

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene

Direktor: Prof. Dr. med. Martin Aepfelbacher

Additiver Stellenwert von (1,3) - β -D-Glukan Messungen für die Diagnose invasiver Candida-Infektionen bei Intensivpatienten

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Beya Abdennadher
aus Hamburg

Hamburg 2023

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 29.08.2024**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Maximilian Christopeit

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Holger Rohde

Inhaltsverzeichnis

1. Originalartikel der Publikationspromotion	4
1.1 Supplementary Information	13
2. Einleitung	15
3. Methoden.....	18
3.1. Studiendesign und Patienten.....	18
3.2. Definitionen	18
3.3. Mikrobiologische Analyse	19
3.4. Datensammlung	20
3.5. Statistik.....	22
4. Ergebnisse	23
4.1. Klinische Charakteristika	23
4.2. Ergebnisse der BDG-Messungen.....	24
4.3. Diagnostische Genauigkeit der BDG-Messungen	24
4.4. Additiver Stellenwert der BDG-Messungen	26
5. Diskussion.....	27
6. Zusammenfassung	31
7. Abkürzungsverzeichnis.....	32
8. Literaturverzeichnis.....	32
9. Erklärung des Eigenanteils.....	37
10. Danksagung	38
11. Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.
12. Eidesstattliche Versicherung	40

1. Originalartikel der Publikationspromotion

Infection
https://doi.org/10.1007/s15010-023-02053-4

RESEARCH



The added value of (1,3)- β -D-glucan for the diagnosis of Invasive Candidiasis in ICU patients: a prospective cohort study

Martin Christner¹ · Beya Abdennadher¹ · Dominic Wichmann² · Stefan Kluge² · Amra Pepić³ · Martin Aepfelbacher¹ · Holger Rohde¹ · Flaminia Olearo¹

Received: 9 November 2022 / Accepted: 14 May 2023
© The Author(s) 2023

Abstract

Purpose Beta-D-Glucan (BDG) testing has been suggested to support the diagnosis of candidemia and invasive candidiasis. The actual benefit in critically ill high-risk patients in intensive care units (ICU) has not been verified so far.

Methods In ICU patients receiving empirical echinocandin treatment for suspected invasive candidiasis (IC), serial BDG testing using the Fujifilm Wako Beta-Glucan Test was performed, starting on the first day of echinocandin administration and every 24–48 h afterwards. Diagnostic accuracy was determined for single testing and serial testing strategies using a range of cut-off values. In addition, we compared the added value of these testing strategies when their results were introduced as additional predictors into a multivariable logistic regression model controlling for established risk factors of IC.

Results A total of 174 ICU patients, forty-six of which (25.7%) classified as cases of IC, were included in our study. Initial BDG testing showed moderate sensitivity (74%, 95%CI 59–86%) and poor specificity (45%, 95% CI 36–54%) for IC which could hardly be improved by follow-up testing. While raw BDG values or test results obtained with very high thresholds improved the predictive performance of our multivariable logistic regression model for IC, neither single nor serial testing with the manufacturer-proposed low-level cut-off showed substantial benefit.

Conclusions In our study of critically ill intensive care patients at high risk for candidemia or invasive candidiasis, diagnostic accuracy of BDG testing was insufficient to inform treatment decisions. Improved classification was only achieved for cases with very high BDG values.

Keywords (1,3)- β -D-glucan · Invasive Candidiasis · Intensive care unit · Diagnosis

Introduction

Invasive Candidiasis (IC) is increasingly recognized as a significant cause of morbidity and mortality in Intensive Care Unit (ICU) patients [1]. Prompt initiation of empirical

antifungal treatment is deemed pivotal in order to impact patient survival [2]. However, the development of tools for the adequate diagnosis of IC has not kept pace with the burden of the disease and remains challenging. The gold standard histopathological detection of fungi in tissue specimens is often inapplicable [3] and the diagnostic value of routinely performed blood cultures [4] is reduced by low sensitivity and inherently slow turnaround times [5]. Consequently, a presumptive diagnosis of IC and initiation of empiric antifungal treatment is usually based upon a combination of clinical risk factors and microbiological criteria, e.g. the candida colonisation index (CI), resulting in low specificity and an excessive and/or unnecessary use of antifungals [6]. Biomarkers may support clinical decision-making by providing improved sensitivity and fast time-to-result, and in particular the (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan (BDG) assay has been advocated for this purpose in high-risk ICU patients [7]. However, reported sensitivities and specificities show

Martin Christner and Beya Abdennadher shared first authorship.

✉ Martin Christner
m.christner@uke.de

¹ Center for Diagnostics, Institute of Medical Microbiology, Virology and Hygiene, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

² Center for Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Department of Intensive Care Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

³ Center for Experimental Medicine, Institute of Medical Biometry and Epidemiology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

Published online: 15 June 2023

Springer

substantial variation between studies [3, 7, 8], and it remains unclear if repeated BDG testing can improve diagnostic performance for IC.

The present study prospectively evaluated the diagnostic performance of the Fujifilm Wako BDG-test for the diagnosis of IC in high-risk ICU patients and analysed the added value of repeated testing and alternative cut-off values.

Methods

Patients and study design

This prospective observational cohort study was conducted from June 1 2020 to June 30 2021 in the Department of Intensive Care Medicine at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Germany. The department consists of 12 ICUs with a total of 140 beds and serves all specialties of adult intensive care medicine.

In addition to routine diagnostic procedures, ICU physicians were instructed to order BDG testing upon initiation of empirical anti-fungal treatment for patients with high risk of IC and every 24–48 h thereafter for the total duration of antifungal therapy. ICU physicians were informed about the BDG test results, but were not specifically instructed to make any adjustments to the patient's current therapy based on test results. All patients who received an echinocandin—the treatment of choice for suspected IC at our institution—and for whom at least one BDG measurement was available within 24 h of echinocandin administration were included in the study.

Definitions

Cases of IC were identified based on criteria adopted from the revised and updated consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses study group education and research consortium (EORTC/MSGERC) [9]. To account for the higher risk of blood culture contamination in ICU populations [10] these criteria were modified as follows:

IC was defined as either (1) at least two positive blood cultures growing *Candida spp.*; or (2) detection of *Candida spp.* by direct microscopy or culture from a specimen obtained by a sterile procedure (including a drain placed within <24 h) from a normally sterile site showing a clinical abnormality consistent with an infectious disease.

Patients with a single positive *Candida spp.* blood culture or with *Candida spp.* recovered from the wound, ascites, pleural puncture and/or intraabdominal drain site, along with clinical signs (leucocytosis > 12000 cells/mm³, hypothermia <35.8 °C, fever > 38.5 °C and hypotension with

MAP < 65 mmHg) were evaluated by two independent physicians, who used their clinical judgement to decide whether the patient should be classified as a case of IC.

Microbiological analysis

Patient serum samples were tested for BDG using the Beta-Glucan Test (Fujifilm Wako Chemicals Europe, Neuss, Germany) following the manufacturer's instructions. BDG levels were determined automatically using the MT-6500 toxinometer. Serum samples with BDG level over 600 pg/ml were diluted and retested. Results were evaluated using thresholds of 3, 7, 20, 50, 100, 150 and 200 pg/ml. If not stated otherwise, the manufacturer's proposed cut-off of 7 pg/ml was used.

Blood culture bottles (Bactec Plus aerobic/anaerobic; BD, Heidelberg, Germany) were incubated in a BD Bactec Fx instrument (BD, Heidelberg, Germany) at 37° C for a maximum of five days. Fluid from positive blood culture bottles was microscopically evaluated and inoculated onto solid media, including a Sabouraud agar plate. Yeast from solid media subcultures was identified to the species level by MALDI-TOF mass spectrometry fingerprinting using a Bruker MALDI Biotyper system.

Data collection

Demographic, clinical, and microbiological data were retrieved from clinical and laboratory information systems. Known risk factors for IC as well as basal clinical parameters were assessed, including age, sex, surgery, intestinal perforation, total parenteral nutrition, immunosuppression, transplantation, malignancy, presence of central venous catheters (CVC) or other vascular devices, dialysis, use of broad-spectrum antibiotics, length of ICU stay, leucocytes, C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), lactate, temperature, heart rate and respiratory rate. Overall severity of the disease was assessed by the SOFA score calculated on the first day of echinocandin treatment. The CI was determined as the ratio of the number of distinct body sites colonized by *Candida spp.* to the total number of cultured body sites [11] considering samples obtained between 10 days before echinocandin treatment and the end of the 90-day follow-up period. In addition, haemodialysis with cellulose membranes, immunoglobulin treatment [5, 12–14], albumin, antimicrobial treatment and concurrent bacteraemia [5] were assessed as potential risk factors for false positive BDG results.

Blood culture results were assessed immediately before, during and two weeks after treatment (except in case of death or discharge). Mortality was assessed after thirty days of follow-up.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Hamburg Chamber of Physicians and a waiver of informed consent was granted (WF-19/20).

Statistical analysis

Normally distributed continuous variables are presented as the mean \pm standard deviation (SD), non-normally continuous variables are presented as the median with interquartile range (IQR), and categorical variables are presented as numbers and proportions. Normal and non-normal distribution was established graphically. According to the distribution of the respective target outcome, differences between groups were assessed by t test, Mann-Whitney *U*-test, χ^2 test or Fisher exact test as required. The diagnostic performance of BDG testing with different cut-off values (3, 7, 20, 50, 100, 150 and 200 pg/ml) and multiple-testing strategies (at least one test positive, all tests positive) was evaluated in terms of sensitivity and specificity as well as positive and negative predictive values for our study population. To evaluate the added value of BDG testing in the clinical pathway, logistic regression models based on clinically relevant judgment were calculated with IC state (yes vs. no) as a dependent variable and the following risk factors as predictors: age, sex, CI, parental nutrition, carbapenem treatment, dialysis, surgery, SOFA score, intestinal perforation and immunosuppression [15, 16]. The gained diagnostic information in relation to the base model was quantified on the basis of likelihood ratios, Nagelkerke pseudo- R^2 -values and the variation of predicted probabilities of IC [17]. Model performance figures from internal validation and measures of added value were corrected for overfitting using bootstrapping [18].

All analyses are performed in an explorative manner. No adjustment for multiple testing was performed.

Statistical analysis was performed using R version 4.4.1 [19]. Results were reported following the STROBE guidelines [20].

Results

Clinical characteristics

During the study period 174 of 239 high-risk ICU patients receiving empirical echinocandin treatment for suspected IC were tested at least once for BDG (Fig. 1). The median age was 63 years (IQR 50–71) and participants were predominantly male (130/174, 75.7%). Forty-six patients (26.4%) were diagnosed with IC, 35 (20.1%) with repeatedly positive blood cultures. Patients with and without IC had similar characteristics in baseline variables (Table 1). However, patients without IC were more likely to be SARS-CoV-2 infected (28.1% vs 4.3%, *p*-value = 0.002) and had a higher 30-day mortality (39.8% vs 21.7%, *p*-value = 0.023).

Results from BDG testing

Upon initial testing, patients with IC showed higher levels of serum BDG and higher test positivity rates than patients without IC. These differences persisted in follow-up tests (table S1). Discrepant results upon follow-up testing were obtained from 16 patients (4 with IC) with initially positive and 22 patients (0 with IC) with initially negative BDG test results. The variation of BDG values in these patients followed different patterns (single outlier, low amplitude fluctuation, high amplitude fluctuation, gradual increase/decrease, discernible peak), not suggestive of a single source of bias.

Fig. 1 Study population and patient classification

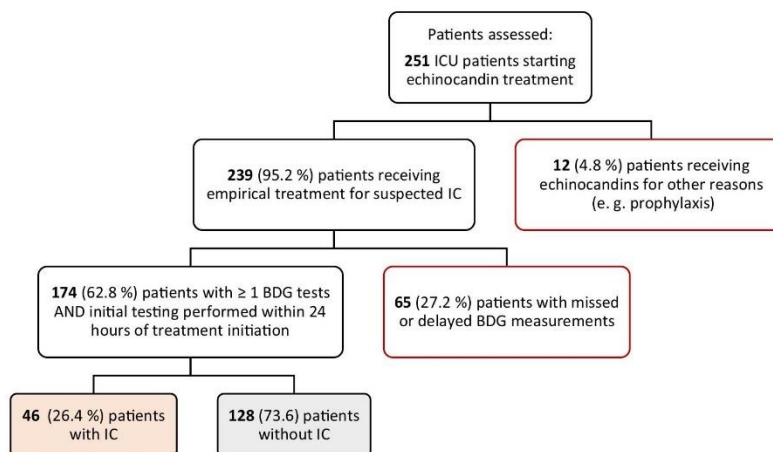


Table 1 Clinical characteristics of patients with and without invasive candidiasis (IC)

Characteristic	IC (n = 46)	No IC (n = 128)	P value
Age [years], median (IQR)	64 (53–73)	62 (49–70.5)	0.135
Sex, female (%)	11 (23.9)	33 (25.8)	0.958
Candida species in blood culture (no. of cases)	<i>C. albicans</i> (23) <i>C. parapsilosis</i> (4) <i>C. glabrata</i> (2) <i>C. dubliniensis</i> (2) <i>C. tropicalis</i> (2) <i>C. lusitanae</i> (1) <i>C. kefyr</i> (1)	<i>C. albicans</i> (2) ^d <i>C. glabrata</i> (1) ^d <i>C. dubliniensis</i> (1) ^d	–
Candida Colonisation Index (IQR)	0.5 (0.3–0.7)	0.4 (0.2–0.7)	0.169
Underlying disease, no. of patients (%):			
Surgery ^a	27 (58.7)	58 (45.3)	0.128
Intestinal perforation	7 (15.2)	13 (10.2)	0.513
Solid tumor	6 (13.0)	31 (24.2)	0.168
Solid organ transplantation	2 (4.3)	16 (12.5)	0.092
Hematologic malignancy/HSCT	7 (15.2)	14 (10.9)	0.445
Dialysis	14 (30.4)	52 (40.6)	0.296
SARS-CoV-2 infection	2 (4.3)	36 (28.1)	0.002
SOFA score, media (IQR)	9.0 (7.0–12.0)	11.0 (8.0–13.25)	0.014
Parental nutrition (%) ¹	38 (84.4)	114 (89.1)	0.581
Central venous catheter (%)	45 (97.8)	124 (96.9)	0.733
Immunoglobulin treatment ^a [-7/0 days] (%)	1 (2.2)	6 (4.7)	0.759
Bacteremia [-15/0 days] (%)	27 (58.7)	57 (44.5)	0.140
Antibiotic treatment ^b (%):	37 (80.4)	110 (85.9)	0.518
Carbapenem treatment ^b (%):	27 (58.7)	81 (63.3)	0.709
PCT [ng/l] ^c , median (IQR)	0.99 (0.44–2.02)	1.58 (0.56–4.2)	0.112
CRP [mg/liter], median (IQR)	119 (69.0–213.8)	154.5 (88–228)	0.263
Leucocytes [$\times 10^4$ /ml], median (IQR)	12.1 (8.1–17.4)	14.2 (9.2–20.9)	0.337
Lactate [mmol/L], median (IQR)	1.3 (1.0–2.1)	1.6 (1.1–2.6)	0.139
Echinocandin treatment [days], median (IQR)	11.5 (5.3–16.8)	10.0 (5.0–15.0)	0.456
ICU stay [days], median (IQR)	30.5 (15.0–52.8)	27.0 (16.8–47.0)	0.748
30-day mortality [no. of deceased patients] (%)	10 (21.7)	51 (39.8)	0.043

^aOne missing value in the group of patients with IC

^bDuring the 1st week of echinocandin treatment

^c5 missing values in the group of patients with IC, 9 missing values in the group of patients without IC

^dSingular positive blood cultures from patients with at least 2 additional negative blood cultures obtained within 72 h before the allegedly positive sample and candida colonization index ≥ 0.5 ; considered a contaminant

Diagnostic accuracy of BDG testing

Applying the manufacturer's cut-off, BDG testing showed moderate sensitivity (74%, 95%CI 59–86%) and poor specificity (45%, 95% CI 36–54%) for IC in our population of high-risk ICU patients. Diagnostic accuracy could hardly be improved by repeated testing alone and specificity and positive predictive value remained poor even when considering multiple consecutive positive tests. Satisfactory sensitivity or specificity could only be obtained with adjusted cut-offs (Table 2). However, the introduction of an indeterminate

category to minimize the number of false positive and false negative calls in our patient population (e. g. < 3 pg/ml $=$ indeterminate < 100 pg/ml), would render the assay meaningless in more than 70% of our samples (table S2).

The added value of BDG measurement

The prognostic value of BDG testing was also assessed by analyzing changes in the performance of logistic regression models after the addition of BDG test results as an additional predictor of IC. The addition of raw BDG values from initial

Table 2 Diagnostic performance of (1,3)- β -d-glucan testing for IC

Algorithm	Cut-off [pg/ml]	Sensitivity (95% CI) [%]	Specificity (95% CI) [%]	PPV (95% CI) [%]	NPV (95% CI) [%]
Single test (<i>n</i> = 174)	3	87 (74–95)	27 (19–35)	30 (22–38)	85 (70–94)
	7 ¹	74 (59–86)	45 (36–54)	33 (24–43)	83 (72–91)
	20	48 (33–63)	69 (60–77)	35 (24–49)	79 (70–86)
	50	30 (18–46)	89 (82–94)	50 (31–69)	78 (70–84)
	100	17 (8–31)	95 (90–98)	57 (29–82)	76 (69–83)
	200	17 (8–31)	100 (97–100)	100 (63–100)	77 (70–83)
2 tests, \geq 1 pos. (<i>n</i> = 148)	3	92 (79–98)	19 (12–28)	29 (21–38)	88 (68–97)
	7 ¹	77 (61–89)	32 (23–42)	29 (20–39)	80 (65–90)
	20	54 (37–70)	57 (47–66)	31 (20–43)	78 (67–86)
	50	36 (21–53)	81 (72–88)	40 (24–58)	78 (69–85)
	100	21 (9–36)	90 (83–95)	42 (20–67)	76 (68–83)
	200	18 (8–34)	98 (94–100)	78 (40–97)	77 (69–84)
2 tests, 2 pos. (<i>n</i> = 148)	3	90 (76–97)	27 (19–36)	30 (22–40)	88 (72–97)
	7 ¹	72 (55–85)	50 (40–59)	34 (24–45)	83 (72–91)
	20	46 (30–63)	74 (65–82)	39 (25–55)	79 (70–87)
	50	31 (17–48)	94 (88–98)	67 (41–87)	79 (71–86)
	100	18 (8–34)	97 (92–99)	70 (35–93)	77 (69–84)
	200	15 (6–31)	100 (97–100)	100 (54–100)	77 (69–83)
3 tests, \geq 1 pos. (<i>n</i> = 120)	3	94 (80–99)	10 (5–19)	28 (20–38)	82 (48–98)
	7 ¹	79 (61–91)	26 (18–37)	29 (20–39)	77 (58–90)
	20	61 (42–77)	47 (36–58)	30 (20–43)	76 (62–87)
	50	39 (23–58)	76 (65–84)	38 (22–56)	77 (66–85)
	100	24 (11–42)	91 (83–96)	50 (25–75)	76 (67–84)
	200	18 (7–35)	97 (90–99)	67 (30–93)	76 (67–83)
3 tests, 3 pos. (<i>n</i> = 120)	3	91 (76–98)	25 (17–36)	32 (22–42)	88 (69–97)
	7 ¹	70 (51–84)	51 (40–61)	35 (24–48)	81 (69–91)
	20	42 (25–61)	74 (63–82)	38 (22–55)	77 (67–86)
	50	30 (16–49)	97 (90–99)	77 (46–95)	79 (70–86)
	100	18 (7–35)	99 (94–100)	86 (42–100)	76 (67–84)
	200	15 (5–32)	100 (96–100)	100 (48–100)	76 (67–83)

PPV Positive predictive value, NPV Negative predictive value, *n* Number of patients

¹Manufacturer proposed cut-off

testing to a pre-specified multivariable regression model, encompassing previously described risk factors for IC as predictors of IC, improved model fit and performance (likelihood ratio $\chi^2 = 22.1$, d. f. = 1, $P < 0.001$; table S3) and widened the histogram of predicted probability as would be expected for a predictor which adds clinically important predictive information (Fig. 2b). However, in line with the observed distribution of IC cases over BDG values (table S2), substantial changes in the predicted probability of IC were limited to a small number of samples with very high BDG values (Fig. 2c). Thus BDG testing increased the likelihood of correct classification only for a small fraction of cases. Not surprisingly, as the increase in predictive performance was attributable to samples with the highest BDG values, the application of low-level thresholds, as usually

employed for BDG testing, markedly reduced the fraction of new information gained from BDG test results (Fig. 3). As already observed for diagnostic accuracy, the incorporation of results from follow-up testing only marginally affected BDG's added value. None of the investigated multi-test regimens added more information than raw BDG values from initial testing (Fig. 3).

Discussion

With the high mortality of IC in ICU patients fast and reliable diagnostic tests are highly appreciated. BDG holds the promise to improve the diagnostic yield, turnaround and accuracy in IC. However, this hope was not fulfilled in our

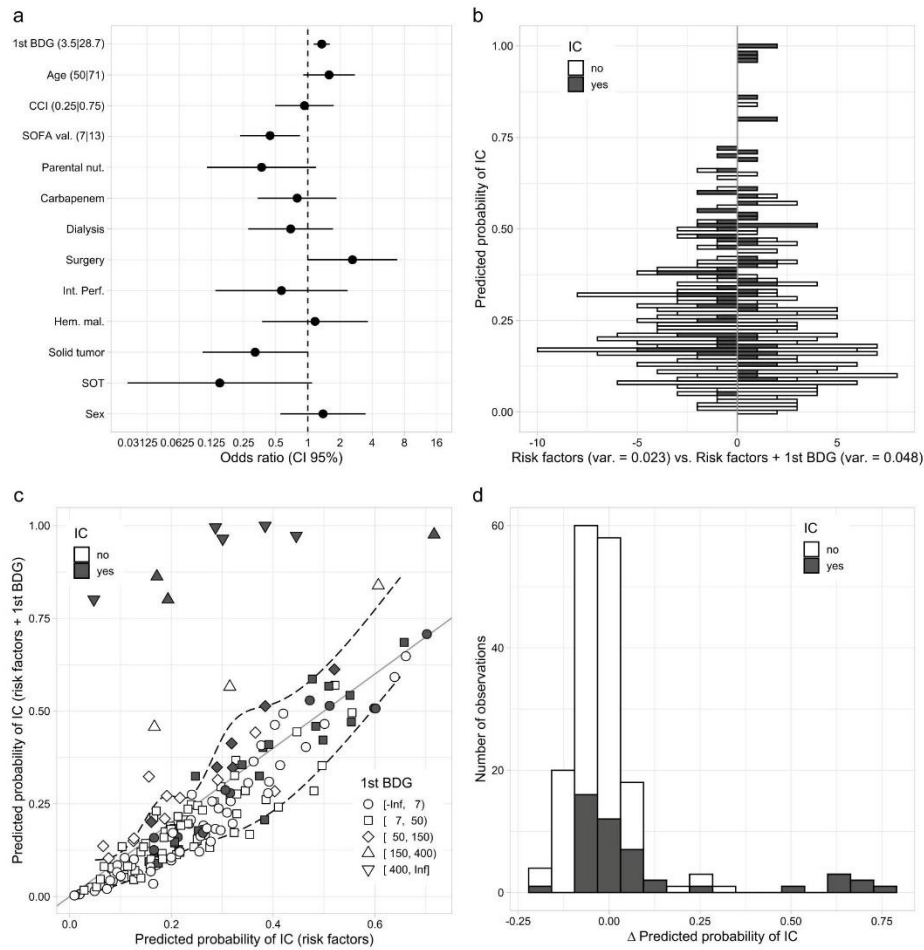


Fig. 2 Panel a: Multivariable logistic regression model for invasive candidiasis (IC) using known risk factors and the BDG value from the first BDG test as predictors (model M3 from table S3). Dots and whiskers indicate odds ratios with 95% confidence intervals for changing the value of the respective predictor as indicated in square brackets. Panel b: Comparison of predicted probabilities for IC between the aforementioned model ('1stBDG', right) and the respective base model without BDG ('Risk factors+BDG', model M1 from table S3, left). Black fill indicates cases of IC. Panel c: Comparison of predicted probability for IC from models with ('Risk factors+BDG', y-axis) and without ('Risk factors', x-axis) BDG. Black fill indicates cases of IC; symbols indicate BDG levels. Panel d: Distribution of differences in the predicted probability of IC between the aforementioned models. Black fill indicates cases of IC. Substantial changes in the predicted probability of IC are limited to cases with very high BDG values (as compared to the manufacturer's proposed cut-off of 7 pg/ml)

parison of predicted probability for IC from models with ('Risk factors+BDG', y-axis) and without ('Risk factors', x-axis) BDG. Black fill indicates cases of IC; symbols indicate BDG levels. Panel d: Distribution of differences in the predicted probability of IC between the aforementioned models. Black fill indicates cases of IC. Substantial changes in the predicted probability of IC are limited to cases with very high BDG values (as compared to the manufacturer's proposed cut-off of 7 pg/ml)

cohort of 174 critically ill patients with high risk for IC. Although our data support the suitability of BDG as a predictor of IC, the observed diagnostic accuracy using recommended thresholds was low and could hardly be improved by repeated testing. Thus adding BDG testing to the diagnostic algorithm, even if done as serial testing, which has been suggested to improve the diagnostic accuracy compared to

single testing [7], cannot be recommended for ICU patients with a high risk of IC. Our study found low specificity and low positive predictive value for BDG testing with recommended cut-offs in the respective patient population. These findings were supported by logistic regression modelling, which found limited added value of single or repeated BDG testing with low-level thresholds. On the other hand, the

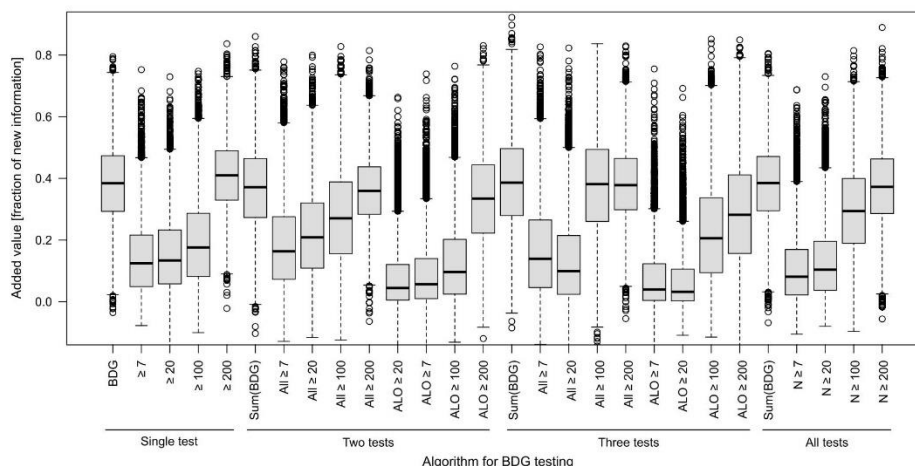


Fig. 3 Added value of BDG testing using different cut-off values and multiple-testing strategies (single test: BDG value or positivity using the indicated cut-offs, two/three tests: sum of BDG values, positivity of all or at least one (ALO) test using the indicated cut-offs; All tests: sum of BDG values or number (N) of positive tests using the indicated cut-offs). Boxplots show the fraction of information gained from introducing results from BDG testing as an additional predictor to a pre-specified model with established risk factors for IC, age,

sex, CI, parental nutrition, carbapenem treatment, dialysis, surgery, SOFA score, intestinal perforation and hematologic malignancy) with median (horizontal lines), IQR (box) and $1.5 \times IQR$ (whiskers) from bootstrapping with 10,000 replicates. The fraction of gained diagnostic information was quantified on the basis of changes in the variation of predicted probabilities of IC [Frank E Harrell, Jr. Regression Modeling Strategies. 2nd ed. 2015. Springer Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-19425-7>]

sensitivity and negative predictive value, even of serially negative tests, seem to be insufficient to mandate discontinuation of empirical antifungal treatment in high-risk individuals until the implications of numerous plausible reports on BDG negative IC cases are better understood [21][21].

A common problem with biomarkers in fungal diagnostics is the setting of appropriate cut-offs. While such categorization ensures easily comprehensible reports, it is associated with the loss of information and might cause severe heterogeneity across patient populations[3]. In our study, the application of the recommended thresholds—which might be appropriate for non-ICU patients [7]—resulted in a severe loss of predictive performance as compared to raw BDG values. However, strategies to counteract the apparently reduced discriminatory power of BDG in our patient population with separate high- and low-level thresholds to rule in or out IC would render BDG testing uninformative for the majority of patients. While careful selection of patients for BDG testing has been shown to improve the test’s predictive performance, restrictions on test utilization are difficult to enforce in clinical practice.

Our insights come with some limitations. The study is monocentric and focused on high-risk ICU patients. Findings do thus not extend to non-ICU populations and individuals with low to moderate risk of IC. As our definitions for IC in high-risk ICU patients were not identical to the

EORTC/MSGERC revised and updated consensus definitions of IFD from 2020 our results might not be directly comparable to studies applying these widely used definitions. Generalizability might be further hampered by differences in diagnostic performance between the various BDG tests available. However, direct comparisons involving the Fujifilm Wako BDG assay and the Associates of Cape Cod Fungitell assay (which is part of the EORTC/MSGERC) showed good agreement between both tests [23, 24] The small sample size limits the power of our statistical analyses. The number of available cases for certain analyses was further reduced by the fact that not all patients received multiple BDG tests. Although these limitations resulted in wide confidence intervals for some estimates, the observed trends were robust and consistent across different analyses. Furthermore, we are aware of the possible gradual loss of sensitivity of BDG testing during ongoing echinocandin treatment. However, such loss of sensitivity has not yet been addressed in clinical studies and might be more relevant after prolonged treatment. Among our patients with discrepant results upon follow-up testing, increasing and decreasing BDG levels were observed in equal proportions. Considering the high mortality of IC in ICU patients and the high pre-test probability in our patients with established risk factors, it would have been unethical to delay the start of treatment awaiting results from serial BDG testing. Finally,

our study was conducted during the COVID-19 pandemic which probably affected various aspects of our venture. Staff overload impaired compliance with our study protocol resulting in an unexpectedly high number of exclusions due to delayed or missing initial BDG measurements and undesirable trade-offs regarding the collection of samples for the determination of the CCI. In addition, the observed negative correlation between SARS-CoV-2 infection and IC might have obfuscated other typical IC associations (e. g. with SOFA score or mortality).

In conclusion, due to low specificity and moderate sensitivity, BDG testing with recommended cut-offs has limited value to guide treatment decisions in high-risk ICU patients even with costly and time-consuming repeated measurements. The clinical impact of improved performance observed with adapted thresholds or quantitative assessment might warrant further investigation. Future outcome-orientated studies should thus comparatively address the added value of available IC markers to guide the initiation or discontinuation of antifungal treatment in defined patient populations.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s15010-023-02053-4>.

Acknowledgements we acknowledge the essential contributions of all the staff of intensive care units and of the microbiology technicians.

Author contributions FO, MC, HR and DW developed the study and designed most of the experimental set-ups. BA and FO enrolled the subjects, collected and cleaned the data. MC and FO performed most of the analyses, processed the experimental data and designed most of the figures. The original draft of the manuscript was written by FO and BA and edited by MC and HR, further writing, review and editing were done by all authors. DW, AP, MA and SK supervised the project.

Funding Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. No funds, grants, or other support was received. The authors did not receive support from any organization for the submitted work.

Data availability Not applicable.

Declarations

Conflict of interest The authors have no conflicts of interest and no financial interest to declare.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Calandra T, Roberts JA, Antonelli M, Bassetti M, Vincent J-L. Diagnosis and management of invasive candidiasis in the ICU: an updated approach to an old enemy. *Crit Care Lond Engl*. 2016;20:125.
- Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. Septic shock attributed to Candida infection: importance of empiric therapy and source control. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2012;54:1739–46.
- White SK, Schmidt RL, Walker BS, Hanson KE. (1→3)- β -D-glucan testing for the detection of invasive fungal infections in immunocompromised or critically ill people. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;7:CD009833.
- Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK, Salomoni MA, Hao B, Press EG, et al. Performance of Candida real-time polymerase chain reaction, β -D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2012;54:1240–8.
- Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2013;56:1284–92.
- Azoulay E, Dupont H, Tabah A, Lortholary O, Stahl J-P, Francais A, et al. Systemic antifungal therapy in critically ill patients without invasive fungal infection*. *Crit Care Med*. 2012;40:813–22.
- Lamoth F, Akan H, Andes D, Cruciani M, Marchetti O, Ostrosky-Zeichner L, et al. Assessment of the role of 1,3- β -D-glucan testing for the diagnosis of invasive fungal infections in adults. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2021;72:S102–8.
- Thompson GR, Boulware DR, Bahr NC, Clancy CJ, Harrison TS, Kauffman CA, et al. Noninvasive testing and surrogate markers in invasive fungal diseases. *Open Forum Infect Dis*. 2022;9:ofac112.
- Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2020;71:1367–76.
- Ramirez P, Gordón M, Cortes C, Villarreal E, Perez-Belles C, Robles C, et al. Blood culture contamination rate in an intensive care setting: effectiveness of an education-based intervention. *Am J Infect Control*. 2015;43:844–7.
- Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg*. 1994;220:751–8.
- Egger M, Prüller F, Raggam R, Divjak MK, Kurath-Koller S, Lackner H, et al. False positive serum levels of (1→3)- β -D-glucan after infusion of intravenous immunoglobulins and time to normalisation. *J Infect*. 2018;76:206–10.
- Ogawa M, Hori H, Niiguchi S, Azuma E, Komada Y. False-positive plasma (1→3)- β -D-glucan test following immunoglobulin product replacement in an adult bone marrow recipient. *Int J Hematol*. 2004;80:97–8.
- Guitard J, Tabone M-D, Senghor Y, Cros C, Moissenet D, Markowicz K, et al. Detection of β -D-glucan for the diagnosis of invasive fungal infection in children with hematological malignancy. *J Infect*. 2016;73:607–15.
- Poissy J, Damonti L, Bignon A, Khanna N, Von Kietzell M, Boggian K, et al. Risk factors for candidemia: a prospective matched case-control study. *Crit Care Lond Engl*. 2020;24:109.
- Keighley CL, Pope A, Marriott DJE, Chapman B, Bak N, Daveson K, et al. Risk factors for candidaemia: a prospective multi-centre case-control study. *Mycoses*. 2021;64:257–63.

17. Harrell Jr, Frank E. Regression modeling strategies with applications to linear models, logistic and ordinal regression, and survival analysis. 2nd ed. Cham: Springer; 2015.
18. Steyerberg EW. Clinical prediction models: a practical approach to development, validation, and updating. New York: Springer eBooks; 2009.
19. R: the R project for statistical computing [Internet]. [cited 2022 Jul 1]. Available from: <https://www.r-project.org/>
20. Cuschieri S. The STROBE guidelines. Saudi J Anaesth. 2019;13:S31–4.
21. Agnelli C, Bouza E, Del Carmen M-J, Navarro R, Valerio M, Machado M, et al. Clinical relevance and prognostic value of persistently negative (1,3)- β -D-glucan in adults with candidemia: a 5-year experience in a tertiary hospital. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2020;70:1925–32.
22. Kritikos A, Poissy J, Croxatto A, Bochud P-Y, Pagani J-L, Lamoth F. Impact of the beta-glucan test on management of intensive care unit patients at risk for invasive Candidiasis. J Clin Microbiol. 2020;58:e0199-19.
23. De Carolis E, Marchionni F, Torelli R, Angela MG, Pagano L, Murri R, et al. Comparative performance evaluation of wako β -glucan test and fungitell assay for the diagnosis of invasive fungal diseases. PLoS ONE. 2020;15: e0236095.
24. Kritikos A, Caruana G, Poissy J, Mamin A, Bachmann D, Pagani JL, et al. Comparison of three β -glucan tests for the diagnosis of invasive Candidiasis in intensive care units. J Clin Microbiol. 2023;61: e0169122.

1.1 Supplementary Information

The added value of (1,3)- β -D-glucan for the diagnosis of Invasive Candidiasis in ICU patients: a prospective cohort study - Supplemental information

Martin Christner¹, Beya Abdennadher¹, Dominic Wichmann², Stefan Kluge², Amra Hot³, Martin Aepfelbacher¹, Holger Rohde¹, Flaminia Olearo¹

1. Center for Diagnostics, Institute of Medical Microbiology, Virology and Hygiene, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany.

2. Center for Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Department of Intensive Care Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany.

3. Center for Experimental Medicine, Institute of Medical Biometry and Epidemiology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany.

Table S1: Characteristics of the first three BDG tests per patient

Test	Characteristic	With proven IC	Without proven IC
1 st BDG test (n = 174; 46 with proven IC, 128 without proven IC)	Median BDG value [pg/ml] (IQR)	18.5 (5.6-58.3)	8.6 (2.9-24.5)
	Num. with BDG \geq 3 (Prop. [%])	40 (87.0)	94 (73.4)
	Num. with BDG \geq 7 (Prop. [%])	34 (73.9)	70 (54.7)
	Num. with BDG \geq 20 (Prop. [%])	22 (47.8)	40 (31.3)
	Num. with BDG \geq 50 (Prop. [%])	14 (30.4)	14 (10.9)
	Num. with BDG \geq 100 (Prop. [%])	8 (17.4)	6 (4.7)
	Num. with BDG \geq 200 (Prop. [%])	8 (17.4)	0 (0.0)
2 nd BDG test (n = 148; 39 with proven IC, 109 without proven IC)	Median BDG value [pg/ml] (IQR)	18.7 (5.8-78.1)	10.6 (3.6-26.7)
	Num. with BDG \geq 3 (Prop. [%])	36 (92.3)	86 (78.9)
	Num. with BDG \geq 7 (Prop. [%])	28 (71.8)	69 (63.3)
	Num. with BDG \geq 20 (Prop. [%])	19 (48.7)	38 (34.9)
	Num. with BDG \geq 50 (Prop. [%])	14 (35.9)	15 (13.8)
	Num. with BDG \geq 100 (Prop. [%])	14 (35.9)	15 (13.8)
	Num. with BDG \geq 200 (Prop. [%])	6 (15.4)	0 (0.0)
3 rd BDG test (n = 120; 33 with proven IC, 87 without proven IC)	Median BDG value [pg/ml] (IQR)	29.7 (6.5-80.0)	11.8 (5.1-33.3)
	Num. with BDG \geq 3 (Prop. [%])	31 (93.9)	73 (83.9)
	Num. with BDG \geq 7 (Prop. [%])	55 (72.7)	24 (63.2)
	Num. with BDG \geq 20 (Prop. [%])	18 (54.6)	38 (43.7)
	Num. with BDG \geq 50 (Prop. [%])	12 (54.5)	12 (13.8)
	Num. with BDG \geq 100 (Prop. [%])	7 (21.2)	5 (5.7)
	Num. with BDG \geq 200 (Prop. [%])	5 (15.2)	3 (3.5)

Table S2: Distribution of initial BDG values in patients with and without IC

BDG value (1 st test)	Number (proportion [%]) of patients with IC	Number (proportion [%]) of patients without IC
[0, 3)	6 (13.0)	34 (26.6)
[3, 7)	6 (13.0)	24 (18.8)
[7, 20)	12 (26.1)	30 (23.4)
[20, 50)	8 (17.4)	26 (20.3)
[50, 100)	6 (13.0)	8 (6.2)
[100, 200)	0 (0.0)	6 (4.7)
[200, 1000)	8 (17.4)	0 (0.0)
Total	46	128

Table S3: Multivariable logistic regression models for IC.

Predictor	M1: Risk factors		M2: 1 st BDG \geq 7 pg/ml		M3: 1 st BDG value	
	β	SE	β	SE	β	SE
1 st BDG \geq 7 pg/ml (1 = yes, 0 = no)	-	-	1.024**	0.450	-	-
1 st BDG value [pg/ml]	-	-	-	-	0.012***	0.003
CCI	0.361	0.591	0.253	0.604	-0.147	0.646
Parental nutrition (1 = yes, 0 = no)	- 0.711	0.577	- 0.801	0.591	-0.997*	0.599
Carbapenem treat. (1 = yes, 0 = no)	- 0.100	0.395	- 0.094	0.402	-0.231	0.432
SOFA score	- 0.113**	0.049	- 0.142***	0.052	-0.136**	0.055
Dialysis (1 = yes, 0 = no)	- 0.116	0.417	- 0.228	0.429	-0.371	0.466
Surgery (1 = yes, 0 = no)	0.684	0.457	0.593	0.466	0.961*	0.492
Intestinal perf. (1 = yes, 0 = no)	0.077	0.603	- 0.038	0.619	-0.569	0.727
Hem. mal. (1 = yes, 0 = no)	0.052	0.565	0.259	0.573	0.154	0.582
Solid tumor (1 = yes, 0 = no)	- 1.231**	0.543	- 1.031*	0.549	-1.136*	0.580
Solid organ trans. (1 = yes, 0 = no)	- 1.270	0.835	- 1.102	0.853	-1.898*	1.015
Age [year]	0.022*	0.013	0.021	0.013	0.022	0.013
Sex (1 = male, 0 = female)	0.238	0.432	0.258	0.446	0.327	0.468
Intercept	- 0.910		- 1.164	0.990	-0.674	1.002
Number of observations	174		174		174	
Model likelihood ratio (χ^2 , d. f., P)	21.5, 12, 0.041		27.0, 13, 0.012		43.6, 13, <0.001	
Goodness of fit test ¹ (Z, P)	-0.136, 0.892		-0.304, 0.761		-0.167, 0.867	
Nagelkerke R ² (bias corrected ²)	0.169 (0.012)		0.210 (0.043)		0.323 (0.163)	
C-statistic (bias corrected ²)	0.710 (0.616)		0.737 (0.645)		0.782 (0.709)	
Akaike's information criterion	205.5		202.0		185.4	

1) S. le Cessie & J. C. van Houwelingen. A Goodness-of-Fit Test for Binary Regression Models, Based on Smoothing Methods. *Biometrics* Vol. 47, No. 4 (Dec., 1991). DOI: <https://doi.org/10.2307/2532385>

2) Frank E Harrell, Jr. *Regression Modeling Strategies*. 2nd ed. 2015. Springer Cham. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-19425-7>

CCI: candida colonization index, Hem. mal.: hematologic malignancy, trans.: transplantation, treat.: treatment

2. Einleitung

Candida species sind kommensale gastrointestinal, urogenital, kutan und im Respirationstrakt lokalisierte Hefen, welche sich bei gegebener Suszeptibilität im Menschen vermehren und invasive *Candida* Infektionen auslösen können (Eggimann, 2003). Exogene, über das medizinische Personal vermittelte Transmissionen von *Candida species*, sind ebenfalls berichtet worden, jedoch spielen diese bei der Entwicklung invasiver Candidosen gegenüber einer endogenen Kolonisation nur eine untergeordnete Rolle (Pfaller et al., 1998). Unter einer invasiven Candidiasis (IC) fasst man sowohl die Candidämie, welche eine Isolation von *Candida* im Blut voraussetzt, als auch die invasive Dissemination von *Candida species* in unterschiedliche Organe, welche nur in 50% der Fälle mit positiven Blutkulturen einhergeht (Clancy et al., 2013, Hockey et al., 1982, Sobel et al., 2003). In den USA beträgt die Inzidenz invasiver *Candida* Infektionen 8 Fälle pro 100.000 Einwohner (Kao et al., 1999). Dabei stellt *Candida albicans* das führende Pathogen dar (Meyer et al., 2013).

Ein kritisch kranker Zustand, wie er bei Intensivpatienten vorliegt, prädisponiert für invasive *Candida* Infektionen, welche 6,5 % aller nosokomialen Blutstrominfektionen auf deutschen Intensivstationen ausmachen (Meyer et al., 2013). Begünstigt wird dies durch die mit einem Intensivaufenthalt verbundene Kumulation von IC-assoziierten Risikofaktoren wie operative Eingriffe, parenterale Ernährung, Neutropenie, Antibiotika, zentralvenöse Katheter und eine Niereninsuffizienz (Wey et al., 1989, Bross et al., 1989).

Eine rasche Diagnosestellung ist angesichts der hohen Mortalität von 40-60 % von höchster Relevanz (Clancy et al., 2013). Jegliche Verzögerung in der Einleitung einer antimykotischen Therapie ist mit einer Verschlechterung der Prognose verbunden (Garey et al., 2006). Jedoch ist die Diagnosestellung einer IC angesichts eines unspezifischen klinischen Bildes erschwert. Dieses ist geprägt von septischen Verläufen bis hin zum septischen Schock und Multiorganversagen, was eine klinische Abgrenzung zur bakteriellen Sepsis fast unmöglich macht (Sobel und Vazquez, 2003, Eggimann et al., 2003).

In der Diagnostik invasiver Candida Infektionen stellen Blutkulturen einen Goldstandard dar (Gill et al., 2019). Jedoch ist die diagnostische Performance aufgrund einer langen Inkubationszeit von zwei bis drei Tagen bis zur Positivität und einer Sensitivität von nur 50 % im klinischen Alltag nicht zufriedenstellend (Clancy et al., 2013, Pappas et al., 2016). Falsch negative Ergebnisse sind angesichts einer daraus resultierenden verspäteten Initiierung antimykotischer Therapien als relevant zu bewerten und können durch eine zu geringe Candidakonzentration im Blut oder durch die Abwesenheit zirkulierender Candida Hefen bei disseminierten Infektionen begründet sein (Clancy et al., 2013).

Ein weiterer Goldstandard ist die Kultivierung und histopathologische Aufarbeitung von Gewebebiopsien, was aufgrund des invasiven Charakters der Materialgewinnung bei Intensivpatienten häufig nicht durchführbar ist (White et al., 2020, Clancy et al., 2013). Die Konsequenz ist ein regelmäßiger empirischer Einsatz von Antimykotika, welcher nicht nur mit dem Risiko unerwünschter Arzneimittelwirkungen, sondern auch mit der Förderung von Resistenzen einhergeht (Hof et al., 2008, Léon et al., 2009).

Um die frühe Anwendung von Antimykotika auf Hochrisikopatienten zu beschränken, wurden prädiktive Modelle entwickelt, welche basierend auf klinische und laborchemische Parameter das individuelle Risiko für eine IC beschreiben (Léon et al., 2009). So wurde eine multifokale Kolonisation, dargestellt durch den sogenannten Candida Colonisation Index (Zahl der mit *Candida spp.* kolonisierten Körperstellen/Gesamtzahl aller kultivierten Proben) >0.5 , als unabhängiger Risikofaktor einer IC ausgemacht (Pittet et al., 1994). Um eine bessere Differenzierung einer Candida-Kolonisation von einer IC zu erzielen, wurde der Candida Score entwickelt, welcher neben der multifokalen Kolonisation auch operative Eingriffe, eine schwere Sepsis sowie eine parenterale Ernährung zur Erfassung einer IC bei Intensivpatienten heranzieht (Léon et al., 2006). Jedoch stellt ein niedriger positiv prädiktiver Wert (PPV) angesichts einer daraus resultierenden Übertherapie eine entscheidende Limitation dieser Modelle dar (Martínez-Jiménez, 2015).

Verglichen mit dem Candida Score und dem Candida Colonization Index, zeigte der Beta-D-Glucan Test (BDG-Test) als nicht-kulturelles Diagnostikverfahren, eine bessere Vorhersagekraft invasiver Candida-Infektionen, weshalb er in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus der Aufmerksamkeit gerückt ist (Posteraro et al., 2011). Beta-D-Glucan ist ein Zellwandbestandteil von zahlreichen Pilzen, unter anderem auch von Candida, und kann im Blutserum bei Vorliegen von Pilzinfektionen detektiert werden (Mennink-Kersten und Verweij, 2006). Angesichts der im Vergleich zu Blutkulturen kürzeren Turnaround-Time, stellt die BDG-Detektion ein schnelles diagnostisches Instrument dar (Gill et al., 2019). Eine einmalige BDG-Bestimmung hat eine je nach Studie stark schwankende Sensitivität von 27 % bis 100 % und Spezifität von 0 % bis 100 % (cut-off=80 pg/ml, Fungitell Assay), wodurch der genaue Stellenwert von BDG in der Diagnostik von invasiven Candida Infektionen nach wie vor unklar ist (White et al., 2020, Ostrosky-Zeichner et al., 2005, Posteraro et al., 2011). Dementsprechend ist eine routinemäßige Bestimmung von BDG, trotz seines zunehmenden Stellenwerts in der Diagnostik invasiver Pilzinfektionen, im klinischen Alltag noch nicht etabliert (Donnelly et al., 2020).

Viele Studien beschreiben für den BDG-Test hohe negativ prädiktive Werte von bis zu 99 %, wodurch der BDG als ein geeignetes Diagnostikum zum Ausschluss einer IC, und damit assoziierter Vermeidung beziehungsweise Verkürzung unnötiger empirischer Therapien, angesehen wird (Posteraro et al., 2011, Martínez-Jiménez et al., 2015, Carolis et al., 2020). Eine weitere Verbesserung der Entscheidungsgrundlage ist eventuell durch die Anwendung konsekutiver BDG-Tests möglich, welche eine IC mit größerer Sicherheit erkennen beziehungsweise ausschließen könnten (Lamoth et al., 2021, Nucci et al., 2016). Die Kombination serieller BDG-Messungen mit klinischen Risikofaktoren im Rahmen prädiktiver Modelle, stellt einen vielversprechenden Ansatz für die Diagnostik einer IC dar, welcher im Rahmen prospektiver Studien zu untersuchen ist (Léon et al., 2009, White et al., 2020).

Unsere Studie beabsichtigt die Testgenauigkeit einzelner sowie serieller BDG-Messungen für die Diagnose einer IC zu bestimmen, sowie den prädiktiven Mehrwert von BDG-Testungen gegenüber bereits etablierten klinischen

Risikofaktoren mittels eines Regressionsmodells zu erfassen. Die Anwendung der BDG-Testungen erfolgte im Rahmen einer prospektiven Kohortenstudie in einem intensivstationären Kontext.

3. Methoden

3.1. Studiendesign und Patienten

Das eingeschlossene Studienkollektiv umfasst Patienten, die vom 1. Juni 2020 bis 30. Juni 2021 in der Klinik für Intensivmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) behandelt wurden.

Im Behandlungsverlauf erfolgten mehrfache, von Ärzten der Intensivmedizin durchgeführte Blutentnahmen zur Bestimmung der BDG- Werte im Serum. Hierbei folgte auf jede empirische Therapie mit Echinocandinen, welche am UKE in der Behandlung von IC das Antiinfektivum der ersten Wahl sind, die Durchführung eines festen Studienalgorithmus, welcher wiederholte BDG-Messungen an Tag 0, 1-2, 3-5 und 7-10 vorsieht. Die informationstechnischen Voraussetzungen dafür wurden in Form eines Anforderungsplanes im klinikinternen Patientendatenmanagementsystems „Integrated Care Manager“ („ICM“) geschaffen. Eingeschlossen wurde jeder Patient, für den neben einer empirischen Echinocandintherapie mindestens eine BDG-Testung innerhalb von 24 h nach Therapiebeginn durchgeführt wurde.

Ergebnisse der BDG-Messungen wurde den Ärzten ohne weitere Handlungsempfehlungen übermittelt.

Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt (Aktenzeichen WF-19/20). Die Patientendaten wurden anonym gesammelt.

3.2. Definitionen

Die dieser Studie zugrunde liegende Definition einer IC orientiert sich an der Klassifikation der EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer), welche gesicherte, wahrscheinliche und mögliche invasive Pilzinfektionen unterscheidet.

Der für diese Studie relevante Begriff einer „gesicherten IC“ ist demnach definiert als der Nachweis von *Candida species* in einer Blutkultur und/oder in sterilen Körperstellen mittels steriler Verfahren (inklusive <24 h gelegter Drainage), bei gleichzeitigem Vorliegen von klinischen Anzeichen einer Infektion.

Diese Definition gilt für immunkompetente als auch immunschwache Patienten gleichermaßen (Donnelly et al., 2020).

Um das Risiko einer Fehlklassifikation durch kontaminierte Blutkulturen zu minimieren, erfolgte im Rahmen unserer Studie eine Anpassung dieser Kriterien mit Zuweisung des Begriffs „gesicherte IC“ bei Vorliegen von mindestens zwei positiven Blutkulturen.

Bei einer positiven Blutkultur oder bei Isolation von *Candida species* von Wunden, abdominalen Drainagen, Aszites- und Pleurapunktaten und gleichzeitigem Vorliegen klinischer Infektionszeichen (Leukozytose >12,000 Zellen/mm³, Hypothermie <35.8°C, Fieber >38.5°C und Hypotension mit mittleren arteriellen Druck < 65mmHg) wurden die Patienten von zwei erfahrenen Klinikern evaluiert und anschließend anhand klinischer und mikrobiologischer Daten den Gruppen „gesicherte IC“ oder „nicht-gesicherte IC“ zugeordnet.

3.3. Mikrobiologische Analyse

Die BDG-Bestimmung erfolgte mit dem Testansatz von „Fujifilm Wako Chemicals Europe GmbH“ am UKE, im Institut für Mikrobiologie, Virologie und Hygiene. Dieser basiert auf ein Limulus Amöbozyten Lysat, welches bei Zugabe der vorbehandelten Serumproben eine BDG-vermittelte Aktivierung der Limulus-Gerinnungskaskade erfährt. Dies führt zu einer Trübung des Ansatzes, welche über eine Transmissionsänderung detektiert wird. Die Zeit, bis ein gewisser Schwellengrad an Trübung erreicht wird, wird als Zeit bis zur Gelierung („Time to gelation“) bezeichnet und dient der BDG-Bestimmung über eine Standardkurve. Diese kinetisch-turbidimetrischen Messung wird automatisiert im MT-6500 Toxinometer bei 37 Grad Celsius innerhalb von maximal 90 Minuten durchgeführt (Fujifilm Wako Chemicals Europe GmbH, o.D., Fujifilm Wako Chemicals Europe GmbH, 2022). Bei BDG-Werten über 600 pg/mL wurden die Serumproben verdünnt und erneut getestet.

Blutkulturflaschen (Bactec Plus aerobic/anaerobic; BD, Heidelberg, Germany) wurden bei 37 Grad Celcius im BD Bactec Fx Instrument (BD, Heidelberg, Germany) für maximal fünf Tage inkubiert. Positive Kulturen wurden auf selektiven Nährmedien inklusive dem zur Isolierung von Pilzen geeigneten Sabouraud Agar ausgestrichen und mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie die exakte Hefenspezies bestimmt.

3.4. Datensammlung

Es erfolgte eine demografische, klinische und mikrobiologische Datenerhebung über die elektronische Patientenakte Soarian®, dem „Integrated Care Manager“ („ICM“) der Intensivmedizin, sowie dem Laborinformationssystem „SWISSLAB“.

Klinische Risikofaktoren für eine IC wurden erfasst, darunter eine parenterale Ernährung, Immunsuppression, Transplantation, Antibiotikatherapien, eine maligne Erkrankung, zentralvenöse Katheter, die Länge des intensivstationären Aufenthalts, intestinale Perforation und Dialyse (Poissy et al., 2020, Keighley et al., 2021). Zudem erfolgte die Erfassung laborchemischer und klinischer Merkmale der Patienten, inklusive Alter, Geschlecht, Leukozyten, C-reaktives Protein (CRP), Procalcitonin, Laktat, Temperatur, Herzfrequenz und Atemfrequenz. Auch erfolgte eine Erhebung des „Sepsis-related organ failure assessment score’s“ (SOFA-Score), welcher das Ausmaß respiratorischer, kardiovaskulärer, zentralnervöser, renaler, hepatischer und koagulatorischer Dysfunktionen erfasst und somit eine Aussage bezüglich der Morbidität kritisch kranker Patienten treffen kann (Vincent et al., 1996, Lambden et al., 2019). Die Berechnung des Scores erfolgte auf Grundlage von Daten, die am ersten Tag der Echinocandintherapie erhoben wurden. Auch wurden mögliche Gründe für falsch positive BDG-Ergebnisse erfasst, dazu gehören Hämodialysen mit Zellulosemembranen, Immunglobulintherapien, antimikrobielle Therapien und Bakteriämien (De Carolis et al., 2020).

Der Candida Colonisation Index (Zahl der mit *Candida spp.* kolonisierten Körperstellen/Gesamtzahl aller kultivierten Proben) wurde auf Grundlage von Proben, die 10 Tage vor und bis zu 90 Tage nach der Echinocandintherapie gewonnen wurden, bestimmt (Pittet et al., 1994).

Zur Erfassung von Candidämien wurde ein Monitoring der Patienten mittels Blutkulturen vor, während und bis zu zwei Wochen nach der Echinocandintherapie (außer bei vorzeitiger Entlassung oder Tod) durchgeführt. Die Mortalitätsrate wurde auf Grundlage eines 30-tägigen follow-up's bestimmt.

3.5. Statistik

Die statistische Analyse wurde mit „R“ Version 4.4.1 durchgeführt.

Die Darstellung der erhobenen Variablen erfolgte bei kontinuierlichen, normalverteilten Variablen als Mittelwerte und Standardabweichungen sowie bei kontinuierlichen, nicht normalverteilten Variablen als Median unter Angabe der Interquartilsabstände und bei kategorialen Variablen als Nummern beziehungsweise Prozentangaben.

Zum Vergleich der Gruppen „gesicherte IC“ und „keine gesicherte IC“ erfolgte unter Berücksichtigung von Skalenniveau und Verteilung der Zielvariablen die Durchführung geeigneter statistischer Tests. Für kategoriale Variablen wurde ein Chi-Quadrat oder Fisher-Test und für kontinuierliche Zielvariablen ein Student T-Tests (normalverteilt) oder ein Mann-Whitney-U-Test (nicht normalverteilt) verwendet. Als Signifikanzniveau wurde $\alpha=0,05$ festgelegt.

Die Güte der BDG-Testungen wurde durch Angabe von Sensitivität, Spezifität, positiv prädiktiven Wert (PPV) und negativ prädiktiven Wert (NPV) für unterschiedliche Anzahl an Testungen (1, 2, 3) und Modelle (mindestens ein Test ist positiv versus alle Tests sind positiv) bestimmt. Neben dem vom Hersteller empfohlenen cut-off von 7 pg /mL, erfolgte bei der Auswertung auch die Anwendung der Grenzwerte 3, 20, 50, 100, 150 und 200 pg/ml.

Um zu erfassen, welchen prognostischen Wert BDG-Messungen gegenüber den etablierten klinischen Risikofaktoren haben, wurde ein logistisches Regressionsmodell mit den Risikofaktoren Alter, Geschlecht, Candida Colonisation Index, parenterale Ernährung, Carbapenemtherapie, Dialyse, Operation, SOFA-Score, intestinale Perforation und Immunsuppression erstellt (Poissy et al., 2020, Keighley et al., 2021). Der Einfluss von BDG-Testungen auf die Prädiktion wurde durch dessen Integration in die Regression statistisch ermittelt. Genauere Informationen können dem Originalartikel sowie dem Supplement Table S3 entnommen werden.

4. Ergebnisse

4.1. Klinische Charakteristika

Im Studienzeitraum erhielten 239 Intensivpatienten eine Echinocandintherapie aufgrund einer vermuteten IC. Bei 174 dieser Patienten wurde mindestens eine BDG-Bestimmung durchgeführt und somit die Kriterien für den Studieneinschluss erfüllt.

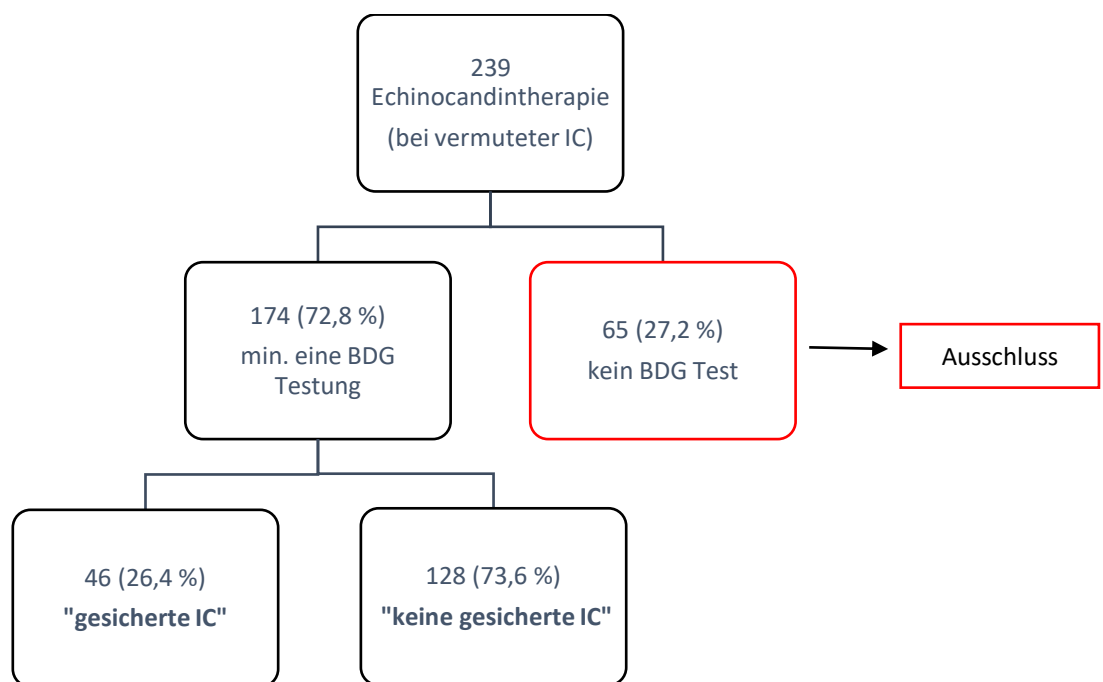


Abbildung 1: Anzahl der ein- und ausgeschlossenen Patienten sowie Unterteilung der Studienpopulation in „gesicherte IC“ und „keine gesicherte IC“.

Das eingeschlossene Studienkollektiv setzt sich überwiegend aus Männern (130/174, 75,7 %) zusammen, wobei das mediane Alter des Gesamtkollektivs bei 63 Jahren liegt (Interquartilsabstand 50 - 71). Die bei gesicherter IC am häufigsten aus einer Blutkultur isolierte Spezies ist *Candida albicans* (22/35, 62,9 %). Die Patienten mit und ohne IC zeigen in den meisten Variablen keine signifikanten Unterschiede auf. Lediglich der SOFA-Score ist bei den Patienten ohne gesicherte IC höher (11 vs. 9, p-Wert = 0,014), bei signifikant häufigerer „Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2“ (SARS-CoV-2) - Infektion (28,1 %

versus 4,3 %, p-Wert = 0.002) und gleichzeitig signifikant höherer 30-Tages-Mortalität (39,8 % vs. 21,7 %, p-Wert=0.023).

4.2. Ergebnisse der BDG-Messungen

Insgesamt erhielten 174 der eingeschlossenen Patienten mindestens eine BDG-Testung, 148 mindestens zwei und 120 Patienten mindestens drei. Hierbei zeigte sich bei Patienten mit gesicherter IC, verglichen mit Patienten ohne gesicherte IC, stets ein höherer medianer BDG-Wert. Unter den Patienten mit gesicherter Candidiasis sind zudem steigende mediane BDG-Werte bei wiederholter Testung auszumachen (18,5 pg/mL beim ersten BDG-Test vs. 29,7 pg/mL beim dritten Test). Unter den Patienten ohne gesicherte IC steigen die Messwerte bei wiederholter Testung geringfügig an (8,6 pg/mL beim ersten BDG-Test versus 11,8 pg/mL beim dritten Test).

Die wiederholte BDG-Bestimmung führt überwiegend zu gleichsinnig positiv oder negativem BDG-Testergebnis, wenn der vom Hersteller angegebene Grenzwert zugrunde gelegt wird. Ein Patient unter dem Kollektiv der gesicherten IC wurde nach initial positivem BDG-Test im Verlauf wiederholt negativ getestet. Dasselbe wird auch für vier weitere Patienten ohne gesicherte IC berichtet. Umgekehrt sind innerhalb des Patientenkollektivs ohne gesicherte IC initial 22 BDG-Testungen negativ und werden bei weiterer Testung durch mindestens einen positiven BDG-Wert abgelöst. Dies wurde in der Gruppe der gesicherten IC nicht beobachtet.

4.3. Diagnostische Genauigkeit der BDG-Messungen

Wird der vom Hersteller angegebene Grenzwert von 7 pg/mL den BDG-Testungen zugrunde gelegt, so weist ein einziger BDG-Test eine Sensitivität von 74 % und eine Spezifität von 45 % auf. Der NPV liegt entsprechend bei 83 %. Zwei positive BDG-Testungen weichen mit einer Sensitivität von 72 % und einer Spezifität von 50 % nur geringfügig davon ab. Ähnlich zeigen sich auch drei positive Testungen mit einer Sensitivität von 70 % und einer Spezifität von 51 %. Der NPV liegt bei drei konsekutiv positiven Tests ebenfalls kaum verändert bei 83 %.

Durch eine Anpassung der Grenzwerte kann eine deutliche Verbesserung der Spezifität und Sensitivität der BDG-Testung erzielt werden. Wird beispielsweise

der Grenzwert auf 3 pg/mL herabgesetzt, so zeigt sich bereits bei einem positiven Test eine Sensitivität von 87 % und bei zwei positiven Tests eine Sensitivität von 92 %. Dies geht jedoch stark zulasten der Spezifität, welche sowohl bei einmalig als auch bei zweimalig positiver Testung bei 27 % liegt. Umgekehrt zeigt sich bei hohen Grenzwerten wie 100 pg/mL bereits bei einmalig positiver Testung eine Spezifität von 95 %, welche bei drei positiven Tests auf 99 % steigt. Dies wiederum geht stark auf die Kosten der Sensitivität, welche auf 17 bis 18 % sinkt. Angesichts der stark divergierenden Sensitivität und Spezifität lässt sich eine hohe diagnostische Genauigkeit lediglich durch das Festlegen eines oberen und unteren Grenzwerts erzielen. Demnach wird bei Werten unter 3 pg/mL der BDG-Test als negativ und ab 100 pg/mL als positiv bewertet. Werte zwischen 3 pg/mL und 100 pg/mL erlauben entsprechend keine akkurate diagnostische Aussage.

Tabelle 1: Güte der BDG-Testungen

Grenzwert [pg/mL]	Anzahl positiver BDG-Tests	Sensitivität (95% CI) [%]	Spezifität (95% CI) [%]	PPV (95% CI) [%]	NPV (95% CI) [%]
3	1	87 (74-95)	27 (19-35)	30 (22-38)	85 (70-94)
	2	90 (76-97)	27 (19-36)	30 (22-40)	88 (72-97)
	3	91 (76-98)	25 (17-36)	32 (22-42)	88 (69-97)
7	1	74 (59-86)	45 (36-54)	33 (24-43)	83 (72-91)
	2	72 (55-85)	50 (40-59)	34 (24-45)	83 (72-91)
	3	70 (51-84)	51 (40-61)	35 (24-48)	81 (69-91)
100	1	17 (8-31)	95 (90-98)	57 (29-82)	76 (69-83)
	2	18 (8-34)	97 (92-99)	70 (35-93)	77 (69-84)
	3	18 (7-35)	99 (94-100)	86 (42-100)	76 (67-84)

4.4. Additiver Stellenwert der BDG-Messungen

Zunächst wurde ein logistisches Regressionsmodell mit den für eine IC etablierten Risikofaktoren entwickelt (Alter, Geschlecht, Candida Colonisation Index, parenterale Ernährung, Carbapenemtherapie, Dialyse, Operation, SOFA-Score, intestinale Perforation, hämatologische Malignität). Um den Mehrwert von BDG-Messungen gegenüber diesen Risikofaktoren zu erfassen, wurden verschiedene BDG-Teststrategien mit jeweils unterschiedlichen Grenzwerten in das logistische Modell integriert und ihr Einfluss auf die Vorhersage einer IC erfasst. Insgesamt konnte durch die Integration der BDG-Messungen eine Verbesserung der Vorhersagekraft des Modells erzielt werden (likelihood ratio $\chi^2 = 22.1$, d. f. = 1, $P < 0.001$). Dies zeigte sich aber lediglich bei Anwendung hoher Grenzwerte, wohingegen die Anwendung niedriger Grenzwerte, wie es sonst für die BDG-Messungen üblich ist, keinen zusätzlichen prädiktiven Wert gegenüber den etablierten Risikofaktoren hat. Auch das mehrfache Messen von BDG-Werten verbessert die Prädiktion des Modells nur geringfügig.

Detailliertere Information können dem Supplement Tabelle S3 sowie Figure 1 und 2 des Originalartikels entnommen werden.

5. Diskussion

Invasive Candidiasis geht bei Intensivpatienten mit einer hohen Letalität einher, sodass eine frühzeitige antimykotische Therapie prognostisch essenziell ist (Jones und McLintock, 2003). Grundlage hierfür ist das frühzeitige Erkennen einer IC, was wiederum geeignete diagnostische Verfahren voraussetzt. Jedoch gestaltet sich die Abklärung einer IC angesichts der geringen Sensitivität sowie des zeitlichen Aufwands von Blutkulturen schwierig. Aufgrund dieser diagnostischen Unsicherheit und zur Vermeidung jeglicher Therapieverzögerungen, werden antimykotische Therapien häufig empirisch begonnen und auf Intensivstationen im Mittel zehn Tage verabreicht (Martínez-Jiménez, 2015, Pickering et al., 2005). Dies hingegen geht mit neuen Herausforderungen hinsichtlich des Umgangs mit Nebenwirkung und Resistenzen einher (Hof 2008, Léon et al., 2009). Nicht-kulturelle Tests wie die BDG-Bestimmung könnten hierbei unterstützend bei der Abklärung einer IC herangezogen werden.

Ziel dieser Studie war es, die diagnostische Genauigkeit als auch den prädiktiven Stellenwert einmaliger sowie wiederholter BDG-Testungen bei Intensivpatienten unter Anwendung mehrerer Grenzwerte zu erforschen. Zwar zeigte sich, dass BDG-Testungen, insbesondere bei hohen Messwerten, die Prädiktion einer IC verbessern, jedoch gilt dies angesichts der eingeschränkten diagnostischen Genauigkeit einzelner und serieller BDG-Messungen unter Vorbehalt. Für eine verbesserte diagnostische Genauigkeit muss der vom Hersteller angegebene Grenzwert angepasst werden.

Geht es zunächst einmal darum, mittels BDG eine IC auszuschließen und somit unnötige empirische Therapien zu vermeiden oder frühzeitig zu beenden, muss der NPV näher betrachtet werden. Martinez-Jiménez et al. und Nucci et al. beschreiben negativ prädiktive Werte von über 90 % bei einmaliger BDG-Testung und befürworten daher den Einsatz von BDG-Messungen zum Ausschluss einer IC (Odabasi et al., 2004, Pickering et al., 2005, Martínez-Jiménez, 2015, Nucci et al., 2016). Andere Studien stellen dies hingegen infrage. So zeigten in einer Studie von Agnelli et al. 17,6 % (26/148) der Patienten mit nachgewiesener Candidämie bei wiederholter BDG-Testung persistierend negative BDG-Werte (Agnelli et al., 2020). In einer anderen Studie wurde basierend auf einem negativen BDG-Wert fälschlicherweise von einer antimykotischen Therapie bei

einem Patienten mit intraabdomineller Candidiasis abgesehen (Kritikos et al., 2020). Auch die in unserer Studie berichteten negativ prädiktiven Werte liegen bei Anwendung verschiedener Grenzwerte und auch bei wiederholt positiver Testung stets unter 90 % und sind somit unzureichend, um in einem vulnerablen Kollektiv als alleinige Grundlage zum Beenden empirischer Therapien herangezogen zu werden. Gründe für falsch negative BDG-Messungen sind nicht einheitlich beschrieben, jedoch könnten persistierend negative Ergebnisse auf eine sehr geringe Candidamenge im Blut hinweisen und somit prognostisch günstig sein (Agnelli et al., 2020, Del Bono et al., 2011).

Aufgrund des über viele Studien hinweg kontinuierlich niedrigen positiv prädiktiven Werts in Höhe von 20 bis 60 % wird ein positiver BDG-Wert zur Initiierung einer antimykotischen Therapie als unangemessen befundet und sollte sich lediglich auf Hochrisikopatienten (komplizierte abdominelle Eingriffe, nekrotisierende Pankreatitis, etc.) beschränken (Lamoth et al., 2021). Bei Anwendung des vom Hersteller empfohlenen Grenzwerts, konnten wir damit vereinbare positiv prädiktive Werte von 33 % bei einmaliger Testung erzielen. Drei positive Testungen führen nur zu einem geringfügigen Anstieg des PPV auf 35 %. Ähnlich verhält es sich auch mit der Sensitivität, welche bei Anwendung des vom Hersteller angegebenen Grenzwerts sehr niedrig ist und selbst bei dreifach konsekutiv positiver Testung nicht zufriedenstellend ist. Lediglich die Anpassung der Grenzwerte mit Festlegung eines unteren (3 pg/mL) und oberen (100 pg/mL) Grenzwerts verbessert die diagnostische Testgenauigkeit. Jedoch werden dadurch die meisten Patienten, so wie auch in dieser Studie, weder BDG positiv noch negativ eingestuft, wodurch sich mehr Unsicherheiten bezüglich des Umgangs mit Testergebnissen ergeben. Generell gibt es abgesehen von der Herstellerempfehlung für den Fujifilm Wako BDG-Test aufgrund unzureichender Studienlage bisher keine klaren Empfehlungen hinsichtlich geeigneter Grenzwerte, weshalb weitere Studien abzuwarten sind (Lamoth et al., 2021).

Internationale Leitlinien empfehlen eine empirische antimykotische Behandlung von Intensivpatienten bei Vorliegen von klinischen Risikofaktoren, die für eine IC prädisponieren (Evans et al., 2021, Martin-Loeches et al., 2019). Unser Regressionsmodell suggeriert, dass die zusätzliche Berücksichtigung von BDG-

Ergebnissen die Prädiktion einer IC und somit den selektiveren Einsatz antimykotischer Therapien fördern kann. Dieser Befund beschränkt sich jedoch auf sehr hohe BDG-Messwerte von >150 pg/mL, wohingegen der prädiktive Stellenwert bei BDG-Messwerten <150 pg/mL minimal ist. Da aber 90 % der Patienten dieser Studie Werte von <150 pg/mL vorweisen, bleibt der praktische Nutzen der BDG-Messungen, zumindest für das beschriebene Studienkollektiv, stark eingeschränkt. Auch das wiederholte Messen von BDG-Werten zeigt im Regressionsmodell nur einen geringen Mehrwert gegenüber einer einmaligen Testung, was den damit assoziierten Kostenaufwand und zeitlichen Verzug bei der Initiierung antimykotischer Therapien bei vulnerablen Patienten nicht rechtfertigt.

Auch wenn sich in unserer Studie für hohe BDG-Werte ein prädiktiver Mehrwert in der Diagnostik einer IC ableiten lässt, stellt sich die Frage, inwiefern dies klinische Signifikanz im Sinne einer Verbesserung des Patientenoutcomes hat.

Eine randomisiert kontrollierte Studie hat sich mit dieser Frage beschäftigt und eine BDG geleitete Initiation antimykotischer Therapien bei septischen Patienten mit klinischen Risikofaktoren für eine IC auf deutschen Intensivstationen untersucht (Bloos et al., 2022). Dabei kam es durch die Anwendung von BDG-Tests zwar zu früherer und auch mehr als zweifach häufigeren Anwendung antimykotischer Therapien, jedoch hatte dies keinerlei Einfluss auf die 28-Tages-Mortalität der Patienten (Bloos et al., 2022). Da in dieser Studie die Höhe der BDG-Werte in den Therapiealgorithmus keine Berücksichtigung findet, bleibt fraglich, ob die von unseren Studienergebnissen nahegelegte Selektion von Patienten mit hohen BDG-Messwerten möglicherweise einen Überlebensvorteil aufzeigen kann.

Limitationen unserer Studie bestehen hinsichtlich des monozentrischen Studiendesigns und der geringen Größe der Studienpopulation. Ferner wurde der BDG-Wert nicht bei allen Patienten wiederholt gemessen, was die Anzahl, der in der statistischen Analyse einfließenden Testergebnisse, zusätzlich reduziert. Des Weiteren basiert die Definition einer IC in der Studie überwiegend auf dem Nachweis von *Candida species* in Blutkulturen. Da Blutkulturen jedoch lediglich eine Sensitivität von 50 % aufzeigen, ist unklar, wie viele Fehlklassifikationen dadurch vorliegen und welchen Einfluss dies auf die diagnostische Güte des BDG-Tests hat (Carolus et al., 2020, Dichtl et al., 2019).

Insgesamt zeigen die Studienergebnisse, dass einmalige BDG-Messungen nicht geeignet sind, um eine IC zu bestätigen oder auszuschließen. Auch wenn das wiederholte Testen eine leichte Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft erzielt, ist es angesichts einer ungünstigen Kosten-Nutzen Abwägung nicht zu rechtfertigen. Betrachtet man den Mehrwert, den BDG-Testungen gegenüber bereits etablierten klinischen Risikofaktoren bieten können, so beschränkt sich dieser lediglich auf hohe BDG-Werte, wie sie nur die wenigsten Patienten aufzeigen. Nichtsdestotrotz könnte dies ein Hinweis auf einen relevanten Nutzen der BDG-Testung in einem hochselektiven Patientenkollektiv hinweisen, in welchem solch hohen BDG-Werte häufiger gemessen werden. Folglich gilt es dieses Patientenkollektiv im Rahmen weiterer Studien genauer zu charakterisieren.

6. Zusammenfassung

Candida Infektionen sind eine relevante Ursache von Morbidität und Mortalität auf Intensivstationen, weshalb sie frühzeitig erkannt und therapiert werden müssen. Kulturelle Nachweise von Candida species sind als diagnostischer Goldstandard etabliert, weisen jedoch eine unzureichende Sensitivität auf. Nicht-kulturelle Testverfahren, welche dem Nachweis des Pilzantigens Beta-D-Glucan (BDG) dienen, gewinnen bei der Diagnostik invasiver Candida Infektionen zunehmend an Bedeutung. Ziel dieser prospektiven Kohortensstudie war es, den additiven Stellenwert von BDG-Messungen bei der Diagnose invasiver Candida Infektionen auf Intensivstationen zu ermitteln. Patienten, welche bei Verdacht auf eine invasive Candidiasis (IC) empirisch mit Echinocandinen therapiert wurden, erhielten laut Protokoll wiederholte BDG-Bestimmungen. Im Anschluss wurde die diagnostische Güte einmaliger und wiederholter BDG-Bestimmungen unter Anwendung unterschiedlicher Grenzwerte bestimmt, sowie ein Regressionsmodell entwickelt, welches den additiven Stellenwert der BDG-Messungen gegenüber bereits etablierten Risikofaktoren einer IC erfasst. Unsere Ergebnisse zeigen, dass einmalige BDG-Testungen keinen sicheren Nachweis oder Ausschluss einer IC erlauben. Wiederholte Testungen haben einen geringen Mehrwert, welcher angesichts einer ungünstigen Kosten-Nutzen Abwägung nicht zu rechtfertigen ist. Für hohe BDG-Werte konnte ein Gewinn an diagnostischer Sicherheit gegenüber bereits etablierten klinischen Risikofaktoren bestimmt werden, welcher jedoch nur in einem sehr selektiven, in weiteren Studien weiter zu charakterisierenden, Patientenkollektiv nachzuweisen ist.

Candida infections are a relevant cause of morbidity and mortality in intensive care units, which is why they must be detected and treated early. Cultural detection of Candida species has been established as the diagnostic gold standard but has insufficient sensitivity. Non-cultural assays, which detect the fungal antigen beta-D-glucan (BDG), are becoming increasingly important in the diagnosis of invasive Candida infections. The aim of this prospective cohort study was to determine the additive value of BDG measurements in the diagnosis of invasive Candida infections in intensive care units. Patients receiving empirical echinocandin treatment for suspected invasive candidiasis (IC) were repeatedly tested for BDG. The diagnostic performance of single and repeated BDG testing was determined using different cut-off values. Furthermore, a regression model was developed to assess the predictive value of BDG tests against already established risk factors of IC. Our results show that single BDG testing does not allow reliable detection or exclusion of IC. Repeated testing has little added value, which cannot be justified in view of an unfavorable cost-benefit trade-off. For high BDG values, a gain in diagnostic confidence over already established clinical risk factors could be determined but only in a very selective patient population which needs to be further characterized in future studies.

7. Abkürzungsverzeichnis

BDG Beta-D-Glucan

IC invasive Candidiasis

CI Candida Index

NPV negativ prädiktiver Wert

PPV positiv prädiktiver Wert

UKE Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

SOFA-Score Sepsis-related organ failure assessment score

SARS-CoV-2 Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2

8. Literaturverzeichnis

Agnelli, Caroline; Bouza, Emilio; Del Carmen Martínez-Jiménez, María; Navarro, Raquel; Valerio, Maricela; Machado, Marina et al. (2020): Clinical Relevance and Prognostic Value of Persistently Negative (1,3)- β -D-Glucan in Adults With Candidemia: A 5-year Experience in a Tertiary Hospital. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 70 (9), S. 1925–1932.

Bloos, Frank; Held, Jürgen; Kluge, Stefan; Simon, Philipp; Kogelmann, Klaus; Heer, Geraldine de et al. (2022): (1 \rightarrow 3)- β -d-Glucan-guided antifungal therapy in adults with sepsis: the CandiSep randomized clinical trial. In: *Intensive care medicine* 48 (7), S. 865–875.

Bross, J.; Talbot, G. H.; Maislin, G.; Hurwitz, S.; Strom, B. L. (1989): Risk factors for nosocomial candidemia: a case-control study in adults without leukemia. In: *The American journal of medicine* 87 (6), S. 614–620.

Carolis, Elena de; Marchionni, Federica; Torelli, Riccardo; Angela, Morandotti Grazia; Pagano, Livio; Murri, Rita et al. (2020): Comparative performance evaluation of Wako β -glucan test and Fungitell assay for the diagnosis of invasive fungal diseases. In: *PLoS ONE* 15 (7).

Clancy, Cornelius J.; Nguyen, M. Hong (2013): Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 56 (9), S. 1284–1292.

Del Bono, Valerio; Delfino, Emanuele; Furfaro, Elisa; Mikulska, Malgorzata; Nicco, Elena; Bruzzi, Paolo et al. (2011): Clinical Performance of the (1,3)- β -d-Glucan Assay in Early Diagnosis of Nosocomial Candida Bloodstream Infections ∇ . In: *Clinical and Vaccine Immunology : CVI* 18 (12), S. 2113–2117.

- Dichtl, Karl; Seybold, Ulrich; Wagener, Johannes (2019): Serological biomarkers of candidemia: a retrospective evaluation of three assays. In: *Infection* 47 (2), S. 217–224.
- Donnelly, J. Peter; Chen, Sharon C.; Kauffman, Carol A.; Steinbach, William J.; Baddley, John W.; Verweij, Paul E. et al. (2019): Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 71 (6), S. 1367–1376.
- Eggimann, Philippe; Garbino, Jorge; Pittet, Didier (2003): Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. In: *The Lancet. Infectious diseases* 3 (11), S. 685–702.
- Evans, Laura; Rhodes, Andrew; Alhazzani, Waleed; Antonelli, Massimo; Coopersmith, Craig M.; French, Craig et al. (2021): Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. In: *Intensive care medicine* 47 (11), S. 1181–1247.
- Fujifilm Wako Chemicals Europe GmbH (2022): Beta-Glucan Test. Online verfügbar unter <https://www.wako-chemicals.de/de/produkte/diagnostika/beta-glucan-test/beta-glucan-test>, zuletzt aktualisiert am 17.12.2022, zuletzt geprüft am 17.12.2022.
- Garey, Kevin W.; Rege, Milind; Pai, Manjunath P.; Mingo, Dana E.; Suda, Katie J.; Turpin, Robin S.; Bearden, David T. (2006): Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 43 (1), S. 25–31.
- Gill, Christian M.; Kenney, Rachel M.; Hencken, Laura; Mlynarek, Mark E.; Alangaden, George J.; Samuel, Linoj P.; Davis, Susan L. (2019): T2 *Candida* versus beta-D-glucan to facilitate antifungal discontinuation in the intensive care unit. In: *Diagnostic microbiology and infectious disease* 95 (2), S. 162–165.
- Hockey, L. J.; Fujita, N. K.; Gibson, T. R.; Rotrosen, D.; Montgomerie, J. Z.; Edwards, J. E. (1982): Detection of fungemia obscured by concomitant bacteremia: in vitro and in vivo studies. In: *Journal of clinical microbiology* 16 (6), S. 1080–1085.
- Hof, H. (2008): Will resistance in fungi emerge on a scale similar to that seen in bacteria? In: *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 27 (5), S. 327–334.
- Jones, Brian L.; McLintock, Lorna A. (2003): Impact of diagnostic markers on early antifungal therapy. In: *Current opinion in infectious diseases* 16 (6), S. 521–526.
- Kao, A. S.; Brandt, M. E.; Pruitt, W. R.; Conn, L. A.; Perkins, B. A.; Stephens, D. S. et al. (1999): The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. In: *Clinical infectious diseases : an*

official publication of the Infectious Diseases Society of America 29 (5), S. 1164–1170.

Keighley, Caitlin Livia; Pope, Alun; Marriott, Deborah J. E.; Chapman, Belinda; Bak, Narin; Daveson, Kathryn et al. (2021): Risk factors for candidaemia: A prospective multi-centre case-control study. In: *Mycoses* 64 (3), S. 257–263.

Kritikos, Antonios; Poissy, Julien; Croxatto, Antony; Bochud, Pierre-Yves; Pagani, Jean-Luc; Lamoth, Frederic (2020): Impact of the Beta-Glucan Test on Management of Intensive Care Unit Patients at Risk for Invasive Candidiasis. In: *Journal of clinical microbiology* 58 (6).

Lambden, Simon; Laterre, Pierre Francois; Levy, Mitchell M.; Francois, Bruno (2019): The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. In: *Critical care (London, England)* 23 (1), S. 374.

Lamoth, F.; Akan, H.; Andes, D.; Cruciani, M.; Marchetti, O.; Ostrosky-Zeichner, L. et al. (2021): Assessment of the Role of 1,3- β -d-Glucan Testing for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections in Adults. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 72 (Suppl 2), S102-S108.

León, Cristóbal; Ruiz-Santana, Sergio; Saavedra, Pedro; Almirante, Benito; Nolla-Salas, Juan; Alvarez-Lerma, Francisco et al. (2006): A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. In: *Critical care medicine* 34 (3), S. 730–737.

León, Cristóbal; Ruiz-Santana, Sergio; Saavedra, Pedro; Galván, Beatriz; Blanco, Armando; Castro, Carmen et al. (2009): Usefulness of the "Candida score" for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. In: *Critical care medicine* 37 (5), S. 1624–1633.

Martínez-Jiménez, M. Carmen; Muñoz, Patricia; Valerio, Maricela; Alonso, Roberto; Martos, Carmen; Guinea, Jesús; Bouza, Emilio (2015): Candida biomarkers in patients with candidaemia and bacteraemia. In: *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 70 (8), S. 2354–2361.

Martin-Loeches, Ignacio; Antonelli, Massimo; Cuenca-Estrella, Manuel; Dimopoulos, George; Einav, Sharon; Waele, Jan J. de et al. (2019): ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients. In: *Intensive care medicine* 45 (6), S. 789–805.

Mennink-Kersten, Monique A. S. H.; Verweij, Paul E. (2006): Non-culture-based diagnostics for opportunistic fungi. In: *Infectious disease clinics of North America* 20 (3), 711-27, viii.

Meyer, E.; Geffers, C.; Gastmeier, P.; Schwab, F. (2013): No increase in primary nosocomial candidemia in 682 German intensive care units during 2006 to 2011. In: *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 18 (24).

Nucci, Marcio; Nouér, Simone A.; Esteves, Patricia; Guimarães, Thais; Breda, Giovanni; Miranda, Bianca Grassi de et al. (2016): Discontinuation of empirical

antifungal therapy in ICU patients using 1,3- β -glucan. In: *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 71 (9), S. 2628–2633.

Odabasi, Zekaver; Mattiuzzi, Gloria; Estey, Elihu; Kantarjian, Hagop; Saeki, Fumihiko; Ridge, Richard J. et al. (2004): Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 39 (2), S. 199–205.

Ostrosky-Zeichner, Luis; Alexander, Barbara D.; Kett, Daniel H.; Vazquez, Jose; Pappas, Peter G.; Saeki, Fumihiko et al. (2005): Multicenter clinical evaluation of the (1--3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 41 (5), S. 654–659.

Pappas, Peter G.; Kauffman, Carol A.; Andes, David R.; Clancy, Cornelius J.; Marr, Kieren A.; Ostrosky-Zeichner, Luis et al. (2015): Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 62 (4), e1-e50.

Pfaller, M. A.; Messer, S. A.; Houston, A.; Rangel-Frausto, M. S.; Wiblin, T.; Blumberg, H. M. et al. (1998): National epidemiology of mycoses survey: a multicenter study of strain variation and antifungal susceptibility among isolates of *Candida* species. In: *Diagnostic microbiology and infectious disease* 31 (1), S. 289–296.

Pickering, Jerry W.; Sant, Howard W.; Bowles, Catherine A. P.; Roberts, William L.; Woods, Gail L. (2005): Evaluation of a (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan Assay for Diagnosis of Invasive Fungal Infections. In: *Journal of clinical microbiology* 43 (12), S. 5957–5962.

Pittet, D.; Monod, M.; Suter, P. M.; Frenk, E.; Auckenthaler, R. (1994): *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. In: *Annals of surgery* 220 (6), S. 751–758.

Poissy, Julien; Damonti, Lauro; Bignon, Anne; Khanna, Nina; Kietzell, Matthias von; Boggian, Katia et al. (2020): Risk factors for candidemia: a prospective matched case-control study. In: *Critical care (London, England)* 24.

Posteraro, Brunella; Pascale, Gennaro de; Tumbarello, Mario; Torelli, Riccardo; Pennisi, Mariano Alberto; Bello, Giuseppe et al. (2011): Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan assay, *Candida* score, and colonization index. In: *Critical care (London, England)* 15 (5), R249.

R: The R Project for Statistical Computing (2022). Online verfügbar unter <https://www.r-project.org/>, zuletzt aktualisiert am 12.11.2022, zuletzt geprüft am 17.12.2022.

Sobel, J. D.; Vazquez, J. (2003): Candidiasis in the intensive care unit. In: *Seminars in respiratory and critical care medicine* 24 (1), S. 99–112.

Vincent, J. L.; Moreno, R.; Takala, J.; Willatts, S.; Mendonça, A. de; Bruining, H. et al. (1996): The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. In: *Intensive care medicine* 22 (7), S. 707–710.

Wey, S. B.; Mori, M.; Pfaller, M. A.; Woolson, R. F.; Wenzel, R. P. (1989): Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. In: *Archives of internal medicine* 149 (10), S. 2349–2353.

White, Sandra K.; Schmidt, Robert L.; Walker, Brandon S.; Hanson, Kimberly E. (2020): (1→3)-β-D-glucan testing for the detection of invasive fungal infections in immunocompromised or critically ill people. In: *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020 (7).

9. Erklärung des Eigenanteils

Die dieser Promotionsarbeit zugrunde liegende Studie wurde vom Institut für Mikrobiologie, Virologie und Hygiene in Zusammenarbeit mit der Klinik für Intensivmedizin am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchgeführt.

Die klinische und mikrobiologische Datenerhebung sowie die Anwendung der in den Studienprotokoll festgelegten Einschlusskriterien führte ich prospektiv selbstständig durch. Auch die Erhebung des Follow-ups führte ich selbstständig durch. Zur Vorbereitung des Manuskripts führte ich eine umfassende Literaturrecherche durch. Zusammen mit Dr. Flaminia Olearo war ich an der Entwicklung der ersten Entwürfe des Manuskripts beteiligt.

Flaminia Olearo hat die Studienidee sowie das Studienprotokoll entwickelt. Sie war zusammen mit Martin Christner an der statistischen Auswertung der Daten beteiligt, unterstützt durch Amra Hot aus dem Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie. Dr. Olearo war an dem Schreiben des finalen Manuskripts beteiligt. Prof. Dr. Holger Rohde war an allen Schritten, von der Entwicklung der Projektskizze bis hin zur Umsetzung des finalen Manuskripts beteiligt.

Die Umsetzung und Vertretung des Projekts auf Seiten der Klinik für Intensivmedizin erfolgte durch Prof. Dr. Dominic Wichmann, welcher die hierfür nötigen informationstechnischen und strukturellen Bedingungen in die Wege leitete. Die Entnahme von Blutproben für die serielle BDG-Messungen erfolgte durch die Ärzte der Klinik für Intensivmedizin.

Alle Autoren waren an der kritischen Diskussion des Manuskripts beteiligt.

10. Danksagung

Die Dissertation hätte ohne die umfangreiche Unterstützung zahlreicher Menschen nicht realisiert werden können, weshalb ich mich bei ihnen an dieser Stelle bedanken möchte.

Mein besonderer Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Prof. Dr. Holger Rohde, der mich über mehrere Jahre in allen Schritten begleitet, unterstützt und beraten hat. Ich konnte mich mit allen Belangen jederzeit an ihn wenden, was keinesfalls selbstverständlich ist und ich sehr zu schätzen weiß. Ohne ihn wäre die Umsetzung dieser Arbeit als Publikationspromotion nicht möglich gewesen. Ein sehr großer Dank gilt auch Dr. Flaminia Olearo als Betreuerin meiner Doktorarbeit. Für ihre fortwährende Unterstützung und ihr Vertrauen, mich in ihr Projekt einzubinden, anzuleiten, und mich in meinen ersten Schritten in der Forschung zu begleiten, bin ich ihr sehr dankbar. Ich hätte mir sowohl menschlich als auch fachlich keine bessere Betreuung wünschen können.

Besonders danke ich auch Dr. Martin Christner und Prof. Dr. Wichmann für die Unterstützung und gute Zusammenarbeit. Mein Dank gilt auch dem Team der Klinik für Intensivmedizin für die Entnahme der Blutproben und den Mitarbeitern des Instituts für Mikrobiologie, Virologie und Hygiene für die Durchführung der BDG-Bestimmungen.

Der Dank, den ich gegenüber meiner Familie, allen voran meinen Eltern Mohamed Ali Abdennadher und Souhir Jallouli empfinde, kann ich durch diese Zeilen nicht mal annähernd zum Ausdruck bringen. Ohne ihre unermüdliche Unterstützung und Leitung wäre mir weder das Medizinstudium noch diese Promotion möglich gewesen. Sie haben stets alles getan, um mir und meinen Geschwistern das Beste zu bieten und zu ermöglichen, wofür ich unglaublich dankbar bin.

11. Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: