

01/09/2026

Critically Appraised Topic:
Systematische β -D-glucan bepaling
bij *Pneumocystis jirovecii*-PCR:
een klinische meerwaarde?

Dr. Ass. Bénédicte Vanhove

Supervisor: Dr. Michaël Boudewijns



1. Klinische context

Pneumocystis jirovecii-pneumonie (PJP), diagnostiek en de rol van polymerase chain reaction (PCR) & β -D-glucan (BDG)



2. Vraag 1

Commerciële BDG-assays: Fungitell vs. Wako



3. Vraag 2

Bronnen van vals-positiviteit bij BDG



4. Vraag 3 — hoofdvraag

Meerwaarde van BDG naast een reeds beschikbare PCR



5. Aanbeveling & besluit

Concreet voorstel voor AZ Groeninge

1. Klinische context

PJP, diagnostiek en de rol van PCR & BDG

Pneumocystis jirovecii-pneumonie (PJP)

Ernstige opportunistische fungale infectie bij:

- HIV
- Niet-HIV (hematologische maligniteiten, solide orgaantransplantatie, auto-immuunziekten, immunosuppressieve therapie)

→ *Toenemende incidentie door groeiend gebruik van immuunmodulerende behandelingen!*

Presentatie

- Koorts
- Progressieve dyspneu, niet-productieve hoest
- Diffuse matglasafwijkingen op CT

→ **Aspecifiek** ~ microbiologische bevestiging!



Mortaliteit

29-60%

bij niet-HIV-geassocieerde PJP (Jaramillo Cartagena et al., 2025)

→ **Snelle diagnose + behandeling essentieel**

Van microscopie naar moleculaire diagnostiek



01

Gouden standaard (historisch)

Kliniek
+
Beeldvorming
+
Microscopie op broncho-alveolaire lavage (BAL)

➔ lage sensitiviteit (non-HIV), hoge arbeidslast



02

PCR op BAL (huidig)

Pneumocystis ELITe MGB-kit

- CE-IVD, real-time PCR
- mtLSU-gen
- kwalitatief én kwantitatief ($\log_{10}$ copies/ml)



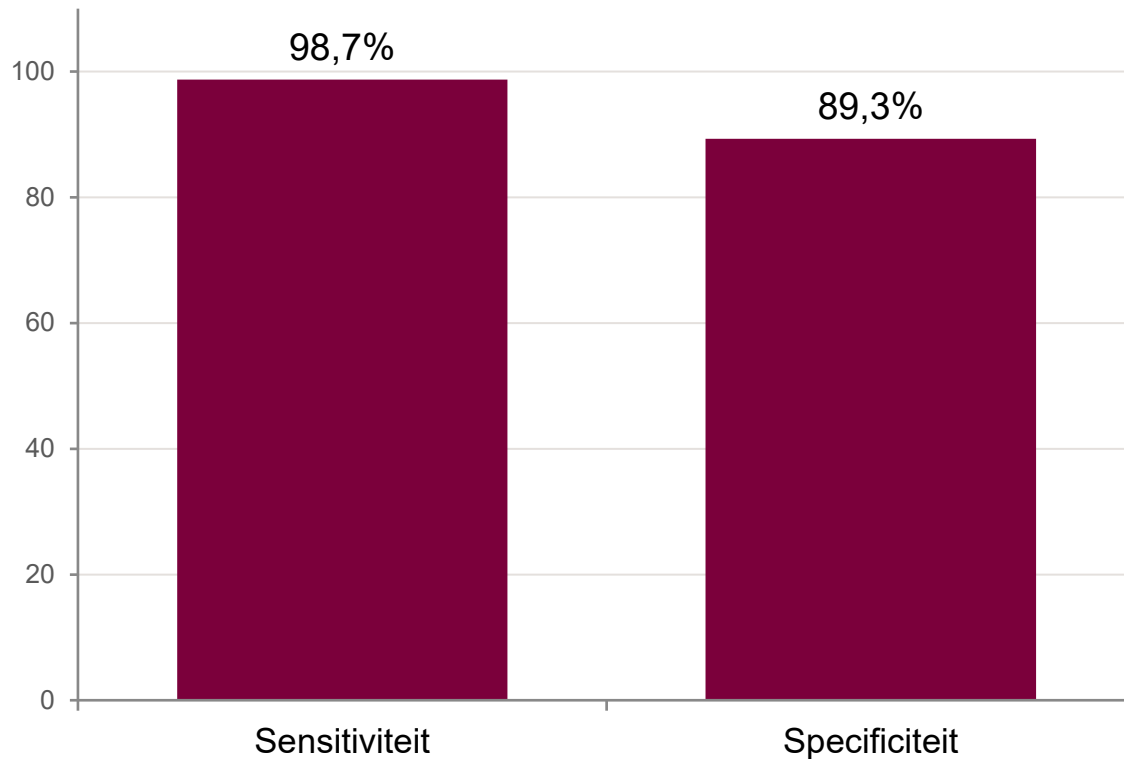
03

Resterend knelpunten

- Zeer hoge sensitiviteit detecteert ook kolonisatie
- Geen gevalideerde afkapwaarde infectie vs. kolonisatie

PCR op BAL: uitstekende sensitiviteit, maar niet het hele verhaal

Brown et al., 2024. Meta-analyse: 55 studies, 11.434 PCR-analyses, 7.835 patiënten



Negatieve LR: 0,014

~ Een negatieve PCR op BAL sluit PJP met hoge betrouwbaarheid uit



Het knelpunt: kolonisatie vs infectie

Interpretatie van (zwak) positieve PCR blijft uitdagend bij immuungecompromitteerden.

Fungal load via qPCR kan helpen differentiëren:
hogere ladingen → hogere kans op actieve ziekte

Geen gestandaardiseerde aanpak voor moleculaire PJP-detectie

Assays verschillen op meerdere vlakken, wat de diagnostische performantie beïnvloedt en de aanzienlijke variatie in gerapporteerde afkapwaarden mee verklaart:



Genetisch target



Pre-analytische &
analytische verwerking



DNA-extractie- &
amplificatiemethode



Wijze van kwantificering



Cutoffs = assay-specifiek én niet onderling uitwisselbaar !

- Geen enkel staatype of populatie heeft universeel gevalideerde afkapwaarde(n)
- PCR-resultaten steeds samen met kliniek, radiologie en andere labresultaten interpreteren

ISHAM-data illustreren de heterogeniteit

ISHAM Fungal PCR Initiative – interlaboratoriumevaluatie (Gits-Muselli et al., 2020)

CT-verschil tussen assays

tot 12,4 cycli

≈ 10.000-voudig verschil in gemeten fungal load voor hetzelfde staal

Verklarende factor: methodologische verschillen



Praktische consequentie

Meeste commerciële IVD-assays voldoen NIET aan het door ISHAM aanbevolen profiel (**kwantitatieve mtSSU RT-PCR**)

→ EORTC/MSGERC zien PCR niet als bewijs voor 'proven' PJP (enkel microscopie), wel voor de mildere categorie '**probable**', al dan niet gecombineerd met serum-BDG

(1,3)- β -D-glucan: een panfungale merker

- Meest abundante polysacharide in *P. jirovecii* celwand
- Komt vrij in het serum bij actieve schimmelinfecties
- Minimaal invasief alternatief voor BAL



Niet PJP-specifiek

- Invasieve ***Candida*** en ***Aspergillus***: BDG verhoogd
- *Cryptococcus* en Mucorales: weinig/geen BDG-productie



Het klinisch dilemma

Noch PCR, noch BDG kan als geïsoleerde test met zekerheid actieve infectie van kolonisatie onderscheiden (Calvet et al., 2024)

Biedt de systematische bijbepaling van BDG naast een reeds beschikbare PCR een meerwaarde?

Drie vragen, één klinisch doel



Vraag 1

Welke commerciële BDG-assays bestaan er, en waarin verschillen ze?



Vraag 2

Wat zijn de belangrijkste bronnen van vals-positiviteit bij BDG?



Hoofdvraag

Biedt systematische bijbepaling van BDG een klinische meerwaarde bij een reeds bestaande PJP-PCR in het diagnostisch algoritme van AZ Groeninge?

2. Vraag 1 — Commerciële BDG-assays

Welke assays bestaan er, en waarin verschillen ze?

Fungitell vs. Wako β -D-Glucan Test

De twee meest gebruikte en bestudeerde BDG-assays wereldwijd

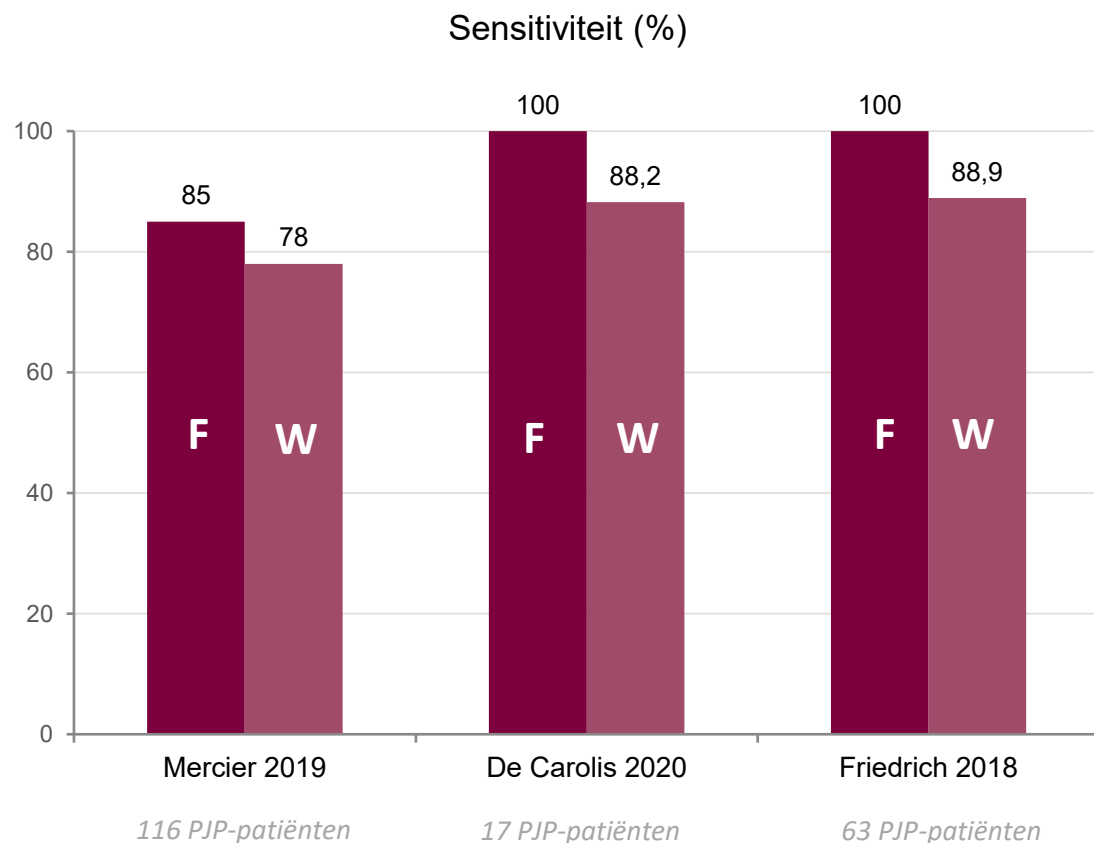
	Fungitell	Wako β -D-Glucan
Principe	Colorimetrisch (LAL, pNA bij 405 nm)	Turbidimetrisch (LAL, factor G)
Formaat	96-well batch (tot 21 stalen)	Individueel, direct toestel
Fabrikant-cutoff	80 pg/mL	11 pg/mL
Doorlooptijd	~120 min	~37-70 min
Compatibiliteit	Gevoelig voor hemolyse/lipemie	Compatibel met hemolytische/lipemische stalen
Precisie (CV)	Lager dan Wako	Hoog ($\leq 4,7\%$ intra- / $6,6\%$ interassay)



AZ Groeninge gebruikt de Wako-assay
(verzendtest UZ Leuven)

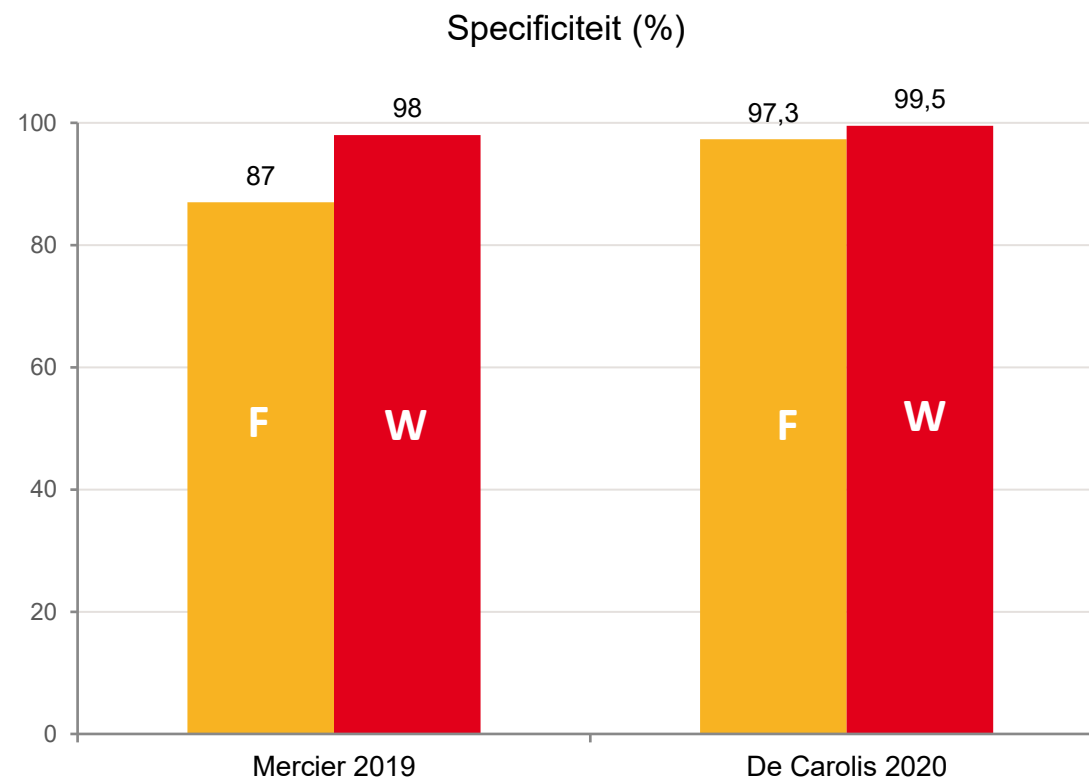
Fungitell is gevoeliger, Wako is specifiek

Head-to-head studies bij PJP, fabrikantcutoffs



*Fungitell cut-off ≥ 60 pg/ml (Sens: 88%)

** Wako cut-off 3,616 pg/ml (Sens: 87%)



* Fungitell cut-off ≥ 60 pg/ml (Spec 82%)

** Wako cut-off 3,616 pg/ml (Spec 89%)

Gepoolde diagnostische accuraatheid van BDG voor PJP



Del Corpo et al., 2020

23 studies · 997 PJP · 3.062 controles

Sensitiviteit

91%

Specificiteit

79%

Fungitell (15 studies) > **Wako** (2 studies)

HIV+ significant gevoeliger (94%) dan HIV- (86%)



Prosty et al., 2025

26 studies · 5.111 patiënten · 1.150 PJP

Sensitiviteit

83,5%

Specificiteit

75,5%

Fungitell-specifiek

- Bij cutoff 80 pg/ml
- Bij cutoff 400 pg/ml: sens. 63,5% / spec. 93,6%

Het tweetrapsmodel: BDG + PCP-Score



PCP-Score (Mappin-Kasirer et al., 2024)

5 variabelen

- SOT of HIV met CD4 $\leq 200/\mu\text{l}$ (+2)
- Serum-LDH $\geq 265,5$ IU/ml (+2)
- RX-Thorax: bilaterale interstitiële infiltraten (+2)
- CT-Thorax: idem of matglasafwijkingen (+2,5)
- TMP-SMX profylaxe (−3) of andere (−2)

mediane score 4 punten $\approx$ 28% PJP-kans



Interpretatiekader (Lee et al., 2025)

Lage PCP-score + BDG < 80 pg/ml

NPV $\geq 95\%$ → PJP uitgesloten

Hoge PCP-score + BDG > 400 pg/ml

PPV $\geq 92\text{--}93\%$ → PJP bevestigd

Intermediaire PCP-score (~38% van cohort)

Weinig diagnostische meerwaarde

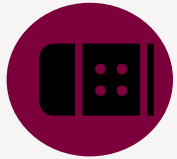


3. Vraag 2 — Vals-positiviteit

Welke niet-fungale bronnen bemoeilijken de interpretatie van BDG?

Twée categorieën van niet-fungale BDG-elevatie

Finkelman et al., 2021. Geen labofouten, maar reële, meetbare BDG-stijgingen



Contaminatie via medische producten/processen

- Chirurgisch gaas & sponzen
- Hemodialysemembranen (cellulose)
- IV immunglobulinen (IVIG), humaan albumine
- Antimicrobiële middelen (beperkt/controversieel)



Patiëntgebonden condities (endogeen)

Contaminatie: timing is cruciaal



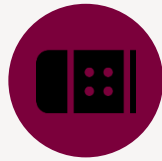
IVIG / bloedproducten

71,8%

vals-positieve serum-BDG bij 131 patiënten met IVIG

Mediane piek serum-BDG op dag 1 na IVIG-infusie was 199,6 pg/mL

Genormaliseerd tegen dag 7, bij kinderen soms tot 3 weken



Chirurgisch gaas

dagen

BDG-concentratie kan oplopen tot in de miljoenen pg/gm bij contact met lichaamsvocht

Serum-BDG daalt doorgaans spontaan binnen 3-4 dagen na de ingreep



Hemodialyse

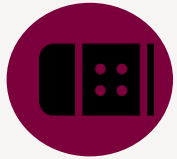
historisch

Oudere cellulosemembranen geven BDG af aan het bloed

Moderne synthetische membranen: probleem grotendeels opgelost

Twée categorieën van niet-fungale BDG-elevatie

Finkelman et al., 2021. Geen labofouten, maar reële, meetbare BDG-stijgingen



Contaminatie via medische producten/processen

- Chirurgisch gaas & sponzen
- Hemodialysemembranen (cellulose)
- IV immunglobulinen (IVIG), humaan albumine
- Antimicrobiële middelen (beperkt/controversieel)



Patiëntgebonden condities (endogeen)

- Chronisch nierlijden - verminderde klaring
- Bacteriëmie (*P. aeruginosa* / *S. pneumoniae* / *Nocardia*)
- Darmtranslocatie (mucositis, ischemie) en mucosale barrièreschade (brandwonden)
- Verminderde hepatische klaring

4. Vraag 3 — Hoofdvraag

Heeft de combinatie van BDG met PCR een aantoonbare meerwaarde?

Vier cohortstudies onderzochten de combinatie BDG + PCR

! Voor de combinatievraag (BDG + reeds beschikbare PCR) bestaat geen systematic review of meta-analyse **!**

Morjaria et al., 2019	438 oncologiepatiënten (non-HIV)	Fungitell (80 pg/ml), BAL-PCR-positieve subgroep	Sens. 87,5% · Spec. 84,6% · PPV 94,6%
Huang et al., 2023	213 non-HIV	Fungus (117,7 pg/ml, studie-specifiek), PCR-positieve subgroep	Spec. 90-99,7% · PPV ~96% · NPV zwak
Li et al., 2024	400 kritisch zieke IZ-patiënten	Fungus (confounder-gestratificeerde cutoffs)	Spec. daalt tot 47% bij confounders
Falcó-Roget et al., 2026	114 non-HIV	Wako (7 pg/ml) + orale spoeling-PCR <i>Enige studie op een niet-invasief staal</i>	Sens. 90,9% · Spec./PPV 100% · NPV 97,3%

Morjaria et al., 2019: eerste grote niet-HIV cohort

438 volwassen kankerpatiënten met onverklaarde longinfiltraten

- Vulde een leemte: eerdere BDG+PCR-literatuur kwam vooral uit HIV-cohorten
- 53 PJP-PCR positief (40 definite/probable, 13 possible), 385 PCR-negatief
- Retrospectief, 2 stappen: eerst BDG globaal, dan binnen de PCR-positieve subgroep

87,5%

Sensitiviteit

84,6%

Specificiteit

94,6%

PPV

68,8%

NPV

Bij Fungitell cutoff ≥ 80 pg/ml, binnen de PCR-positieve subgroep.



Risico op overbehandeling

70 patiënten met verhoogde BDG maar negatieve PCR:

57% kreeg een alternatieve verklaring (aspergillose, *Candida*-kolonisatie, IVIG)

11 patiënten werden toch behandeld voor PJP — ondanks negatieve PCR

Huang et al., 2023: enige studie binnen de PCR-positieve groep

213 HIV-negatieve patiënten met reeds positieve PCR (159 PJP, 54 kolonisatie)

- Eigen gouden-standaardalgoritme: positieve PCR ($Ct \leq 37$) of microscopie + minstens 2 van 3 criteria (symptomen, RX/CT, volledige behandeling)
- *Fungus (1→3)-β-D Dextran Test Kit* — studie-specifieke cutoff 117,7 pg/ml (niet de fabrikantcutoff)
- Classificatie steunt louter op PCR-interpretatie, zonder de hoogte van de fungal load als criterium

Sensitiviteit	76,5–89,0%
Specificiteit	90,0–99,7%
PPV	~96%
NPV	57,9–73,0%



Bevestigend, niet uitsluitend

Opvallend...

een negatieve BDG is hier onvoldoende betrouwbaar om PJP uit te sluiten bij PCR-positieve patiënten en moet hier dus vooral bevestigend worden ingezet

... Fungus kit

Li et al., 2024: waarom één vaste cutoff faalt op IZ

400 kritisch zieke, niet-HIV immuungecompromitteerde IZ-patiënten

- PJP-diagnose volgens EORTC/MSGERC 2019 (met BDG expliciet uitgesloten als mycologisch criterium)
- 167 PJP-patiënten: slechts 41 met zowel positieve kleuring als PCR; 126 uitsluitend op basis van positieve PCR + kliniek/radiologie
- 3 onafhankelijke confounders (IVIG, andere IFD, gram-negatieve bacteriëmie)

Fungus (1→3)- β -D Dextran Test Kit:
opnieuw minder gangbare commerciële kit gebruikt — beperkt de directe vergelijkbaarheid met Fungitell/Wako-gebaseerde centra



Cutoff verschuift met de populatie

Bij patiënten mét confounders:

47% spec.

bij de standaardcutoff

→ **74% spec.**

met aangepaste, hogere cutoff (ten koste van sensitiviteit)

Falcó-Roget et al., 2026: een concreet beslissingsalgoritme

Wako-assay + PCR op orale spoeling (114 non-HIV patiënten) — niet-invasief, bruikbaar wanneer BAL niet haalbaar is



**BDG (-)
OW-PCR (-)**

PJP uitgesloten



**BDG (+)
OW-PCR (+)**

PJP bevestigd



Discordant resultaat

Bronchoscopie (indien haalbaar) +
klinische inschatting

90,9%

Sensitiviteit

100%

Specificiteit

100%

PPV

97,3%

NPV

97,9%

Accuraatheid

→ Duidelijke verbetering t.o.v. BDG alleen (PPV 51,9%) of PCR alleen (PPV 73,3%)

Methodologische heterogeniteit tussen de vier studies

Studie	Referentiestandaard	PCR-target	BDG-assay
Morjaria 2019	EORTC/MSG 2008	BAL-PCR	Fungitell
Huang 2023	Eigen algoritme	BAL-PCR (Ct $\leq$ 37, mtLSU)	Fungus kit (studie-cutoff)
Li 2024	EORTC/MSGERC 2019 (zonder BDG)	BAL-PCR (Ct $\leq$ 37, mtLSU)	Fungus kit
Falcó-Roget 2026	EORTC/MSGERC 2021	OW-PCR (DHPS + mtSSU)	Wako



Deze **heterogeniteit bemoeilijkt directe vergelijkbaarheid** tussen studies.
Een gecombineerde BDG-PCR-interpretatie moet daarom **lokaal gevalideerd** en **klinisch gecontextualiseerd** worden
— niet generiek toegepast op basis van fabrikantcutoffs alleen.

Consistente trend, maar methodologisch versnipperd



Consistente bevinding

Combinatie BDG met PCR

- verbetert telkens specificiteit en PPV t.o.v. PCR alleen
- doorgaans zonder groot sensitiviteitsverlies



Blijvende beperkingen

- Geen RCT, geen SR/MA voor de combinatievraag
- 4 retrospectieve cohorten
- Verschillende referentiestandaarden, PCR-targets, BDG-assays
- Slechts 1 studie met Wako-assay

5. Aanbeveling & besluit

Concreet voorstel en kennishiaten voor AZ Groeninge

Gericht gebruik van BDG — vier situaties



Sterk positieve PCR + overtuigend beeld

- Weinig meerwaarde
- Diagnose op PCR + kliniek alleen



Negatieve PCR + hoge klinische verdenking

- Bruikbaar om empirische behandeling te staken



Intermediaire / zwak-positieve PCR — 'grijze zone'

- Grootste meerwaarde
- BDG systematisch aanbevolen



BAL niet haalbaar

- Minimaal invasief alternatief
- Gecombineerd met PCR op niet-invasief staal



Houd in elk van deze situaties rekening met de vals-positieve bronnen uit Vraag 2 (IVIG, chirurgisch gaas, bacteriëmie, nierinsufficiëntie...) vóór je een positieve BDG interpreteert

BDG bijbepalen is nuttig — maar niet als routinetest



NIET systematisch bij elke PCR

- Verhoogt nodeloos het aantal vals-positieven en de kosten
- Meerwaarde is sterk context-afhankelijk — geen 'one size fits all'
- Bij een sterk positieve PCR met overtuigend beeld voegt BDG doorgaans niets toe



WEL gericht — mits rekening met:



Patiëntenpopulatie

HIV vs. niet-HIV, oncologisch vs. IZ: prestaties en optimale cutoff verschillen sterk



Gebruikte assay

Fungitell ≠ Wako — cutoffs zijn niet uitwisselbaar tussen assays



In-house gevalideerde cutoffs

Fabrikantcutoffs zijn een vertrekpunt, geen eindpunt — lokale validatie verdient de voorkeur

Lopende prospectieve studie binnen AZ Groeninge

Monocentrisch, 01/10/2025 – 30/09/2026, alle BDG-bepalingen

	Data-verzameling	Alle BDG-aanvragen, ongeacht onderliggende aandoening; gelijktijdige PCR geregistreerd
	Episode-definitie	BDG-bepaling ≥ 30 dagen na vorige, per hospitalisatie; eerste positieve staal weerhouden
	Classificatie	Waarschijnlijk / onwaarschijnlijk / inconclusief / geen PJP conform Donnelly (2020) & Lagrou (2021)
	Vals-positiviteitsanalyse	Systematisch nagaan van interfererende factoren per positief resultaat
	Analysedoel	Meerwaarde van BDG voor onderscheid PJP vs. kolonisatie in eigen cohort

Bedankt voor jullie aandacht; Vragen?

Volg ons:



www.twitter.com/azgroeninge



www.facebook.com/azgroeningekortrijk



www.instagram.com/azgroeninge



www.linkedin.com/company/azgroeninge/