mikulska^{1*}, Thierry Calandra², Maurizio Sanguinetti³, Daniel Poulain⁴, Claudio Viscoli⁵,
the Third European Conference on Infections in Leukemia Group

14 studies, 453 patients and 767 controls

Platelia Ab

Ag

Both

Sensitivity

58%

59%

83%

Specificity

93%

83%

86%

+ prior culture

6 days in average

Detection mannan and anti-mannan



EFISG

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

ESCMID FUNGAL INFECTION
STUDY GROUP

Mikulska et al. *Critical Care* 2010, **14**:R222
<http://ccforum.com/content/14/6/R222>



RESEARCH

Open Access

The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia

Malgorzata Mikulska^{1*}, Thierry Calandra², Maurizio Sanguinetti³, Daniel Poulain⁴, Claudio Viscoli⁵,
the Third European Conference on Infections in Leukemia Group

14 studies, 453 patients and 767 controls

Platelia Ab

Ag

Both

500%

500%

200%

Chronic disseminated candidiasis:

21 cases, 86% S

16 days prior culture

6 days in average

+

pre_culture

Εμπειρική και preemptive θεραπεία για καντιντίαση σε ΜΕΘ

• Εμπειρική

- ✓ « Candida score»
- ✓ Ostrosky-Zeichner prediction rule....

προσπάθεια συνδυασμού non-culture
τέχνικών

• Preemptive

- ✓ b-D-glucan
- ✓ Candida albicans germ tube antibodies (CAGTA)
- ✓ PCR
- ✓ CCI>0.4 (Piarroux et al)

Μοριακές τεχνικές διάγνωσης

Mycopathologia (2016) 181:623–624
DOI 10.1007/s11046-016-0033-4



GUEST EDITORIAL

Has *Aspergillus* PCR Come to the Age of Maturity?

Alessandro C. Pasqualotto · Diego R. Falci

Candida PCR in clinical samples

Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR detection of *Candida* DNA in blood samples

Nele Wellinghausen,^{1,2} Dunja Siegel,¹ Juliane Winter^{1†}
and Susanne Gebert^{1†}

10.1111/j.1469-0691.2009.02762.x

Evaluation of nested and real-time PCR assays in the diagnosis of candidaemia

M. Khlif¹, C. Mary², H. Sellami¹, A. Sellami¹, H. Dumon², A. Ayadi¹ and S. Ranque²

1) Laboratoire de Biologie Moléculaire Parasitaire et Fongique, Faculté de Médecine, University of Sfax, Sfax, Tunisia and 2) Laboratoire de Parasitologie-My-
cologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France

A Prospective Clinical Trial of a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Candidemia in Nonneutropenic, Critically Ill Adults

Clinical Infectious Diseases 2008; 46:890–6

R. McMullan,¹ L. Metwally,¹ P. V. Coyle,¹ S. Hedderwick,² B. McCloskey,³ H. J. O'Neill,¹ C. C. Patterson,⁴
G. Thompson,^{1,3} C. H. Webb,¹ and R. J. Hay⁴

Candida PCR in clinical samples

Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR
detection of *Candida* DNA in blood samples

Nele Wellinghausen,^{1,2} Dunja Siegel,¹ Juliane Winter^{1†}
and Susanne Gebert^{1†}

Evaluation of nest candidaemia

M. Khlif¹, C. Mary², H. Sellami¹,
1) Laboratoire de Biologie Moléculaire
cologie, Hôpital de la Timone, Marseille

Limited number of patients
with proven infection

(Sn>80% and Sp>90%)

Many more studies with PCR
from cultures

A Prospective
Polymerase
of Candidemia in Nonneutropenic, Critically Ill
Adults

Clinical Infectious Diseases 2008; 46:890–6

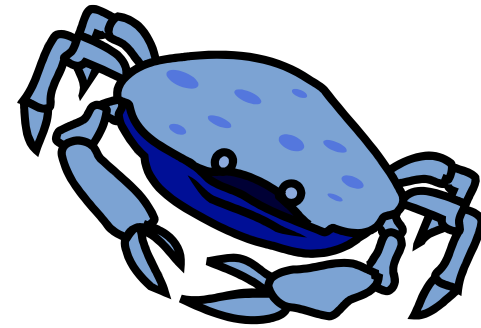
R. McMullan,¹ L. Metwally,¹ P. V. Coyle,¹ S. Hedderwick,² B. McCloskey,³ H. J. O'Neill,¹ C. C. Patterson,⁴
G. Thompson,^{1,3} C. H. Webb,¹ and R. J. Hay⁴

Bacterial and fungal pathogens by SeptiFast

- Multiplex PCR- **Septifast**, Roche (25 pathogens, 5 *Candida* sp, *Asp. Fumigatus*) 10 studies: high sensitive, more *C.glabrata* by blood cultures

Gram-negative bacteria	Gram-positive bacteria	Fungal pathogens
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Klebsiella</i> spp. (<i>pneumoniae/oxytoca</i>)	Coagulase-negative staphylococci	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Serratia marsescens</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Enterobacter</i> (<i>cloacae/aerogenes</i>)	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Candida glabrata</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-

(1→3)-β-D-glucan (BDG)



ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- **Κίνδυνος επιμόλυνση (η γλυκάνη ανευρίσκεται παντού)
ο αποικισμός δεν αυξάνει τα επίπεδα**

ΨΕΥΔΩΣ ΘΕΤΙΚΗ

- ❑ **Μεμβράνες αιμοκάθαρσης** (Miyazaki 1995, Yoshioka 1989)
- ❑ **Πολυμεταγγιζόμενοι**
- ❑ **Albumin** (Usami 2002, Ohata 2003)
- ❑ **Immunoglobulins** (Ogawa 2004)
- ❑ **Γάζες** (Kimura 1995)
- ❑ **Υπερχολερυθριναιμία, υπερτριγλυκεριδαιμία** (Pickering 2004)
- ❑ **Αντιμικροβιακά (amoxicillin-clavulanate)** (Mennink-Kersten 2006)
- ❑ **Λοιμώξεις από *Pseudomonas aeruginosa*** (Mennink-Kersten 2008)

Ερωτήματα BG

- (i) έλεγχος BG σε υψηλού κινδύνου ασθενείς (διαδοχικές μετρήσεις δις ή τρις εβδομαδιαίως κατά τη διάρκεια κινδύνου για IFD vs άπαξ μέτρησης σε υποψία για IFD), (ii) διαγνωστική αξία σε αλλογενή HSCT, παιδιατρικούς ασθενείς, IFD σε διαφορετικές εστίες, βιολογικά υγρά πλην αίματος (BAL, ENY), (iii) διαδοχική μέτρηση αυτού του ‘panfungal’ test σε συνδυασμό με άλλους fungus-specific markers, (iv) χρόνος διάγνωσης και (v) αξία για follow-up IFD.
- Προσοχή σε **ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα**
 - **υπό αντιμυκητιακή προφύλαξη ή θεραπεία**
 - **παθογόνοι μύκητες που δεν ανιχνεύονται με BG, όπως zygomycetes και Cryptococcus, μη διηθητική νόσος και ψευδώς θετικά αποτελέσματα.**



EFISG

ESCMID FUNGAL INFECTION
STUDY GROUP

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Diagnostic Performance of the (1→3)- β -D-Glucan Assay for Invasive Fungal Disease

Sophia Koo,^{1,2,3} Julie M. Bryar,^{1,4} John H. Page,⁴ Lindsey R. Baden,^{1,2,3} and Francisco M. Marty^{1,2,3}

¹Brigham and Women's Hospital, ²Dana-Farber Cancer Institute, ³Harvard Medical School, and ⁴Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts

Clinical Infectious Diseases 2009;49:1650-9

A total of 1308 BG assays were performed for 871 patients. 228 proven or probable IFD

Sensitivity 64%, specificity 84%. Positive likelihood ratio was 3.93 and the negative likelihood ratio was 0.43

**FP: Albumin, intravenous immunoglobulin, and hemodialysis
Empirical systemic antifungal treatment did not reduce overall BG sensitivity.**

Sensitivity was slightly lower among patients with hematologic malignancy or stem cell transplantation

ECCMID GUIDELINES 2011

What are the best tests for diagnosing candidaemia?

Specimen	Test	Considerations	Remarks/Recommendations
Serum	Mannan and Anti-Mannan	<ul style="list-style-type: none"> • Combined detection 	<p>RECOMMENDED Serial determinations may be necessary. High NPV</p>
	Other antibodies (such as Serion ELISA classic)	<ul style="list-style-type: none"> • Limited data for candidemia 	No recommendation
	β-D-Glucan	<ul style="list-style-type: none"> • Not specific for <i>Candida</i> 	<p>RECOMMENDED (for Fungitell) No recommendation for other tests. Serial determinations are recommended (twice a week). High NPV. Not validated in children</p>
	Septifast	<ul style="list-style-type: none"> • Limited data for candidemia 	No recommendation
	In house PCR	<ul style="list-style-type: none"> • No third party validation data available 	No recommendation

Aspergillus galactomannan

- Asp GM + 5-8 ημέρες πριν τα κλινικά και ακτινολογικά ευρήματα
- Ευαισθησία 33-100%, PPV 26-53%, NPV 95-98%
- Σε BAL: ευαισθησία, ειδικότητα, PPV, NPV: 90, 94, 14,9, 10% αντίστοιχα
- GM σε ούρα, E.N.Y

How Should Galactomannan and (1→3)-β-D-Glucan Be Used for the Diagnosis of Aspergillosis?

IDSA 2016: Recommendations.



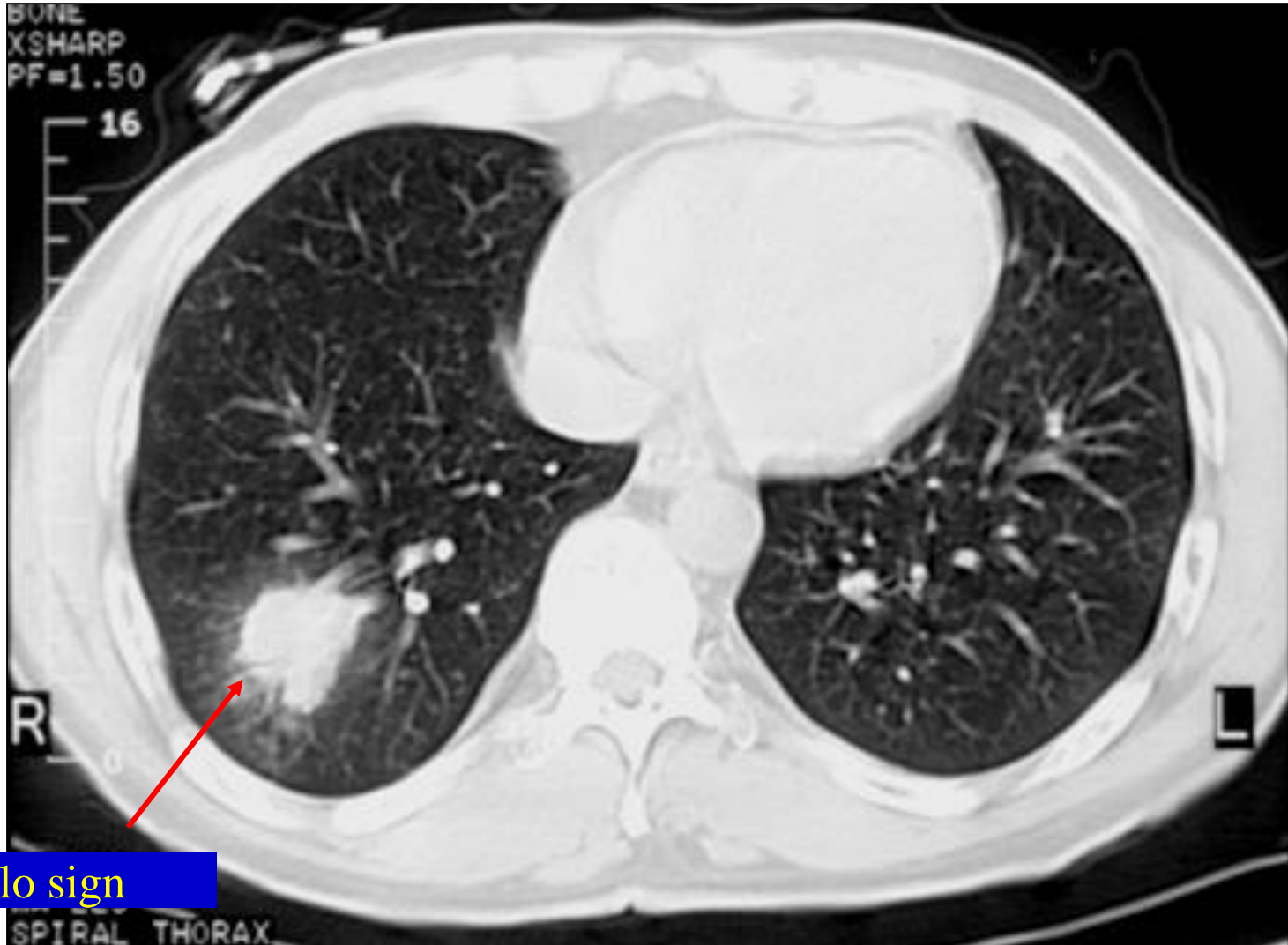
- 9. Serum and BAL galactomannan (GM) is recommended as an **accurate marker** for the diagnosis of IA in adult and pediatric patients when used in certain patient subpopulations (hematologic malignancy, HSCT) (*strong recommendation; high-quality evidence*).
- 10. GM is **not recommended for routine blood screening** in patients receiving **mold-active antifungal therapy or prophylaxis**, but can be applied to bronchoscopy specimens from those patients
(*strong recommendation; high-quality evidence*).
- 11. **GM is not recommended** for screening in **SOT recipients** or patients with chronic granulomatous disease (CGD) (*strong recommendation; high-quality evidence*).
- 12. Serum assays for **(1→3)-β-D-glucan are recommended** for diagnosing IA in **high-risk patients** (hematologic malignancy, allogeneic HSCT), but are not specific for Aspergillus (*strong recommendation; moderate-quality evidence*).

**Probable aspergillosis?
No need to worry!**

**CT scan and
galactomannan
are there to help us out!**

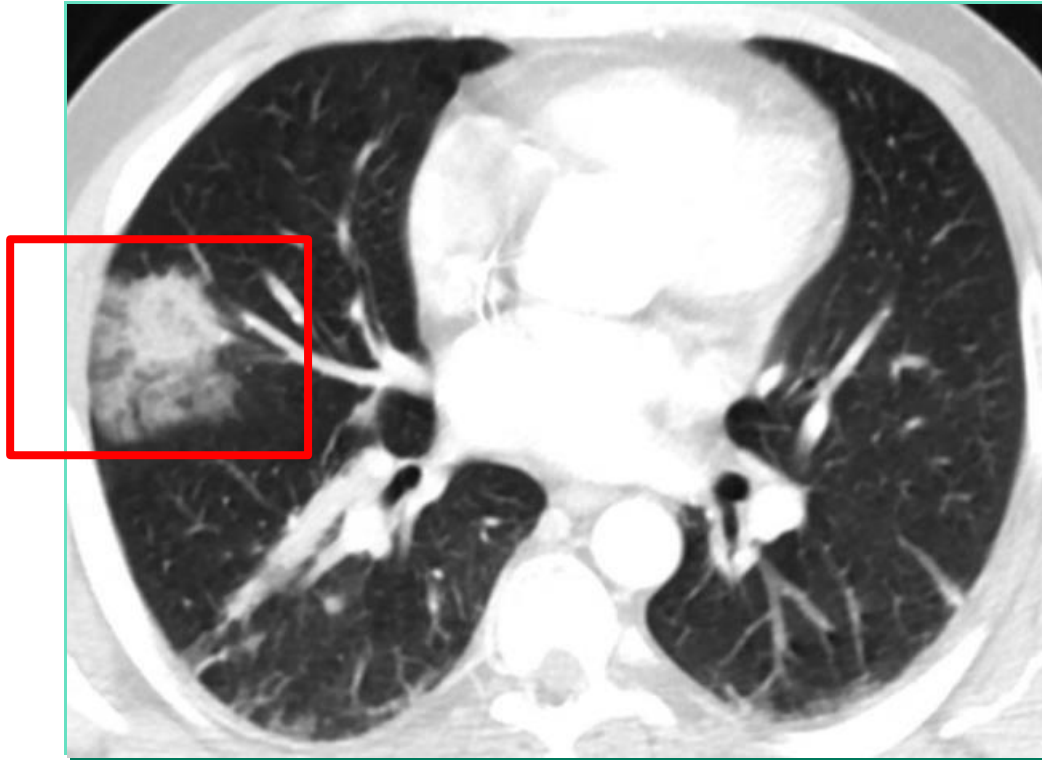


‘Halo sign’ που περιβάλλει όζο



Halo sign

‘Halo sign’



Lung lesions with the halo appearance typical of pulmonary invasive aspergillosis due to a defined circumscribed lesion surrounded by ground glass shadowing (Sheetal Shroff *et al* 2014)

CT scan evolution during IPA

Peripheral halo

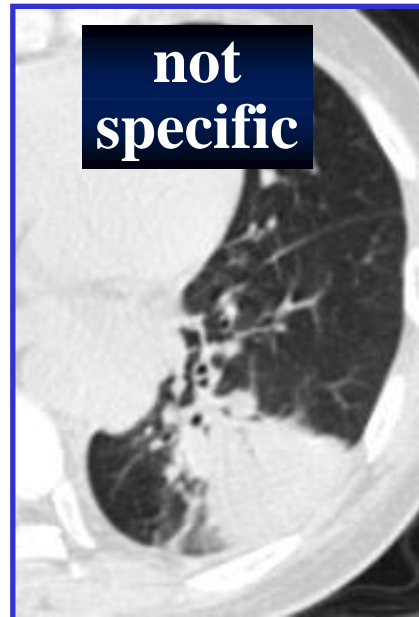
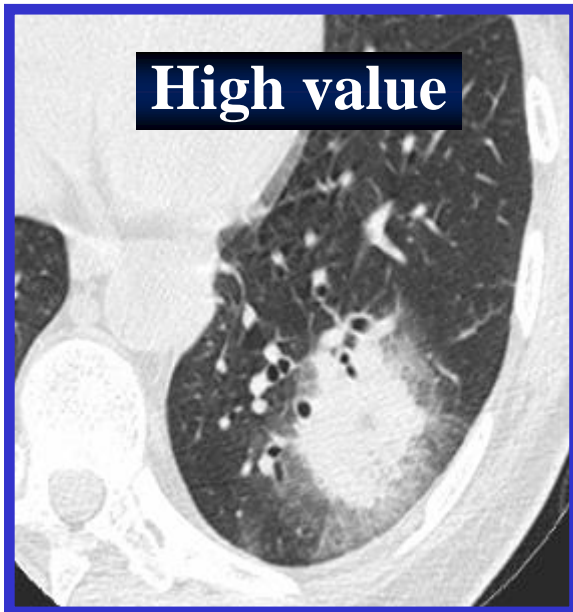
triangular shape

Air-crescent sign

d0 - d5

d5 - d10

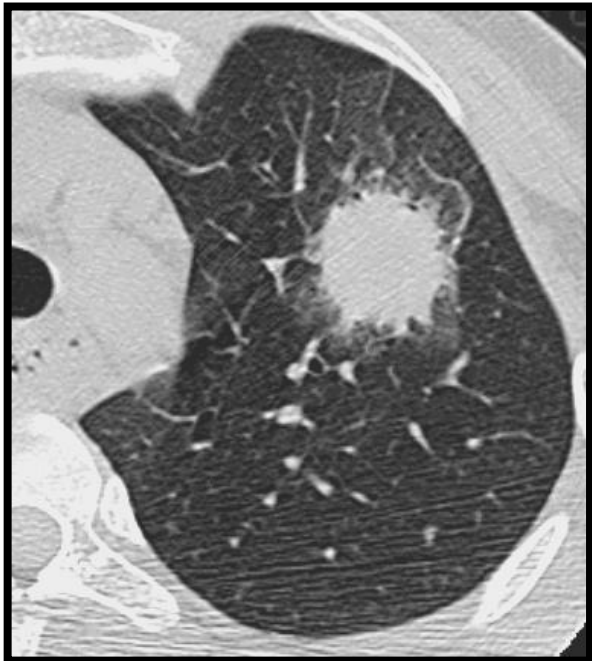
d10 - d20



Neutropenia

PMN >> 500

Διάγνωση πνευμονικής ασπεργίλλωσης CT SCAN



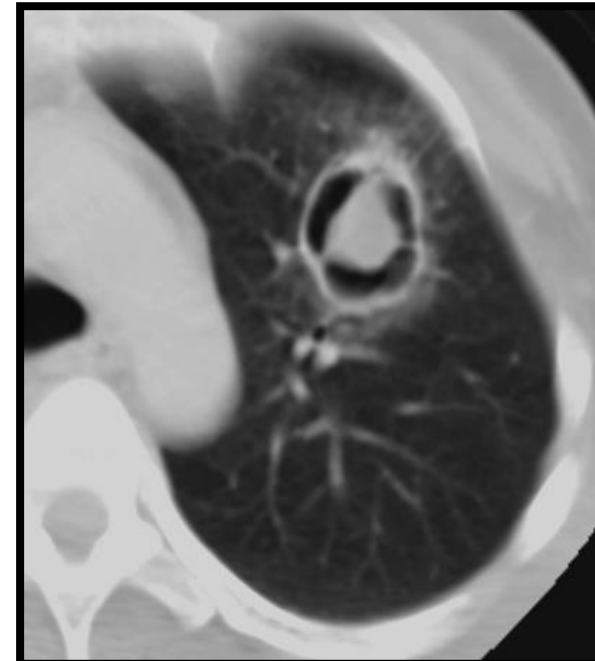
Halo sign

D0 96%
D3 68%
D7 22%
D14 19%



Non-specific consolidation

D0
D3 31%
D7 50%
D14 18%

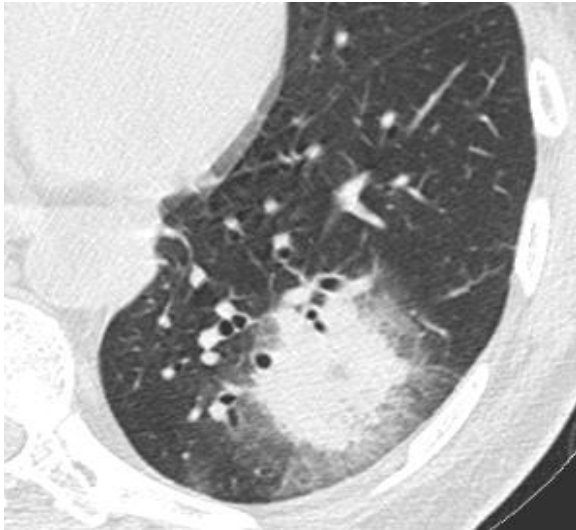


Air crescent sign

D0 0%
D3 8%
D7 28%
D14 63%

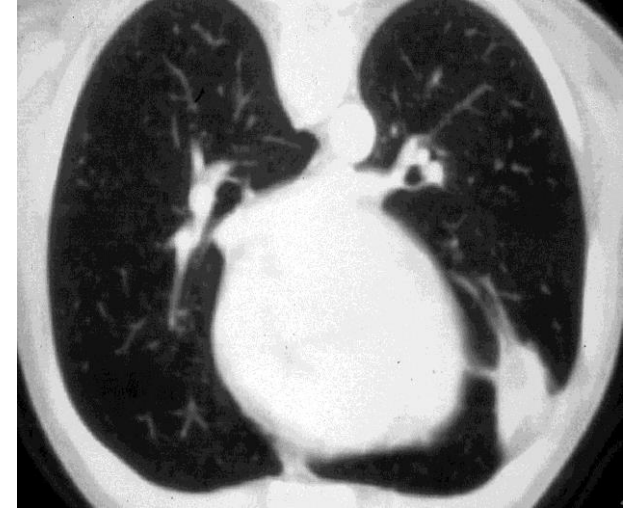
Πνευμονική μυκητιακή λοίμωξη

Mucor

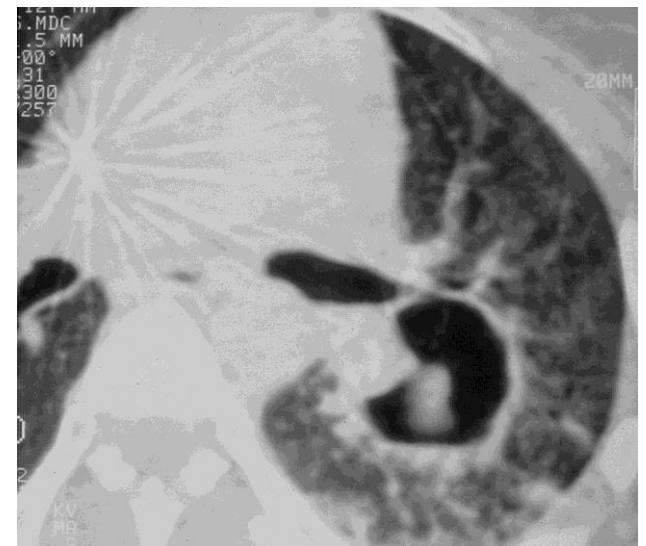
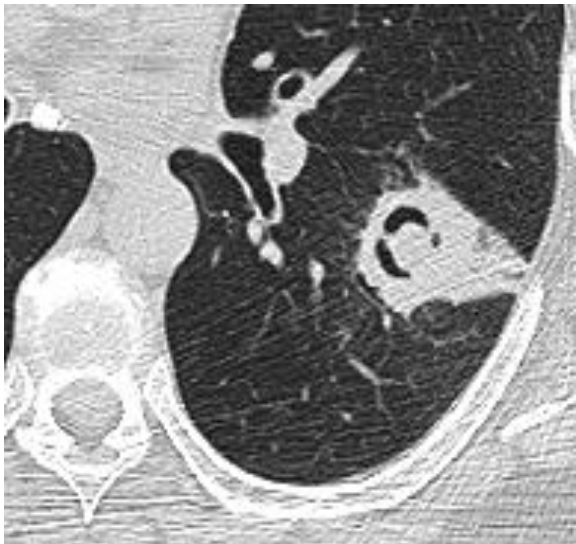


Halo-Sign

Aspergillus

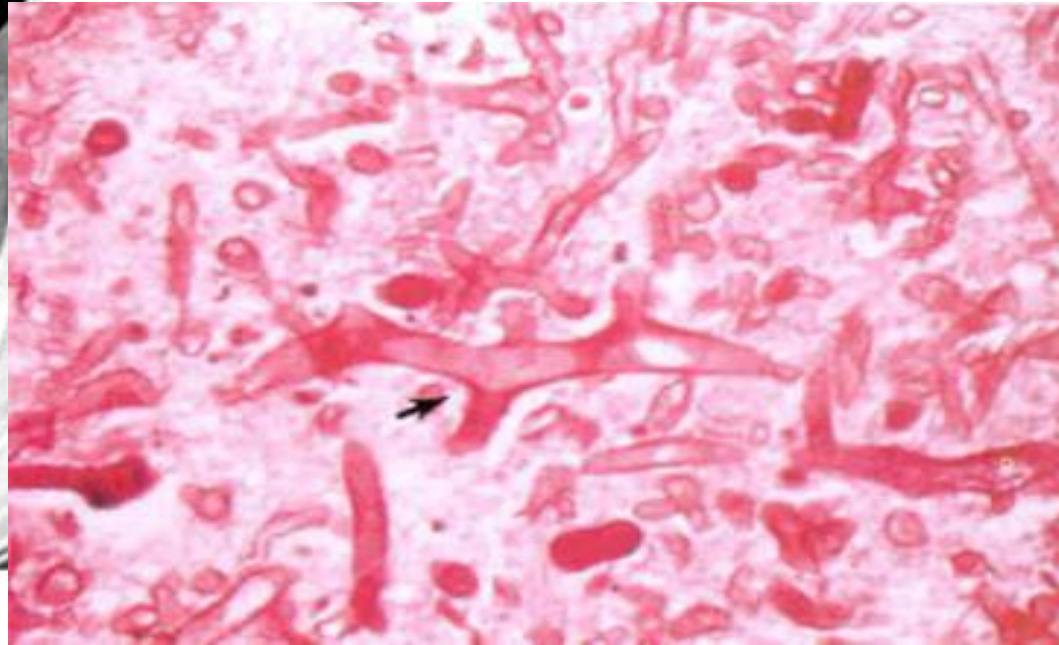
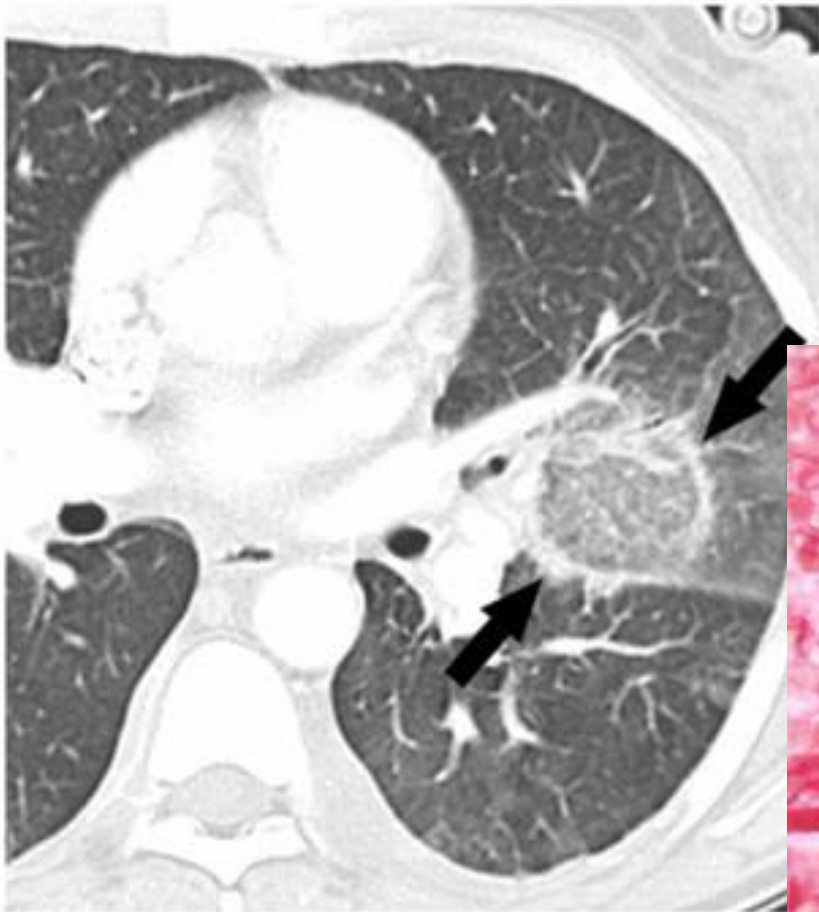


Air-Crescent-Sign



Mucor <4% των υφομυκητιάσεων σε
εμπύρετο ουδετεροπενία

A



Πρώιμη διάγνωση μουκορμύκωσης

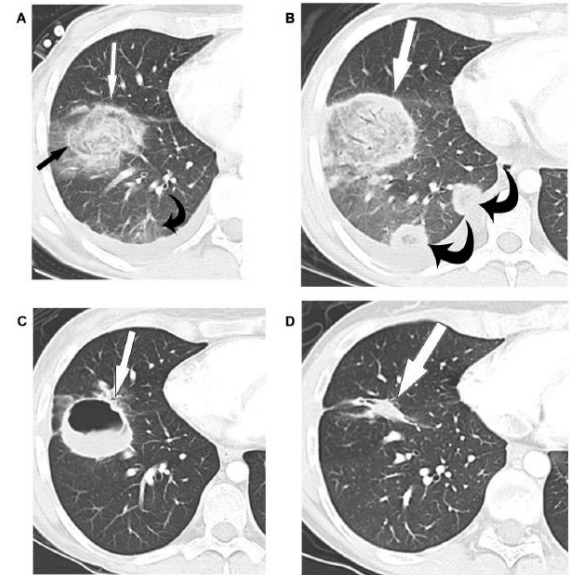
- Παρουσία πολλαπλών (≥ 10) όζων στην CT
- Παρουσία πλευριτικής συλλογής ¹
- “Reverse halo sign”: εστιακή περιοχή “ground glass” περιβαλλόμενη από συμπαγή άλω ²

¹ *Chamilos G et al, Clin Infect Dis 2005;41:60-6*

² *Wahba H, et al Clin Infect Dis 2008;46:1733-7*

'Reversed halo sign'

- **Review of 189 cases of invasive mould disease**
 - ✓ **Overall frequency 4%**
 - ✓ **Zygomycosis 19%**
 - ✓ **Aspergillosis <1%**
 - ✓ **Fusariosis 0%** (p<0.01)



What Is the Approach to the Radiographic Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis?

IDSA 2016: Recommendations. 

- 13. We recommend performing a chest computed tomographic (CT) scan whenever there is a clinical suspicion for IPA regardless of chest radiograph results (*strong recommendation; high-quality evidence*).
- 14. Routine use of contrast during a chest CT scan for a suspicion of IPA is not recommended (*strong recommendation; moderate-quality evidence*). Contrast is recommended when a nodule or a mass is close to a large vessel (*strong recommendation; moderate-quality evidence*).
- 15. We suggest a follow-up chest CT scan to assess the response of IPA to treatment after a minimum of 2 weeks of treatment; earlier assessment is indicated if the patient clinically deteriorates (*weak recommendation; low-quality evidence*).

How Can Biomarkers Be Used to Assess Patient Response to Therapy?

IDSA 2016: Recommendations.



- 43. **Serial monitoring** of serum **GM** can be used in the appropriate patient subpopulations (hematologic malignancy, HSCT) who have an elevated GM at baseline **to monitor disease progression** and therapeutic response, and predict outcome (*strong recommendation; moderate-quality evidence*).
- 44. (1→3)-β-D-glucan has not been extensively studied in IA to predict outcome (*weak recommendation; low-quality evidence*).

Invasive aspergillosis

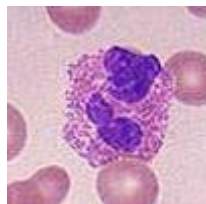
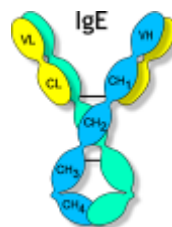
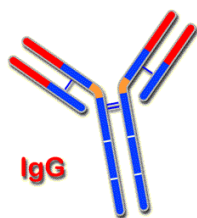
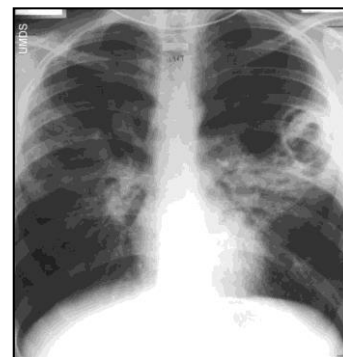
Hematological patients

	Mycology Cytology	GM Ag	β -glucan	PCR (blood)	BAL (culture- Ag-PCR)	Imaging	Antibodies
Criteria for Δg	+	+			+	+	-
Markers to exclude infection			+	+			-

Non hematological patients

	Mycology Cytology	GM Ag	β -glucan	PCR (blood)	BAL (culture- Ag-PCR)	Imaging	Antibodies
Criteria for Δg	+	+/- (less sensitive)			+/- (less specific)	+	+/-
Markers to exclude infection			+	?	+		

Ασπεργίλλωση. Ποιος διαγνωστικός δείκτης σε κάθε μορφή?



Ποικίλη σημασία των διαγνωστικών τεστ στις διάφορες μορφές ασπεργίλλωσης

	Mycology, PCR, MS	Anti-Aspergillus antibodies	Aspergillus antigens	Allergic markers	Imaging
Chronic pulmonary aspergillosis	+	+++	-	-	Radiography
Invasive aspergillosis	++	-	+++	-	CT scan
Allergic aspergillosis	+/-	+	-	++	Radiography

Στρατηγικές συνδυασμού διαγνωστικών εργαλείων ανάλογα του ξενιστή και της νόσου

→ Σημαντική η πρώιμη διάγνωση και έναρξη κατάλληλης θεραπείας

Chronic cavitary pulmonary aspergillosis (CCPA)

45 year old man who smoked cigarettes showing an ill-defined shadow behind the clavicle



Patient RW
December 1991
Pre surgical resection



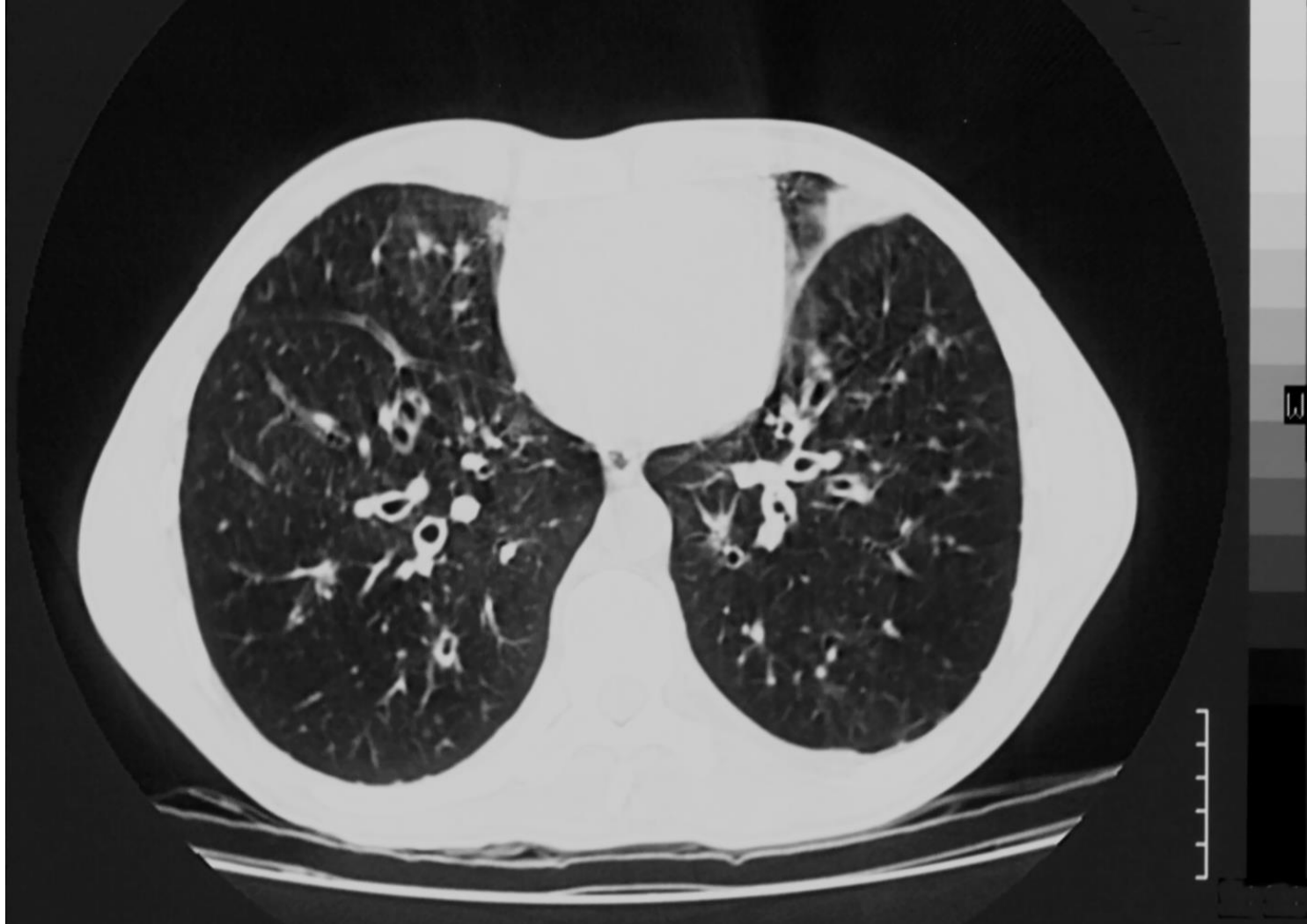
Patient RW
September 1992
Relapse in normal lung



Αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση (ABPA) – διαγνωστικά κριτήρια

- Άσθμα ABPA πιθανή
 - Ηωσινοφιλία ABPA πιθανή
 - Ιστορικό πνευμ. διηθημάτων ABPA πλέον πιθανή
 - Κεντρολοβιακές βρογχεκτασίες ABPA σχεδόν σίγουρη
-
- Precipitins against *A. fumigatus* positive
 - Aspergillus IgE antibody >2x asthma control
 - Aspergillus IgG antibody >2x asthma control
 - Total serum IgE concentration, >1000 iu/mL

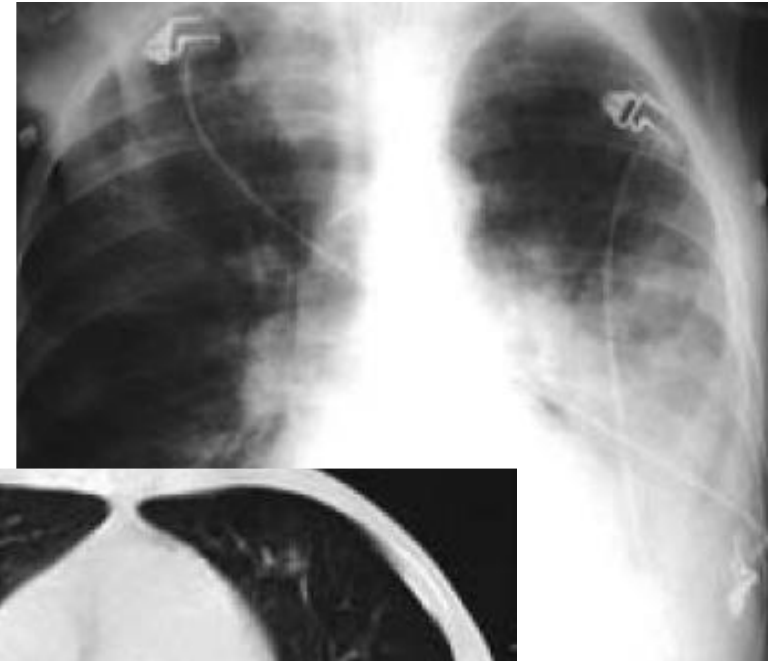
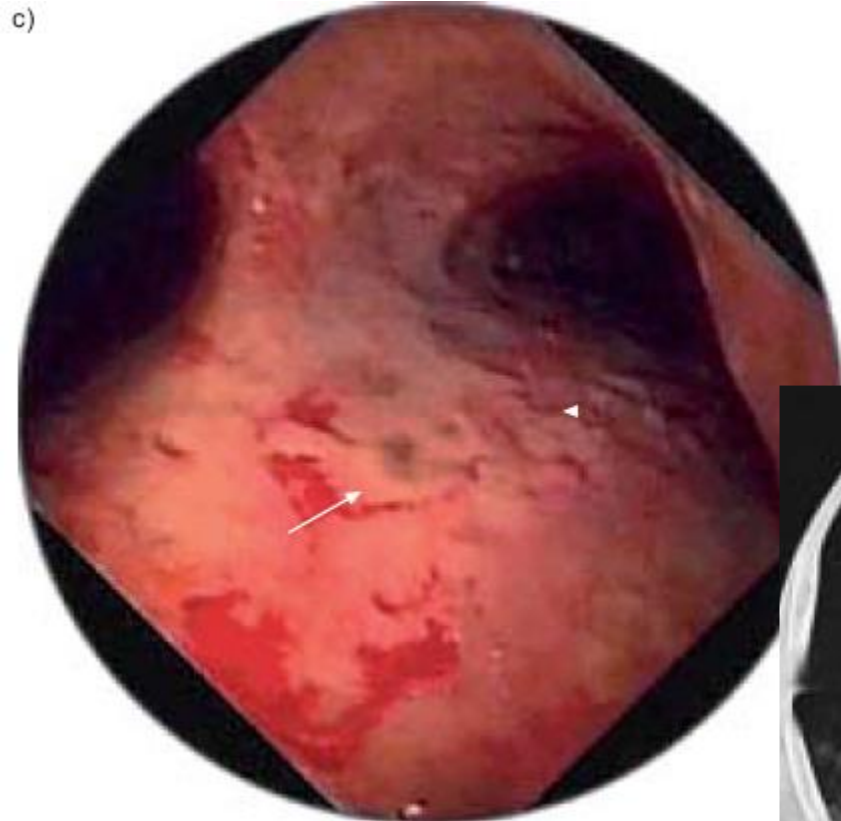
ABPA - CT κεντρολοβιακές βρογχεκτασίες (central bronchiectasis)



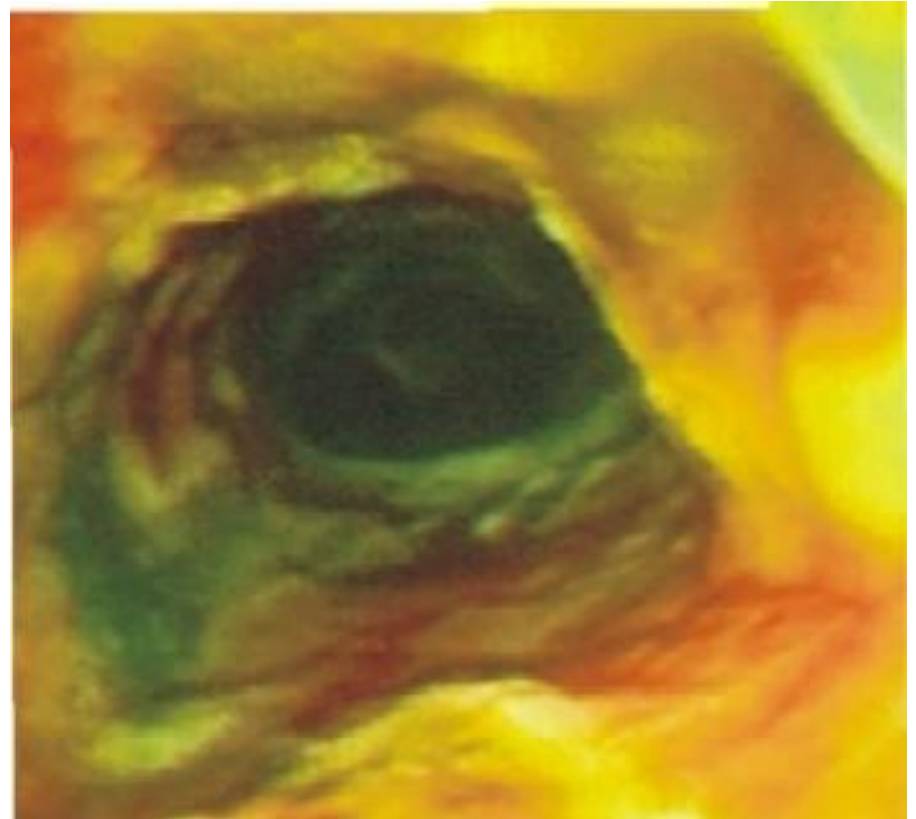
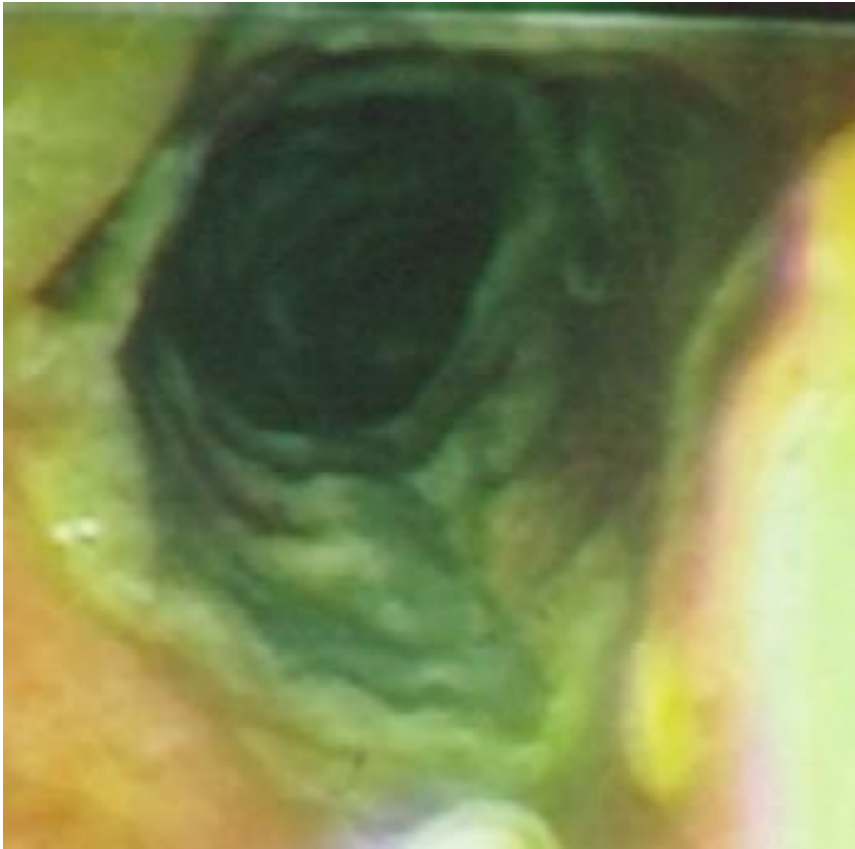
ΑΒΡΑ και σοβαρού βαθμού άσθμα



Pseudomembranous *Aspergillus* tracheobronchitis with IPA in COPD



Pseudomembranous *Aspergillus* tracheobronchitis



Ευαισθησία καλλιεργείων *Aspergillus* από κλινικά δείγματα (Denning, 2005)

Υλικό	Ποσοστά θετικής καλλιέργειας
Πτύελα	8 – 34%
BAL	45 – 62 %
Αίμα/ ENY	Σπάνια θετική
Ιστός	56%

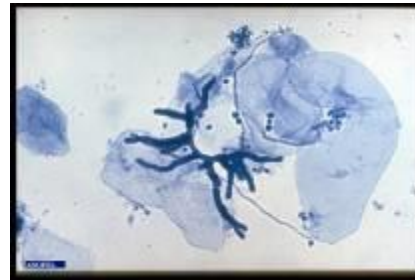
Μοριακή ανίχνευση *Aspergillus* spp. σε πτύελα

Εργαστηριακό αποτέλεσμα	ABPA	CPA	Normals
θετική καλ/γεια για <i>A. fumigatus</i>	0/19	7/42 (16.7%)	0/11
qPCR θετική για <i>Aspergillus</i> spp	15/19 (78.9%)	30/42 (71.4%)	4/11 (36.4%)

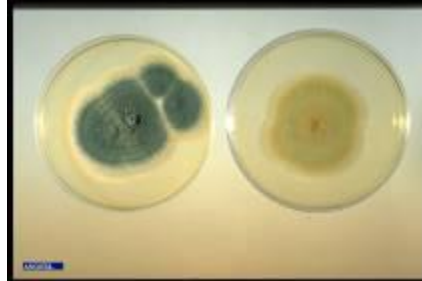
Aspergillus - Διαθέσιμα διαγνωστικά εργαλεία και περιορισμοί

1. Κλασσικές μέθοδοι, ιστολογική:

Άμεση μικροσκόπηση
καλλιέργεια

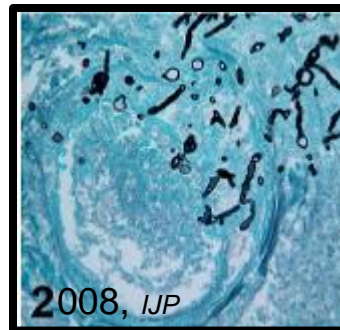


- χρονοβόρα
- Απαιτείται εμπειρία



- Ποικίλη ευαισθησία
- θετικές καλ/γείες σε λοίμωξη ή αποικισμό

ιστολογική



- Δείχνει αγγειακή διήθηση
- δεν τυποποιεί είδος (*Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Scedosporium sp.*)

Aspergillus - Διαθέσιμα διαγνωστικά εργαλεία και περιορισμοί

2. Ορολογικές :

Ανίχνευση αντισωμάτων και αντιγόνων (Galactomannan και b1-3-D-glucan)

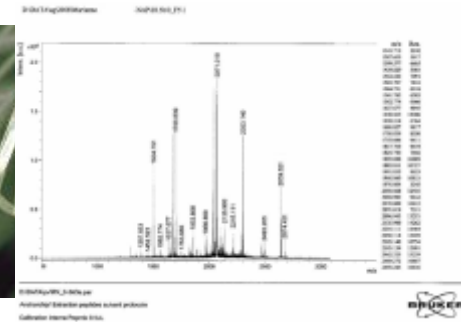
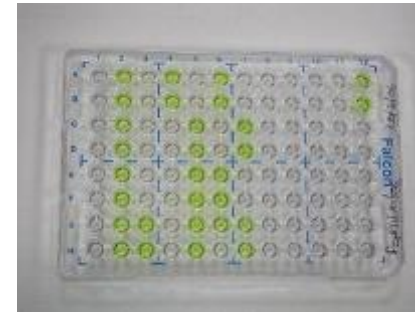
- ποικίλη ευαισθησία σύμφωνα με το ανοσολογικό status του ασθενούς
- ψευδώς θετικά

3. PCR και mass spectrometry:

- Απαιτείται standardization
- Όλο και χαμηλότερο κόστος

4. Δείκτες αλλεργίας : ηωσινόφιλα, PMN, total IgE, specific IgE

- ειδικότητα?



Σχετικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των διαγνωστικών τεστ

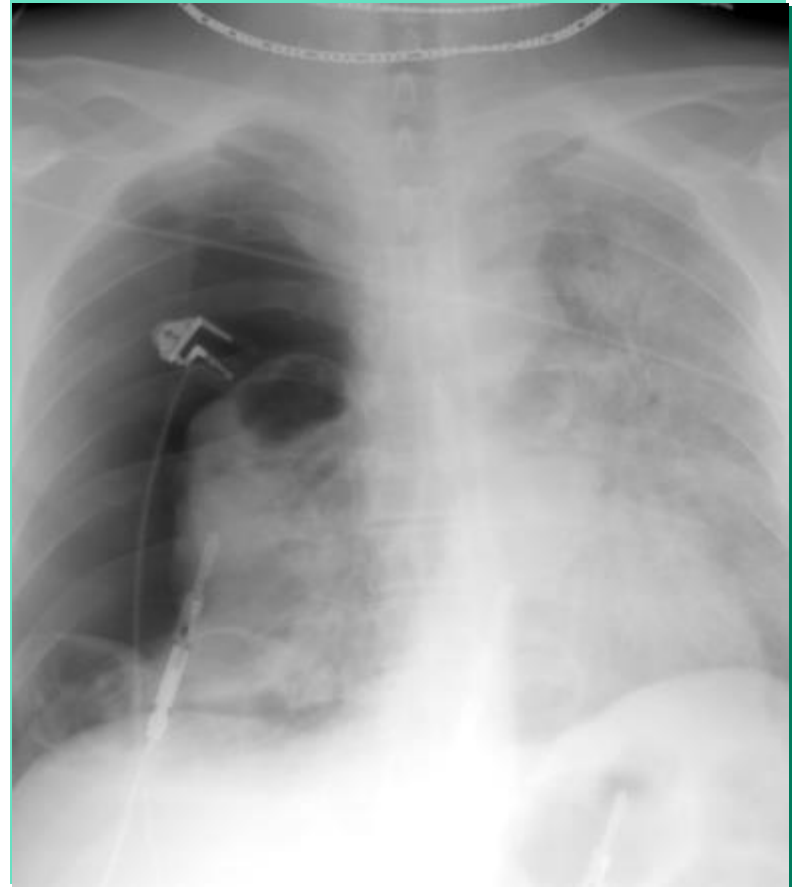
Τεχνική	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Καλλιέργειες	Gold standard, έλεγχος ευαισθησίας	Καθυστέρηση στη διάγνωση, χαμηλή ευαισθησία
PCR μέθοδοι	Υψηλή ακρίβεια	Περιορισμένη εμπορική διαθεσιμότητα
β-D-glucan	Panfungal δείκτης, υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα	Πολλά ψευδώς θετικά, μεθοδολογικά προβλήματα
Galactomannan	Αυξημένη ακρίβεια για ανίχνευση <i>Aspergillus</i> σε αιματολογικούς ασθενείς	Μόνο για <i>Aspergillus</i> . Πολλά ψευδώς θετικά, λιγότερο χρήσιμη σε μη αιματολογικούς ασθενείς
Mannan + Antimannan	Καλή ειδικότητα και ευαισθησία σε συνδυασμό	Ποικίλα αποτελέσματα, περιορισμένη εμπειρία

P. jirovecii

a)

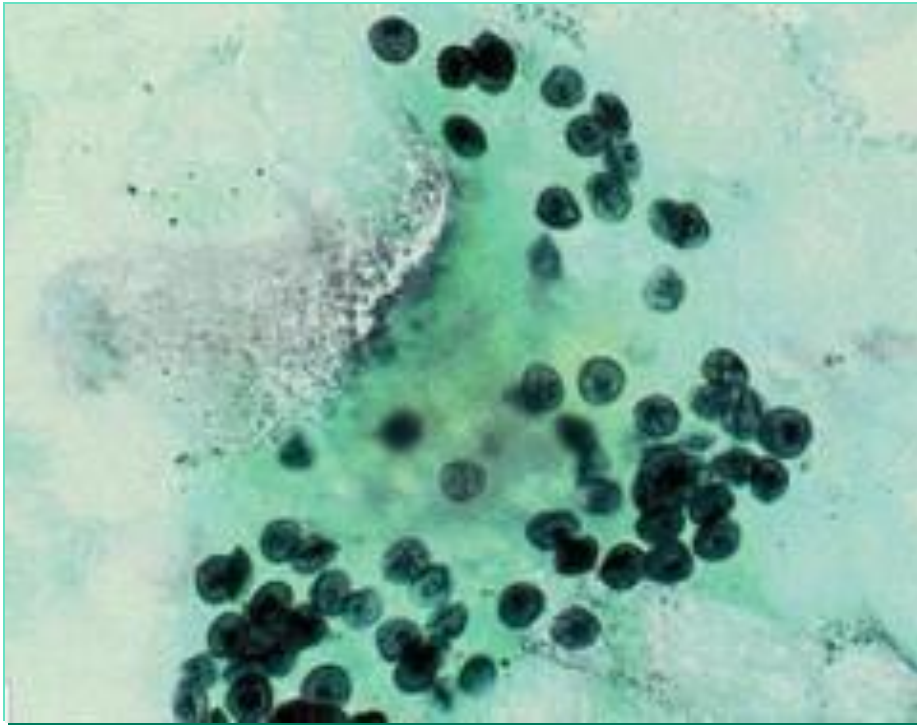


b)

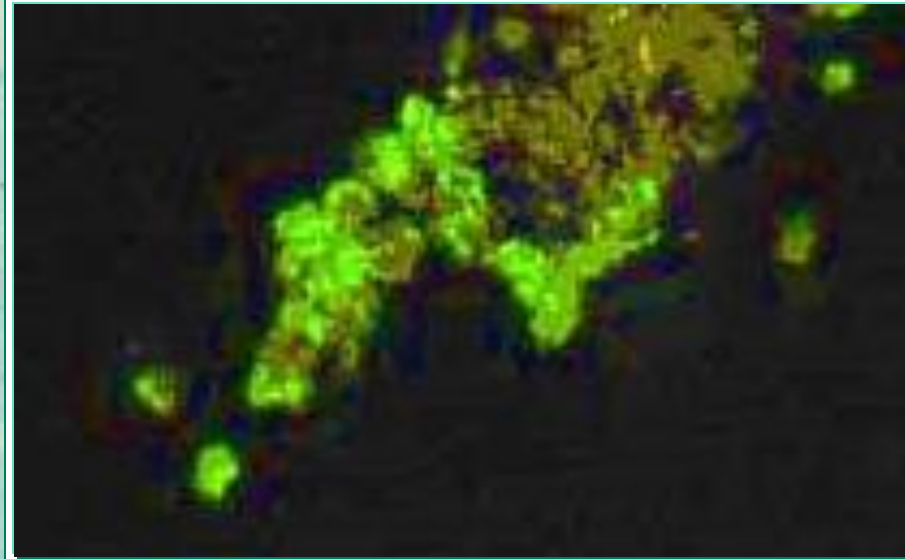


a) Αμφοτερόπλευρα διηθήματα με ground glass σε PCP b) Ατυπη εικόνα με πνευμοθώρακα ΔΕ σε PCP (Mu *et al.*, 2016).

Το τρέχον gold standard για διάγνωση PCP είναι η άμεση αναγνώριση κυττάρων *Pneumocystis* με χρήση μικροσκοπίου



Χρώση Grocott's από *P. jirovecii* σε βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα από HIV ασθενή με εικόνα συμβατή με PCP (<http://medicine.academic.ru/140233>).



Ανοσοφθορισμός για ανίχνευση *Pneumocystis jirovecii* σε BAL (Weinstein., 2014).

PCP και (1-3)-β-D-glucan

- Αν και η (1-3)-β-D-glucan δεν είναι ειδική για PCP, αλλά το επίπεδο της (1-3)-β-D-glucan που ανιχνεύεται σε λοίμωξη από PCP μπορεί να υπερβεί >500pg/mL, ακόμα και σε αρνητική μικροσκοπική για IF. Αυτές οι υψηλές συγκεντρώσεις είναι χαρακτηριστικές σε PCP (*Koga et al., 2011; Damiani et al., 2013*).
- Μελέτες έχουν καταδείξει ότι αρνητική (1-3)-β-D-glucan μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αποκλεισμό διάγνωσης PCP με NPV > 99% καθώς υπάρχει αυξημένη ευαισθησία (*Onishi et al., 2012; Karageorgopoulos et al., 2013*).
- Η (1-3)-β-D-glucan έχει όριο (threshold) θετικότητας >80pg/mL.
- Λόγω μη ειδικότητας το θετικό τεστ για (1-3)-β-D-glucan θα πρέπει να ερμηνεύεται σε συνδυασμό με άλλη ειδική, όπως IF ή PCR και ακτινολογικά ευρήματα (*White et al., 2017*) για διάγνωση PCP

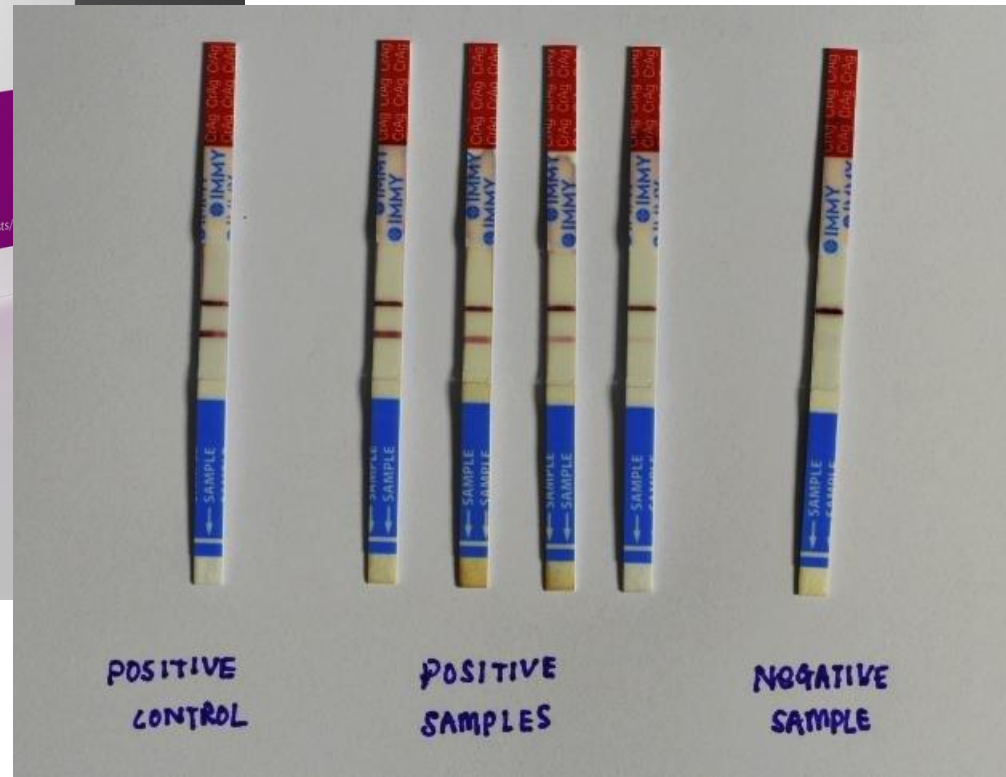
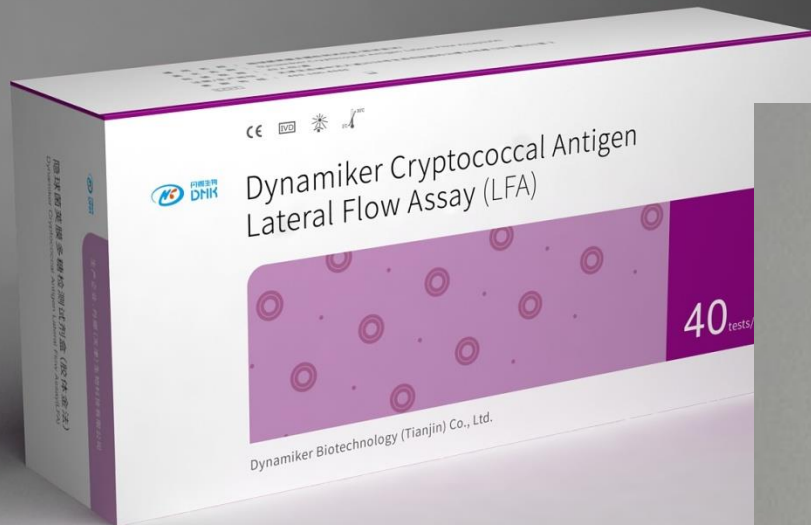
PCR για τη διάγνωση PCP

- Καθώς η *P. jirovecii* μπορεί να αποικίσει τους πνεύμονες, μπορεί να επιπλέξει τη χρήση της PCR για τη διάγνωση της PCP (Davis et al., 2008).
- Στις δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες της ECIL για τη διάγνωση PCP, 34 μελέτες με χρήση PCR testing, οδήγησαν στη υψηλότερη βαθμολόγηση σύστασης AII (AI δεν ήταν εφικτή λόγω απουσίας τυχαιοποιημένων μελετών) για την χρήση της PCR στη διάγνωση PCP (Alanio et al, 2016).
- Αρνητική PCR έχει σύσταση AII για τη δυνατότητα αποκλεισμού PCP από δείγμα BAL (Alanio et al, 2016). Αυτό οφείλεται στην υψηλή αρνητική προγνωστική αξία και ευαισθησία της PCP PCR.

Οι ορολογικές εξετάσεις σε λοιμώξεις από *cryptococcus Ag*

- Υπάρχει σχετική συσχέτιση μεταξύ φορτίου αντιγόνου και φορτίου μύκητα πριν την έναρξη θεραπείας, άρα **ο τίτλος του αντιγόνου δυνητικά έχει προγνωστική αξία.**
- Υπάρχουν 2 διαθέσιμα εμπορικά tests, latex agglutination και ELISA. **Η ευαισθησία και ειδικότητα αυτών των τεστ είναι > 90%** και, αν και περιστασιακά υπάρχουν ψευδώς θετικά και αρνητικά τεστ, μπορεί να διευκρινισθούν με προσεκτική επανάλληψη ή και θετικές καλ/γείες.
- **Σε ενδημικές περιοχές για κρυπτόκοκκο, σε κάθε υποξεία ή χρόνια μηνιγγίτιδα θα πρέπει να διενεργείται έλεγχος ENY για πολυσακχαριδικό Ag κρυπτοκόκκου.**
- Παρά τη διαγνωστική αξία του δεν είναι πολύ ακριβές για την παρακολούθηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης.

Ag Κρυπτοκόκκου - Lateral Flow Test



Cryptococcosis - καλλιέργειες

- Καλλιεργείται εύκολα σε standard υλικά με ανάπτυξη σε 2-10 ημέρες και μπορεί να απομονωθεί σε αιμ/γειες.
- Αν και η ποσοτική καλ/γεια σε ENY έχει εξαιρετη προγνωστική αξία για την αξιολόγηση της θεραπευτικής έκβασης σε μελέτες, δεν περιλαμβάνεται ακόμα στην κλινική πράξη.
- Η ανεύρεση encapsulated yeast σε ENY, βιοψία ιστού, αίμα ή ούρα θα πρέπει να αξιολογείται ακόμα και σε απουσία κλινικών συμπτωμάτων.
- Θετικές καλ/γειες πτυέλων θα πρέπει να αξιολογούνται ως λοίμωξη, αν και μπορεί να ανευρεθεί ο *Cryptococcus* στις εκκρίσεις ως σαπρόφυτο.
- Όλοι οι ασθενείς με θετική μικροσκοπική για κρυπτόκοκκο, από οποιαδήποτε εστία θα πρέπει να διερευνώνται ως διάσπαρτη νόσος με καλλιέργεια και ανίχνευση αντιγόνου.

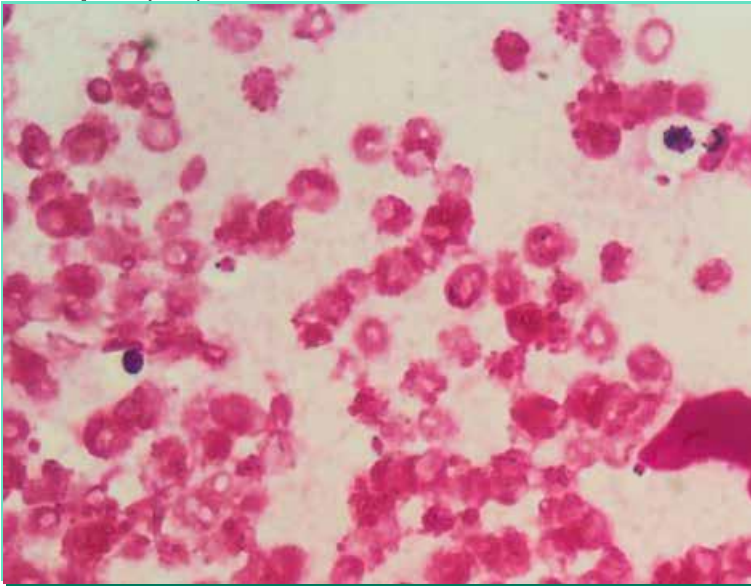


Image Courtesy of M. McGinnis
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation



C. neoformans

C. neoformans, σε Gram θετική χρώση από κηλίδα αίματος από θετική αιμ/γεια



Στρογγυλές εκβλαστήσεις (Round budding yeasts) χωρίς ψευδοϋφές. Ο *Cryptococcus* χρωματίζεται ως gram (+) και μπορεί εσφαλμένα να θεωρηθεί λεμφοκύτταρο. Χρώση με σινική μελάνη (India ink) ειδική για διάγνωση

C. neoformans, καλ/γεια SBA



Βλεννώδεις αποικίες λόγω παρουσίας καψιδίου



Τα περισσότερα στελέχη *Cryptococcus* είναι ουρεάση θετικά

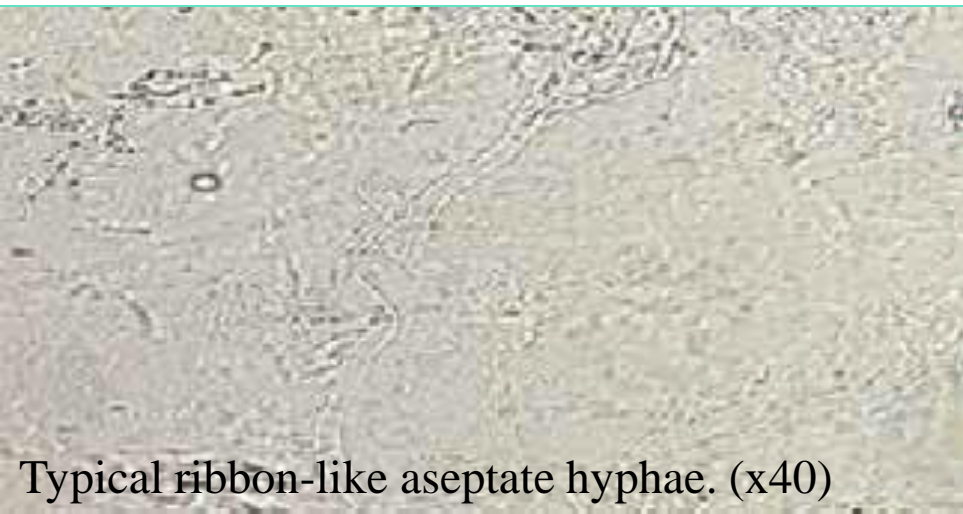
Mucormycosis



Mucorales, growth on tissue at tissue incubated at room temperature.



Mucorales, microscopy on 10% KOH wet mount smear



Typical ribbon-like aseptate hyphae. (x40)

Περιστατικό Ι

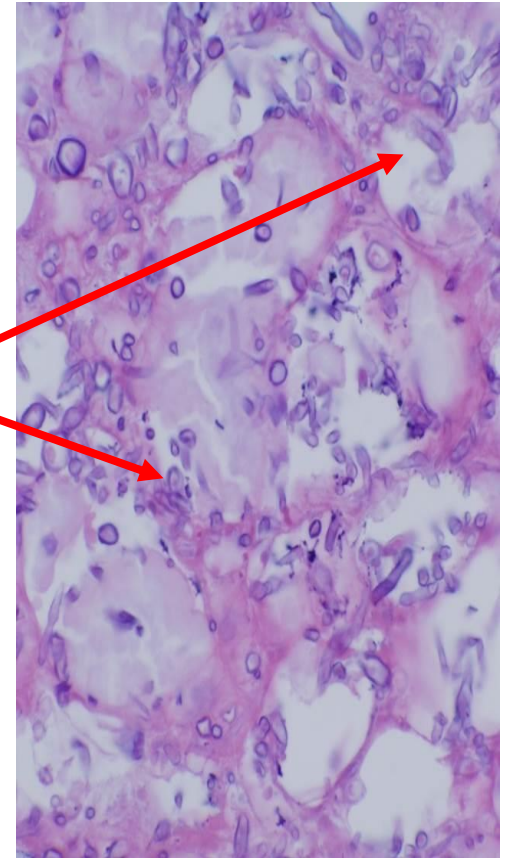
- Άνδρας 62 ετών προσέρχεται στα ΤΕΠ λόγω πυρετού από τριημέρου, ως κύριο σύμπτωμα.
- Τις πρώτες ημέρες από την εισαγωγή του παρουσίασε δερματικές βλάβες, που βαθμιαία επιδεινώθηκαν.



Ιστορικό ΟΜΛ για την οποία έχει λάβει ΧΘΠ και έχει υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση.

Βιοψία δέρματος

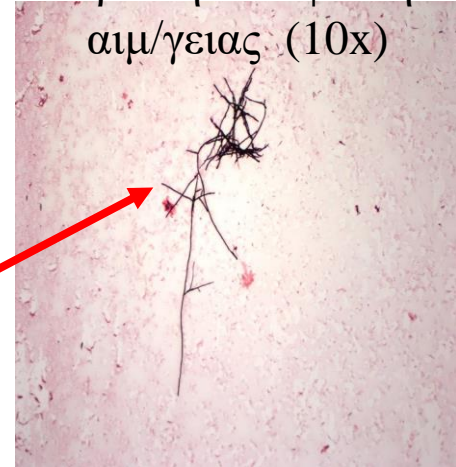
- Το αποτέλεσμα της βιοψίας δέρματος ανέδειξε υφές μυκήτων με διηθηση αιμοφόρων αγγείων
- Οι υφές περιγράφονται ως **διχοτομούμενες (septated)** με οξεία διακλάδωση (acute angle-branching), με χαρακτηριστικά συμβατά με *Aspergillus*.



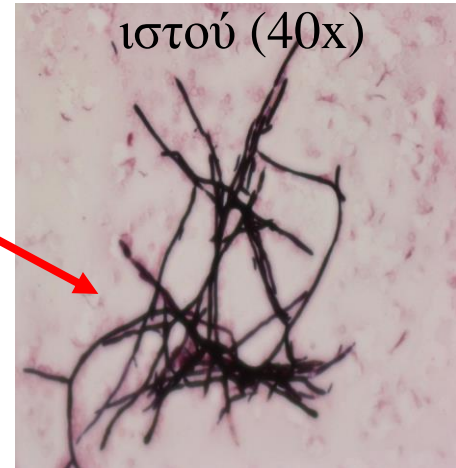
Αποτελέσματα μικροβιολογικού εργαστηρίου

- Όλες οι καλ/γείες αρνητικές για μικρόβια...
- ΑΛΛΑ ένας μύκητας ανεπτύχθη σε φιάλη αιμ/γείας και ήταν ορατός και σε Gram χρώση.
- Ο ίδιος μύκητας αναπτύχθηκε επίσης σε καλ/γεία ιστού.

Χρώση από φιάλη
αιμ/γείας (10x)

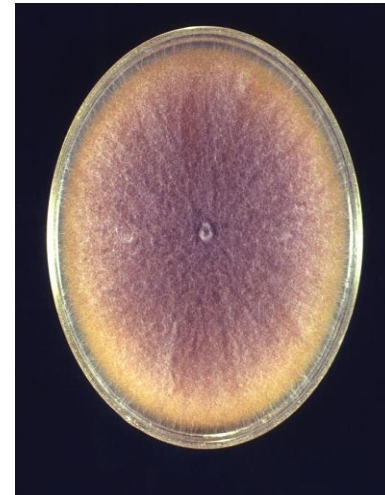


Χρώση από καλ/γεία
ιστού (40x)

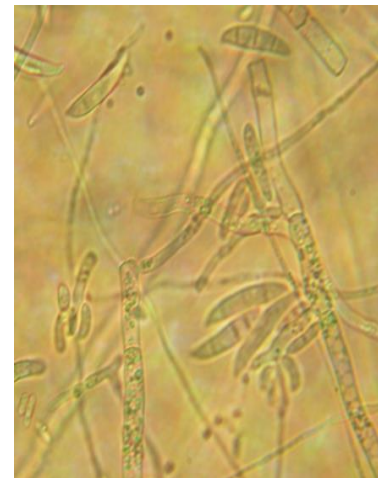


Μυκητολογικές εξετάσεις

- Μορφολογία αποικιών, δομή μυκήτων μικροσκοπικά και σε καλ/γεια.
 - Οι μικροβιολόγοι θα πρέπει να έχουν υψηλό βαθμό εμπειρίας και κλινικές πληροφορίες.
- Με βάση τη φαινοτυπική ανάλυση, ο μύκητας ταυτοποιήθηκε ως *Fusarium* sp.



Μορφολογία αποικιών



Δομή σε μικροσκόπηση

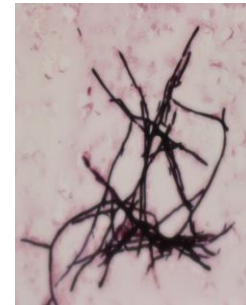
Μικροβιολογικό Work-Up

- Υλικά εστάλησαν για καλ/γειες για απομόνωση μικροβίων ή και μυκήτων, τα οποία ευθύνονται για την συμπτωματολογία του ασθενούς.
 - Καλ/γειες αίματος για συστηματική, διάσπαρτη λοίμωξη.
 - Ιστός από βιοψία δέρματος εστάλη για απομόνωση μύκητα που ανέδειξε η άμεση μικροσκόπηση από τη βλάβη.
- PCR, αντιγόνα, αντισώματα έναντι ιών και μυκήτων εστάλησαν επίσης.

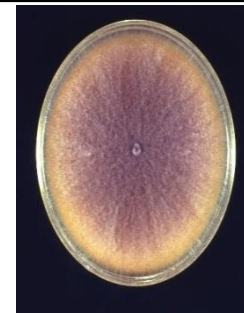
Διάγνωση : Fusariosis

- Οι λοιμώξεις από *Fusarium* ή φουζαρίωση (fusariosis), μπορεί να είναι επιφανειακή, τοπικά διηθητική ή διάσπαρτη.
- Λόγω της παρουσίας στο περιβάλλον, όμως, η απομόνωση *Fusarium* sp σε καλ/γείες μπορεί να οφείλεται σε επιμόλυνση από το περιβάλλον.
- Η συνεργασία μικροβιολόγου και κλινικού θα πρέπει να είναι στενή για αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.
- Clues για την κλινική σημασία είναι:
 - ☑ Παρουσία μυκήτων σε άμεση χρώση ιστού
 - ☑ Εστία απομόνωσης και ξενιστής
 - ☑ Ίδιος μύκητας από πολλαπλές εστίες
 - ☑ Πολλαπλές αποικίες από το ίδιο υλικό

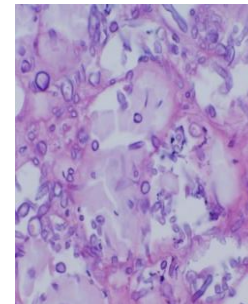
Από αίμα



Πολλαπλά υλικά

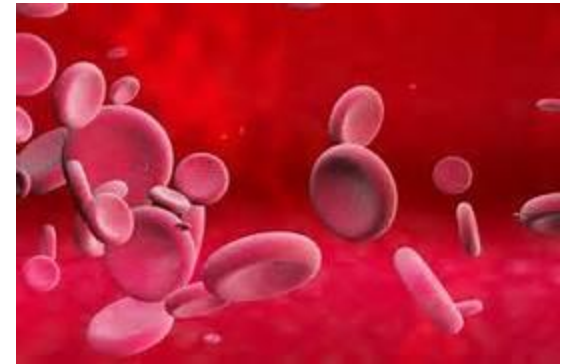


Από ιστό



Περιστατικό II

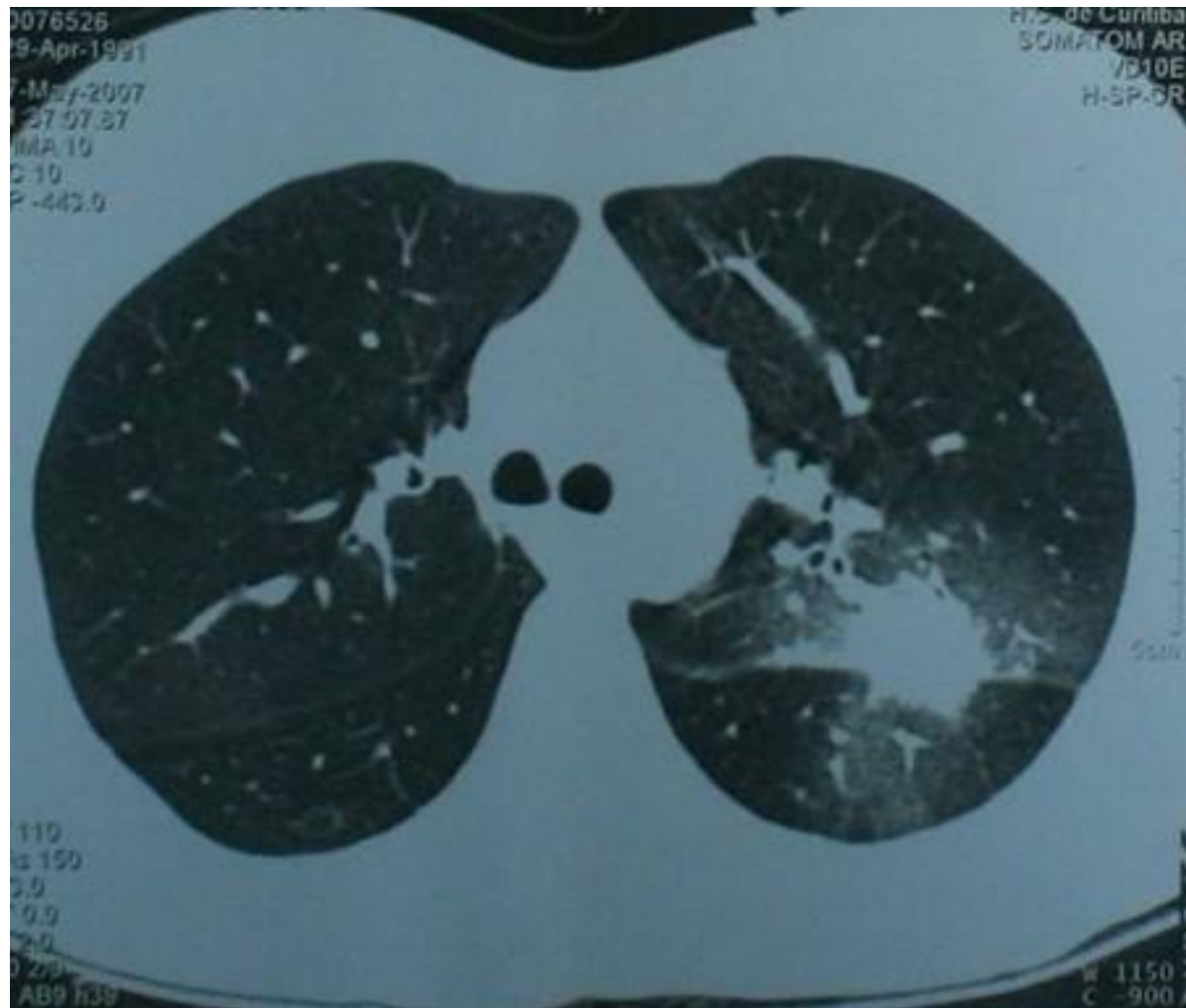
- Ασθενής 42 ετών με οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία (M3) υποβάλλεται στον 1^ο ΧΘΠ κύκλο βάσει πρωτοκόλλου (Vesanoid (ATRA) Zavedos (Idarubicin) Aracytin, Novantrone, Vepesid).
- Ο έλεγχος καρυότυπου του μυελού δεν ανέδειξε χρωμοσωμιακές ανωμαλίες ενώ ήταν αρνητικός και ο μοριακός έλεγχος αίματος για προϊόντα υβριδικού γονιδίου PML/RAR α





Στην ασθενή με εμπύρετη ουδετεροπενία υπό ευρέως φάσματος ΑΜΒ από 10ημέρου αποφασίζεται έναρξη εμπειρικής θεραπείας με Ambisome

CT στην έναρξη του Ambisome

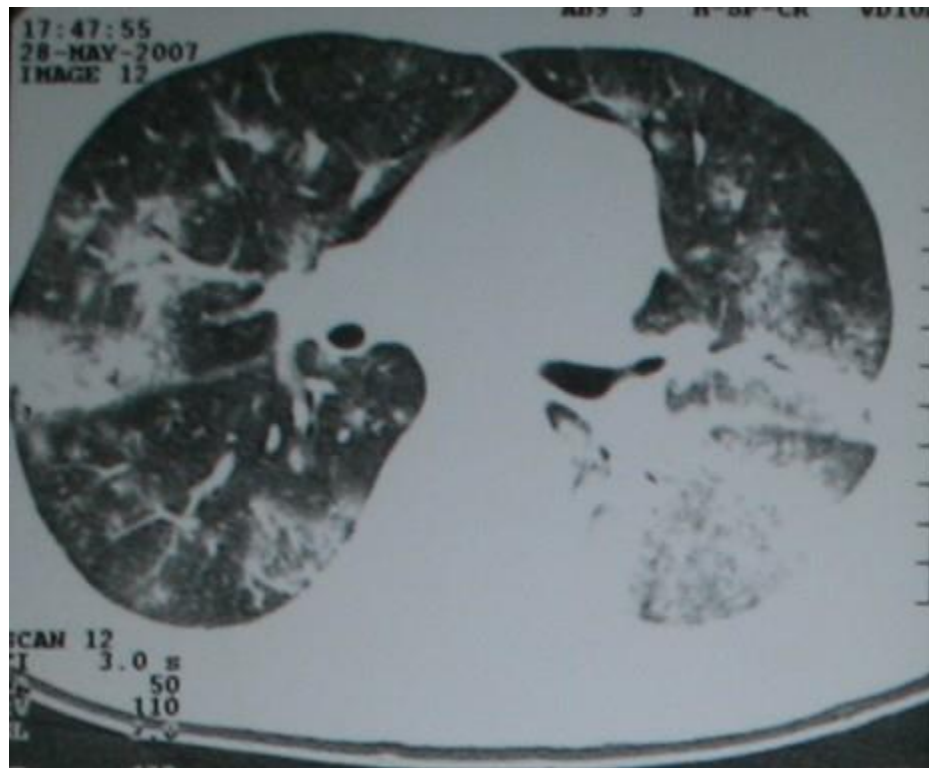


Όταν η ανασφάλεια και ο φόβος κυριαρχούν....



**Ο ασθενής συνεχίζει να πυρέσσει,
WBC 200. Νέα διηθήματα στην
ακτινογραφία θώρακος
τι θα κάνετε?**

Επιδείνωση CT 1 εβδομάδα από την έναρξη Ambisome . Ο ασθενής χωρίς άλλα κλινικά ευρήματα, πλην πυρετού



Ε.Για τεκμηρίωση διάγνωσης, τι έλεγχο θα διενεργούσατε?

1. Έλεγχος επιπέδων αντιγόνου GM
2. CT θώρακος
3. Έλεγχος για β -D-glucan
4. Έλεγχος με PCR ορού
5. Βρογχοσκόπηση, καλ/γεια και μέτρηση GM
απο BAL
6. Το 1, 2 και 5
7. Το 1 και 2
- 8 Το 1,2 και 4

Ισχυρή συσχέτιση επιπέδων GM και έκβασης ασπεργίλλωσης σε αιματολογικούς ασθενείς

- Ανασκόπηση 27 μελετών, 257 ασθενείς υπο ΧΘΠ και HSCT με τεκμηριωμένη/πιθανή IA
- Συσχέτιση GM και έκβασης IA
- Μείωση GM σχετίζεται με ανταπόκριση, ενώ εμμένουσες τιμές ή αύξηση είναι ενδεικτικές εξέλιξης IA

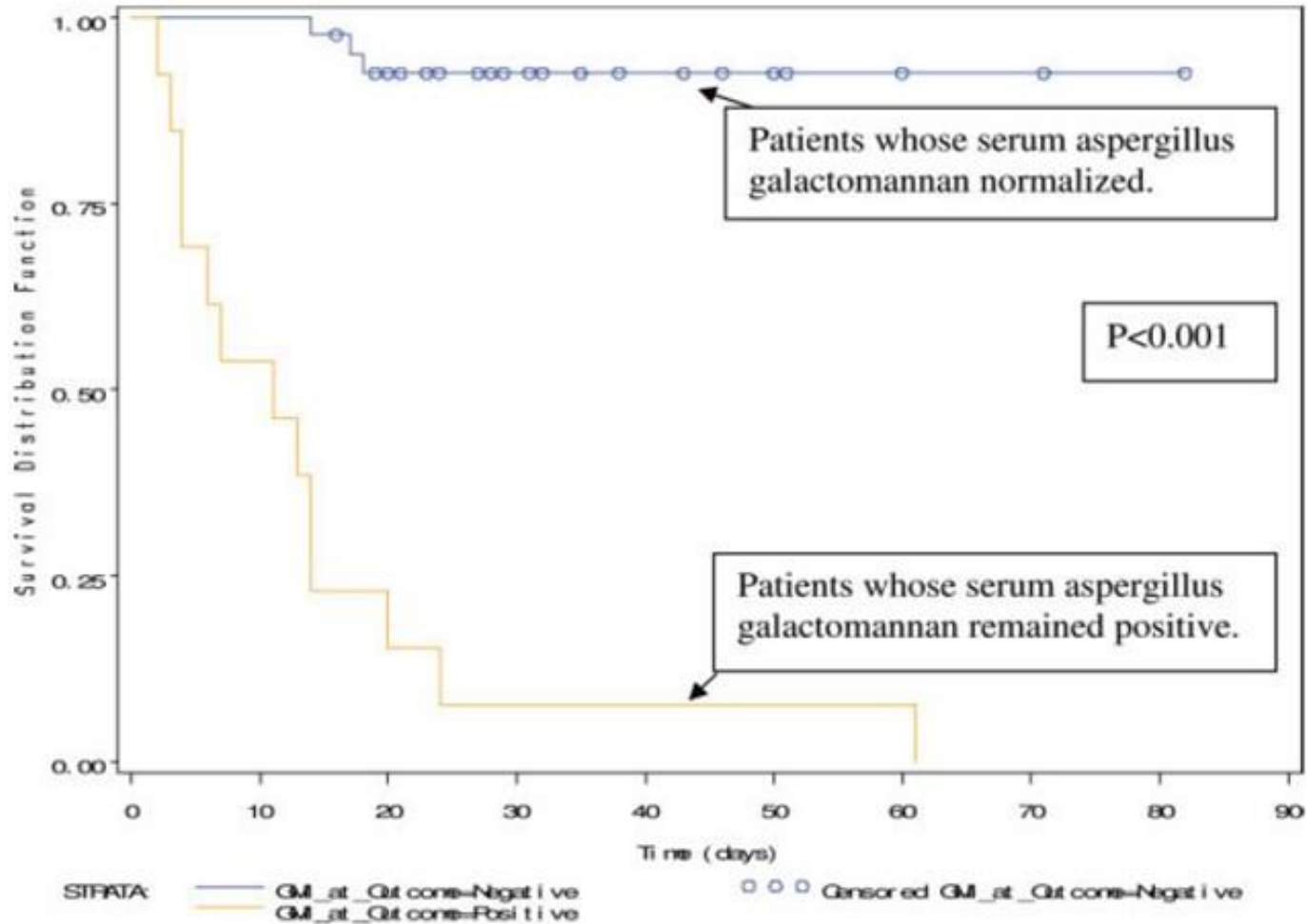
Miceli MH, et al. Clin Infect Dis 2008

Διαδοχικές μετρήσεις αντιγοναιμίας GM

- Επίπεδα GM ορού σχετίζονται με την έκβαση ΙΑ
- 56 ενήλικες με αιματολογική κακοήθεια (90% μυέλωμα) 2 διαδοχικές μετρήσεις GMI ορού > 0.5 .
- Η επιβίωση παρουσίαζε ισχυρή συσχέτιση με τα επίπεδα της GM

Woods G, Cancer 2007;110(4):830-4

Woods et al Cancer 2007

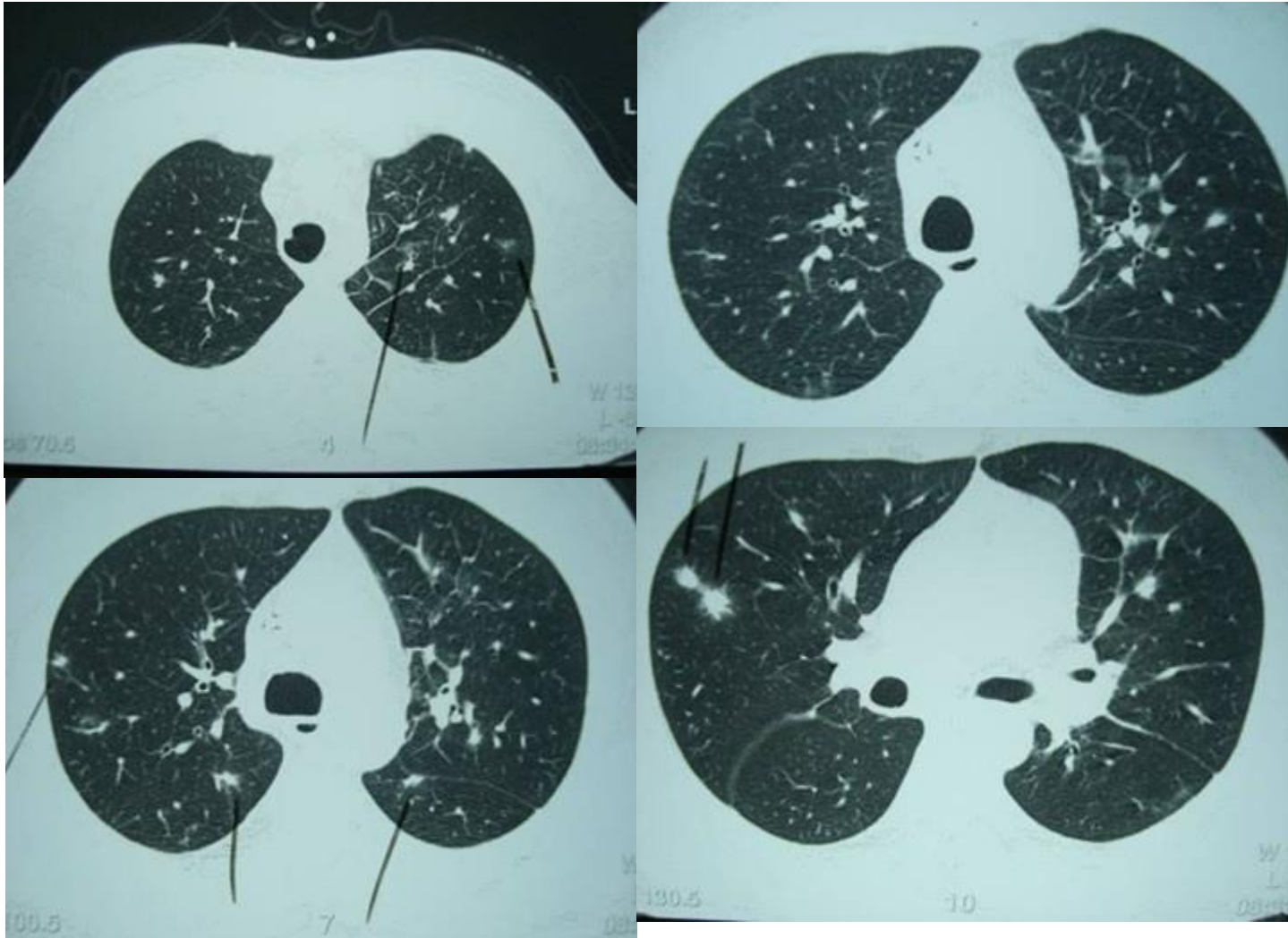


περιστατικό συνέχεια....

**Στον ασθενή γίνεται μέτρηση Ag GM (2.5)
αλλαγή του Ambisome σε βορικοναζόλη.**



Ο ασθενής υπό βορικοναζόλη παρουσιάζει πλευρωδυνία, αιμόπτυση, δύσπνοια



Περιστατικό. Συνέχεια....

Τι κάνουμε ?

- Μέτρηση επιπέδων?
- BAL ?
- Μουκορμύκωση ?
- Αλλαγή αντιμυκητιασικής αγωγής?

- Σε νέο δείγμα για GM ορού: 1.0
- Συνέχιση βορικοναζόλης

Αν ...

Ασθενής παρουσιάσει παροδική κλινική και ακτινολογική επιδείνωση?

- Η μέτρηση GM μπορεί να είναι υποβοηθητική
- Σε ↓επιπέδων GM σε φυσιολογικά επίπεδα: υποψία για IRIS
- Συνέχιση ίδιου αντιμυκητιακού . Θεώρηση για προσθήκη στεροειδούς

Miceli MH et al. Cancer 2007;110-112:20

“IRIS” σε ασπεργίλλωση

- Θανατηφόρος αιμόπτυση μετά GM-CSF¹
- 8/20 ουδετεροπενικοί ασθενείς με IA σοβαρές πνευμονικές επιπλοκές (5/8 απεβίωσαν)²
- 19/67 (28%) ασθενών με αιματολογική κακοήθεια ή HSCT και IA ανέπτυξαν επιδεινούμενη υποξαιμία, δύσπνοια, εξελισσόμενα διηθήματα 8-15 ημέρες μετά την λύση της ουδετεροπενίας³
 - 2 έλαβαν κορτιζόνη
 - όλοι είχαν χαμηλούς τίτλους GM

1. Groll AH, et al. Mycoses 1992;35:67-75

2. Todeschini G, et al. Eur J Clin Invest 1999;29(5):453-7

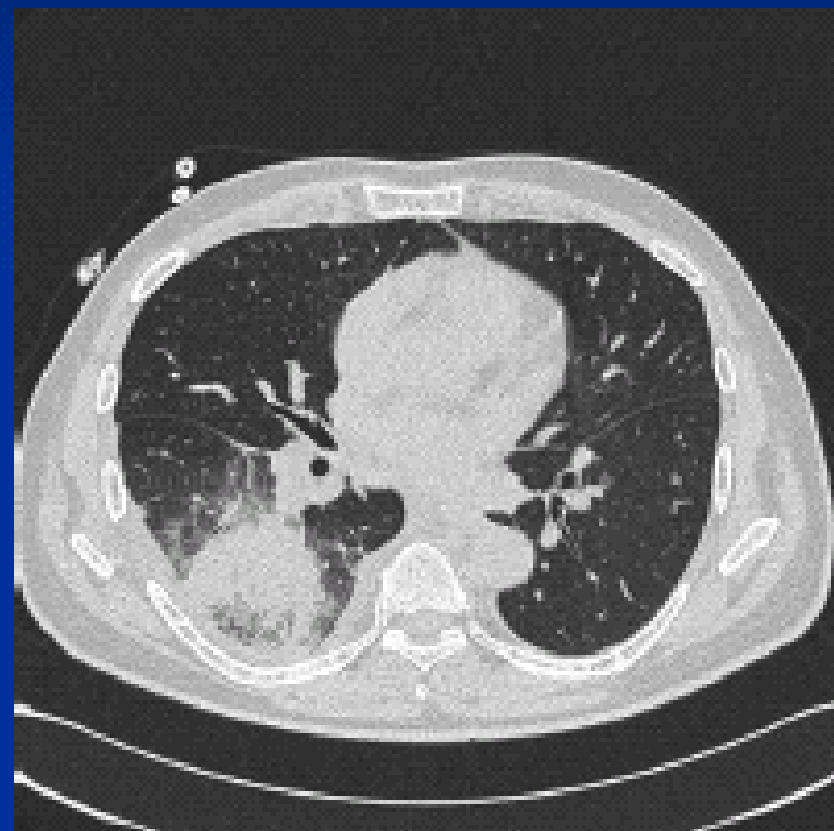
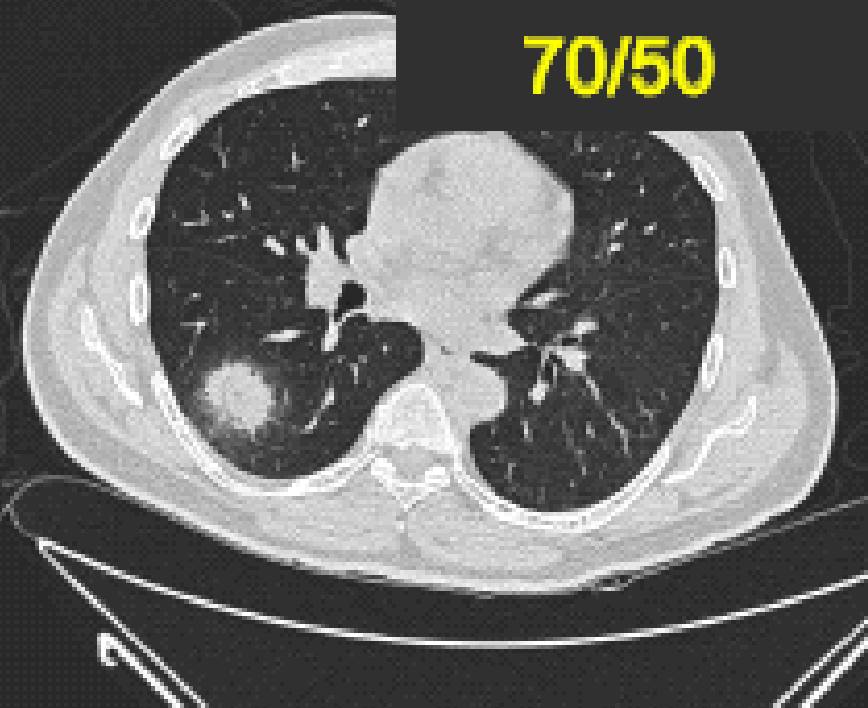
3. Miceli MH, et al Cancer 2007;110(1):112-20

'PIRIS'

Pulmonary Immune Reconstitution Inflammatory Syndrom

Caspofungin

70/50



- Neutrophils: 0/ μ L
- Neutrophils: 12.360 / μ L

GM serum: 3.2
GM serum: 0.8

GM BAL: 8.6
GM BAL: 1.2

Έμφαση δίνεται στον ρόλο της βρογχοσκόπησης και στις πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες της IDSA

Διενέργεια BAL σε 284 αιματολογικούς ασθενείς με νέα πνευμονικά διηθήματα ¹.

Μόνο 10 επιπλοκές, με 1 μόνο σοβαρή.

Σε μεγάλες σειρές, οι σχετιζόμενες με βρογχοσκόπηση σοβαρές επιπλοκές σε ποσοστό 0.08%-0.5% και θνητότητα 0-0.04%

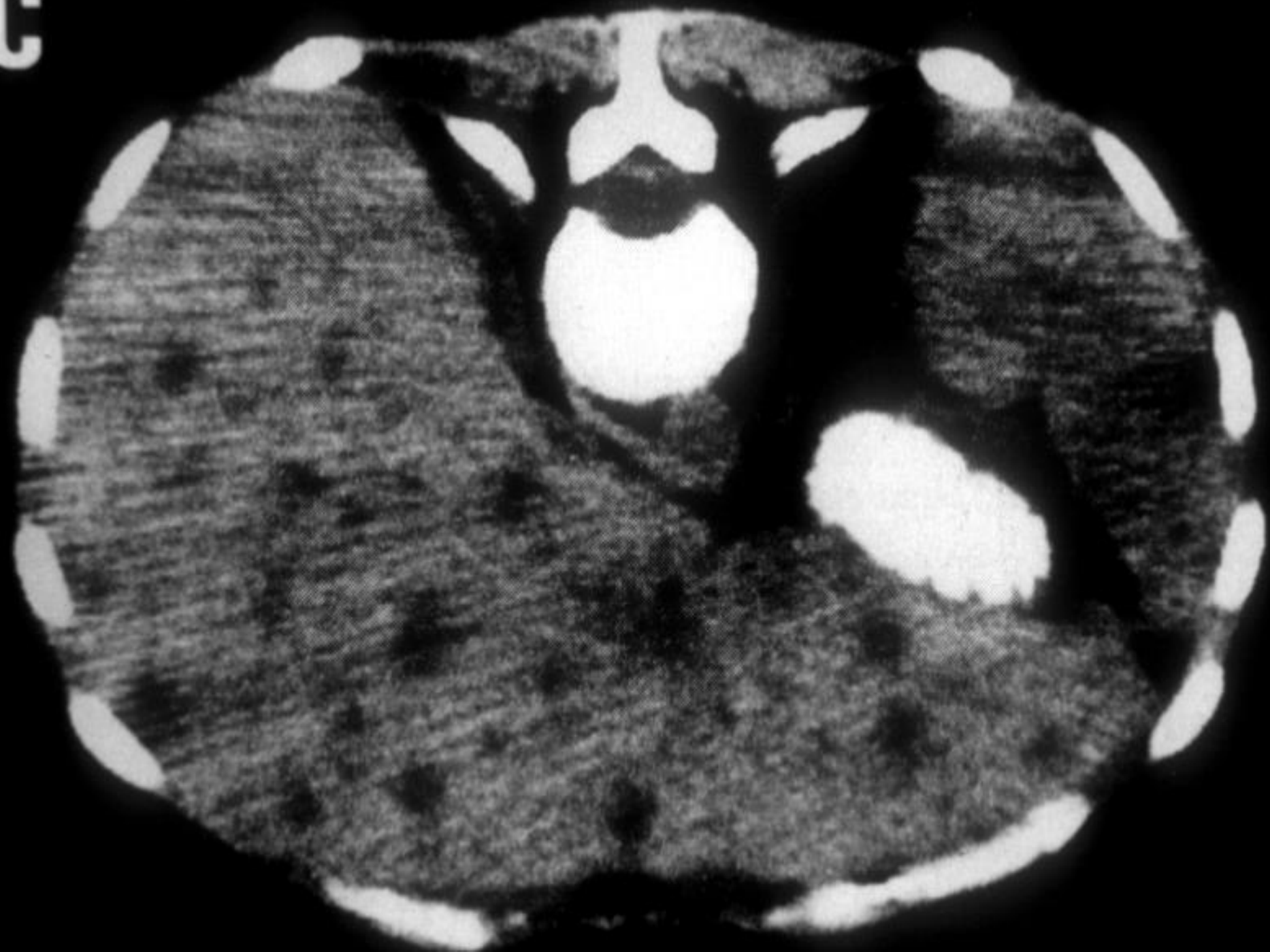
¹ *Sampsonas F, et al. Cancer 2011;117:3424-33*

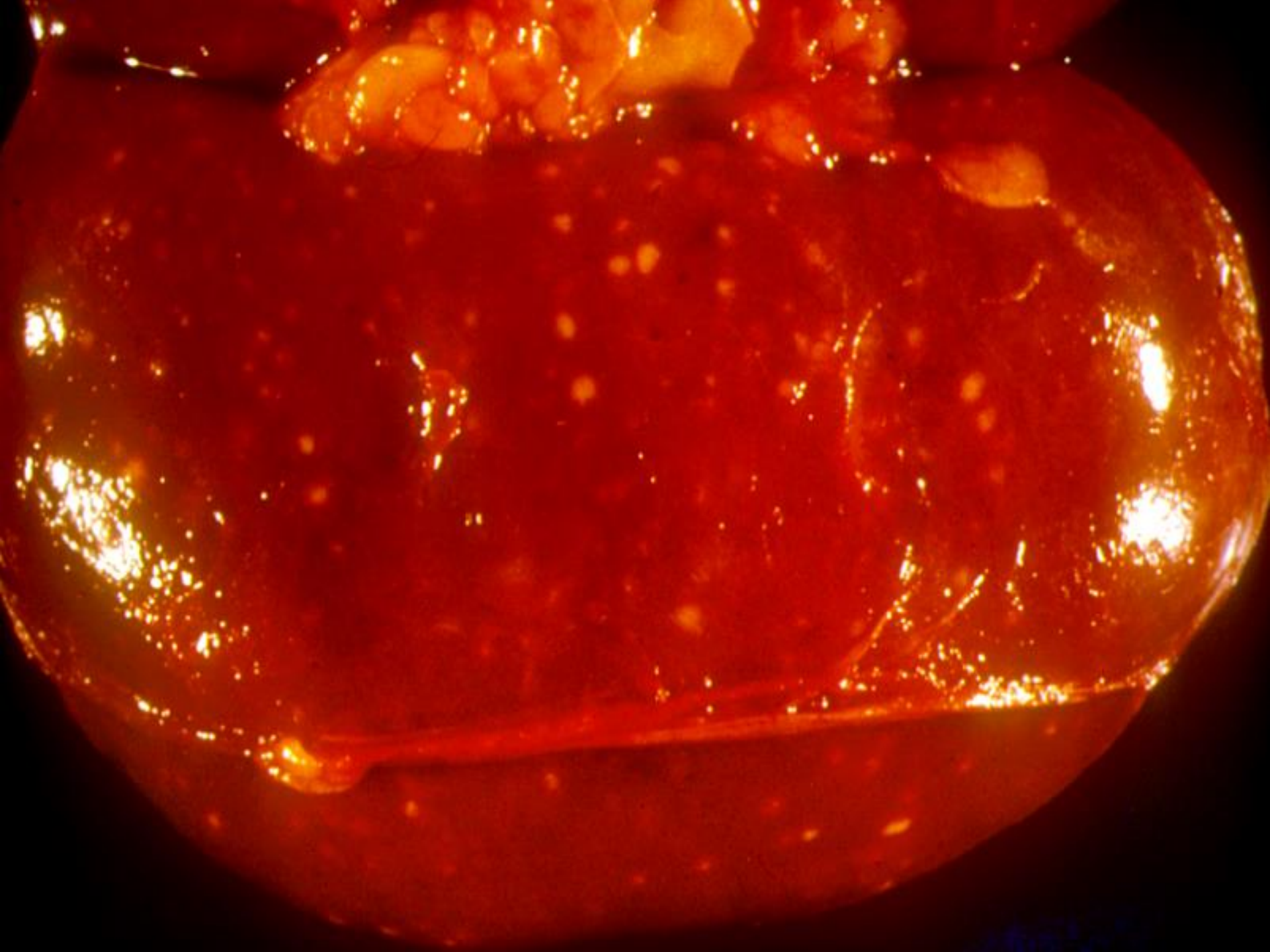
Περιστατικό III

Γυναίκα με Οξεία λευχαιμία, 56 ετών, με παρατεταμένη περίοδο ουδετεροπενίας, μετά το 5ο ΧΘΠ σχήμα, δεν απυρετεί με εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή.

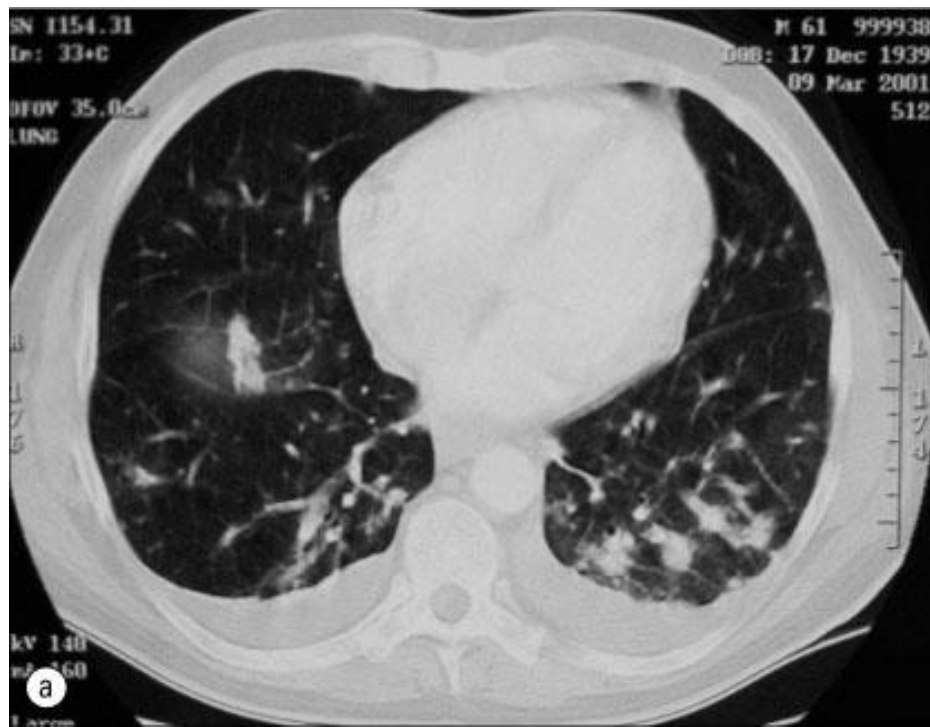
Στη φάση ανόδου των ουδετεροφίλων εμμονή του εμπυρέτου με συνοδό κακουχία, κοιλιακό άλγος, ηπατοσπληνομεγαλία αύξηση ALP
(Φυσιολογικός ο λοιπός βιοχημικός έλεγχος

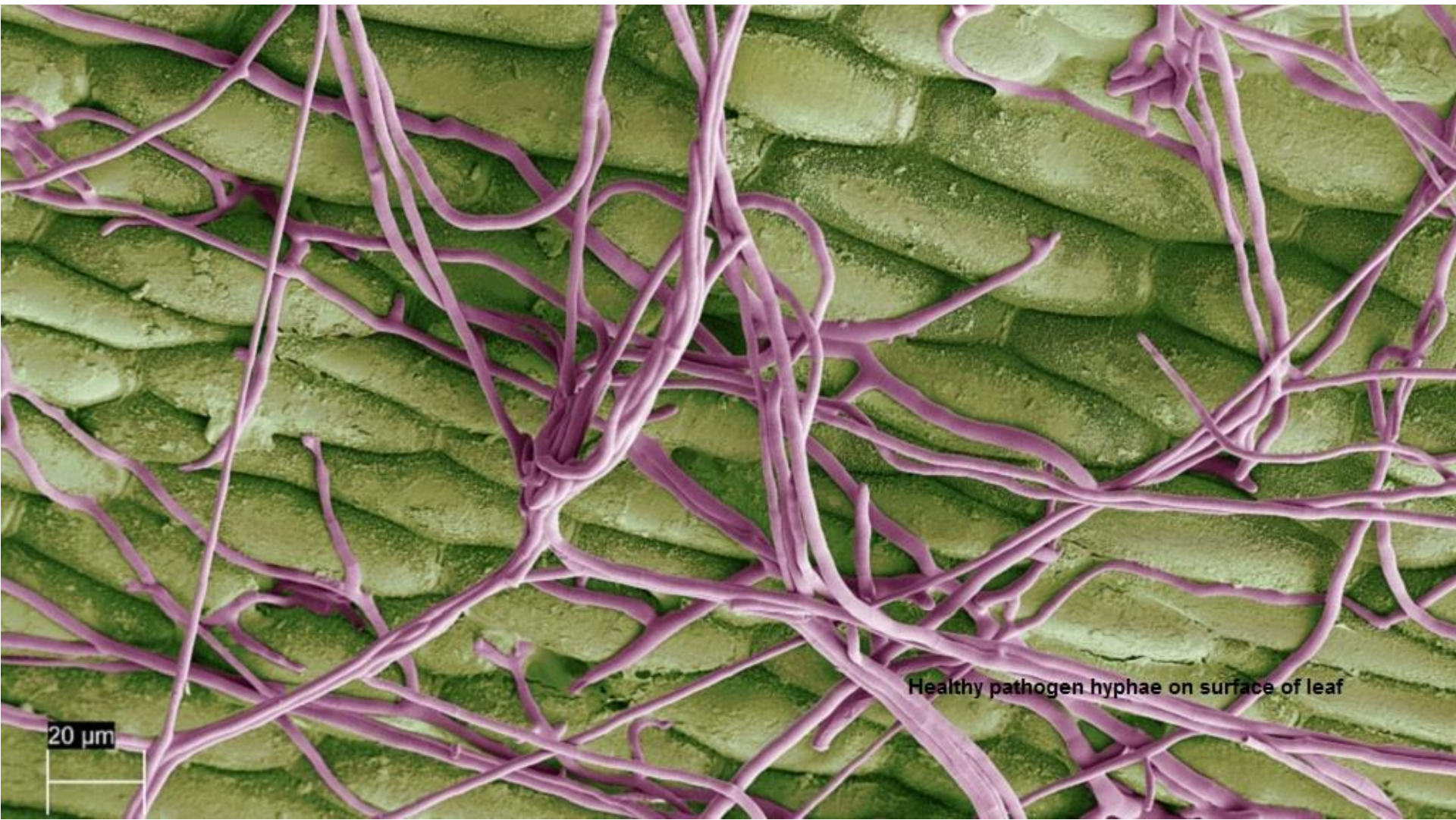
Τι σκέφτεστε?

C



Συστηματική καντιντίαση σε ασθενή ηπατομεγαλία





Healthy pathogen hyphae on surface of leaf

20 μ m