



T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Solid Organ Nakli Sonrası Gelişen İnvazif Fungal Enfeksiyonlar Toplantısı

Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları, Mikoloji Referans Laboratuvarı

Dr. Nilgün KARABIÇAK

İstanbul

24.02.2018



Mikoloji Referans Laboratuvarı (MRL)

MRL Ekibi

Doç Dr Nilgün KARABIÇAK

Biyolog Nihal ALEM

Biyolog Mehmet GÜNEŞ

Biyolog Ayşegül Uğur ŞIK

Yüzeyel Mikoza
Referans
Laboratuvarı

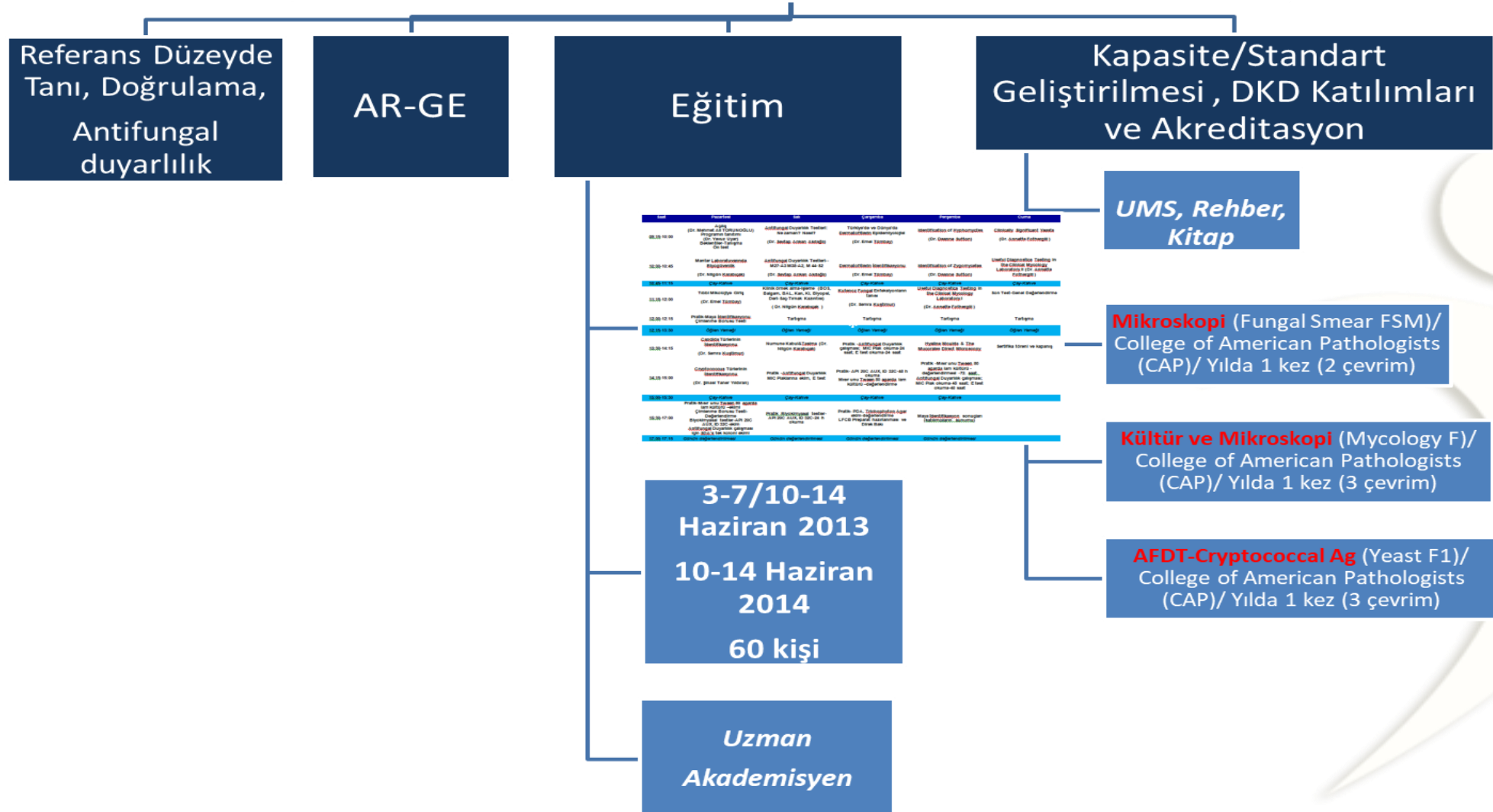
Derin Mikoza
Referans
Laboratuvarı

Antifungal
Duyarlılık
Referans
Laboratuvarı





Tibbi Laboratuvar
TS EN ISO 15189
AB-0024-TL





Mikoloji Referans Laboratuvar Eğitimleri

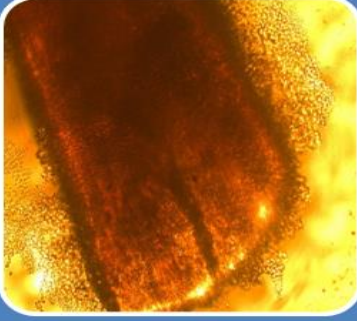
TIBBİ ÖNEMİ OLAN FUNGAL ETKENLERİN TANIMLANMASI UYGULAMALI EĞİTİMİ



Eğitime; Üniversite/Devlet Hastanelerinde Çalışan Prof Dr, Doç Dr ve Mikrobiyoloji Uzmanı olmak üzere toplam **60 kişi** katılmıştır

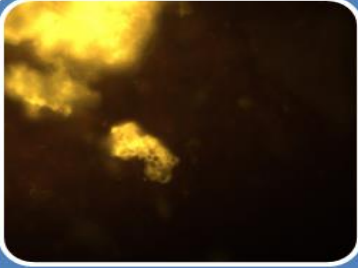


MRL Referans Yöntemlerle Akredite Olunan Tanı, Doğrulama, Antifungal Duyarlılık Testleri



YMRL

- *Trichophyton rubrum*
- *Trichophyton mentagrophytes*
- *Microsporum canis*
- *Fusarium, Scopulariopsis ...*



DMRL

- *Candida spp, Cryptococcus spp, Trichosporon spp*
- *Aspergillus spp*
- *Pneumocystis jirovecii*



ADRL

- Mayalar için Referans: CLSI M27-A3, M27-S4
- Küfler için Referans: CLSI M38-A2



T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

UMÜ İSTATİSTİKLERİ														Güncelleme: 02.12.2016
Birim /Bölüm: MRLDB / UMÜ														
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Toplam	%
A Örnek sayısı	115	77	97	124	93	83	119	128	81	113	117	103	1250	
B Mantar aranması (KOH ile) çalışılan test sayısı	5	5	8	13	4	10	6	4	2	4	7	1	69	
C Dermatofit kültürü test sayısı	5	5	8	13	4	10	6	4	2	4	10	10	81	
D Yüzeysel Kültür İdentifikasyon	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	
E Antifungal duyarlılık (E test) herbiri test sayısı	74	34	44	58	41	34	57	81	52	53	63	41	632	
F Antifungal duyarlılık testi- (Herbiri) test sayısı	74	34	44	58	41	34	57	81	52	53	63	41	632	
G Pneumocystis jiroveci (DFA) test sayısı	18	13	36	37	22	28	30	27	8	22	12	37	290	
H Pneumocystis spp Realtime PCR test sayısı	18	13	36	37	22	28	30	27	8	22	12	37	290	
I Aspergillus Real Time PCR test sayısı	6	9	6	11	21	11	15	8	11	23	20	15	156	
İ Fungus Multiplex PCR test sayısı	6	11	6	9	17	6	11	7	6	8	3	4	94	
J Cryptococcus Neoformans Antijeni test sayısı	0	3	0	2	0	0	0	1	0	1	2	4	13	
K Derin Mikoz Mikroskobi	74	34	44	58	41	34	57	81	52	53	63	41	632	
L Derin Mikoz identifikasyon	74	34	44	58	41	34	57	81	52	53	63	41	632	
M Dış kalite değerlendirme çalışılan test sayısı	5	5	3	0	5	0	0	5	5	3	0	0	31	
N Toplam çalışılan test sayısı (Kalite çalışmaları dahil)	366	206	279	354	259	229	326	407	250	299	318	0	3293	

UMÜ İSTATİSTİKLERİ VE KALİTE GÖSTERGELERİ														Güncelleme: 24.01.2018
Birim /Bölüm: MRLBÜD / UMRL														
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Toplam	
A Örnek sayısı	68	78	89	75	76	77	77	53	74	67	78	118	930	
B Mantar aranması (KOH ile) çalışılan test sayısı	4	6	5	3	6	8	12	10	11	3	5	7	80	
C Dermatofit kültürü test sayısı	4	5	5	3	4	5	9	5	6	5	7	9	46	
D Antifungal duyarlılık (E test) herbiri test sayısı	28	35	48	41	40	33	32	21	24	40	46	73	302	
E Antifungal duyarlılık testi- (Herbiri) test sayısı	28	35	48	41	40	33	32	21	24	40	46	73	461	
E Antifungal duyarlılık testi- (SYO-Herbiri) test sayısı	28	35	48	41	40	33	32	21	24	40	46	73	461	
F Pneumocystis jiroveci (DFA) test sayısı	12	15	16	17	9	9	18	1	5	12	20	22	156	
G Pneumocystis spp Realtime PCR test sayısı	12	15	16	17	8	10	19	8	11	18	22	18	174	
H Aspergillus Real Time PCR test sayısı	16	10	12	11	8	9	18	9	12	8	17	10	140	
I Fungus Multiplex PCR test sayısı	5	4	0	4	0	2	3	3	6	4	5	10	46	
J Cryptococcus Neoformans Antijeni test sayısı	3	3	4	5	5	6	4	4	4	7	8	4	57	
K Derin Mikoz Mikroskobi test sayısı	28	35	48	41	40	33	32	21	24	40	46	73	461	
L Derin Mikoz İdentifikasyon test sayısı	28	35	48	41	40	33	32	21	24	40	46	73	461	
M Yüzeysel Kültür İdentifikasyon	2	1	3	1	3	5	3	2	1	1	2	1	25	
M Dış kalite değerlendirme çalışılan test sayısı	5	5	3	0	5	0	0	5	5	3	0	0	31	
O Toplam çalışılan test sayısı (Kalite çalışmaları dahil)	203	239	304	266	248	219	246	152	181	261	316	564	2228	



Mikoloji Referans Laboratuvarı'nda 2017 Yılında Tanımlanan Kökenler

<i>Order</i>	<i>Genus</i>	<i>Species</i>
<i>Saccharomycetales</i>	<i>Candida</i>	<i>albicans</i>
	<i>Candida</i>	<i>parapsilosis</i>
	<i>Candida</i>	<i>glabrata</i>
	<i>Candida</i>	<i>torpicalis</i>
	<i>Candida</i>	<i>krusei</i>
	<i>Candida</i>	<i>kefyr</i>
	<i>Candida</i>	<i>lusitaniae</i>
	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>
	<i>Candida</i>	<i>lipolytica</i>
	<i>Candida</i>	<i>dubliniensis</i>
	<i>Saprochaete</i>	<i>capitata</i>
<i>Filobasidiales</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>neoformans</i>
<i>Tremellales</i>	<i>Trichosporon</i>	spp



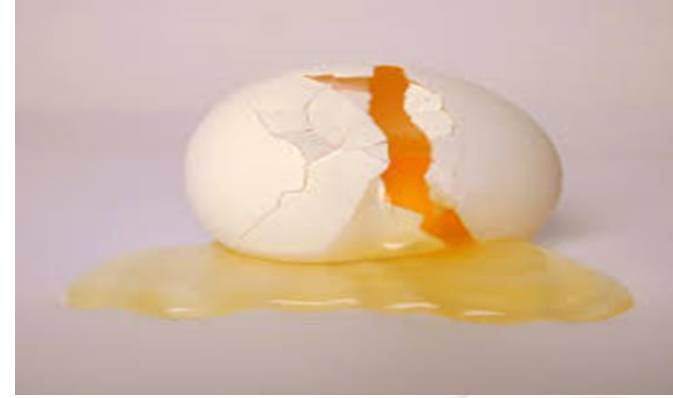
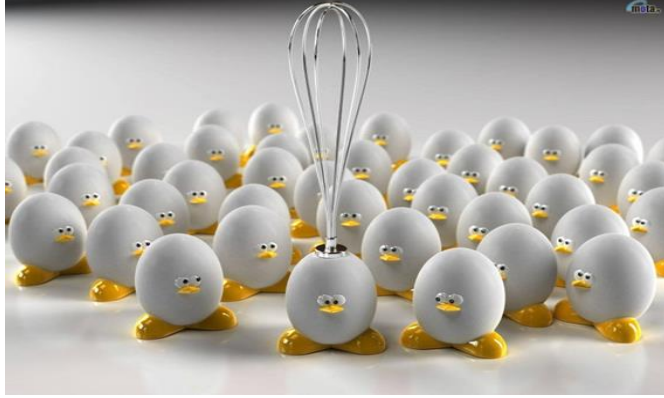
Mikoloji Referans Laboratuvarı'nda 2017 Yılında Tanımlanan Kökenler

<i>Order</i>	<i>Genus</i>
<i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillus</i>
	<i>Section Fumigati</i>
	<i>Section Flavi</i>
	<i>Section Terrei</i>
	<i>Section Nigri</i>
	<i>Section Nidulantes</i>
	<i>Section Clavati</i>
<i>Mucorales</i>	<i>Mucor</i>
	<i>Rhizopus</i>
<i>Hypocreales</i>	<i>Fusarium</i>
	<i>Alternaria</i>
	<i>Curvularia</i>
<i>Chaetothyriales</i>	<i>Fonsecaea</i>
<i>Microascales</i>	<i>Scedosporium</i>
	<i>Scopulariopsis</i>
<i>Helotiales</i>	<i>Scytalidium</i>



Referans Laboratuvar Örnek Kabul Koşulları

Numunenin kalitesi, laboratuvar sonucunu doğrudan etkiler.



” Doğru ve güvenilir laboratuvar tanısı; klinik numunelerin doğru seçilmesiyle başlayan, doğru alınması ve güvenli bir şekilde taşınmasıyla devam eden bir süreçtir.”



Referans Laboratuvar Örnek Kabul Koşulları

I. Keratinize Doku Örnekleri

II. Diğer Klinik Örnekler:

1. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)
2. Steril Vücut Sıvıları (periton, perikard, plevra ve eklem sıvıları)
3. Kemik İliği
4. Solunum Yolu Sekresyonları (Balgam, BAL, TTA)
5. Abse İçeriği, Pü, Aspirasyon Sıvısı
6. Doku biyopsi örneği
7. Vajinal sekresyonlar
8. Kornea kazıntısı
9. İdrar

III. Üremiş plak (İdentifikasyon&Antifungal Duyarlılık)





Referans Laboratuvar Örnek Kabul Koşulları

Örnek nasıl gönderilmeli?

Örnek kapları herhangi bir darbe anında kırılmaması için tercihen plastik olmalıdır.



Sızdırmaları önlemek için burgu kapaklı kaplar tercih edilmelidir.



Kabın dışına bulaş olmamalıdır.

Hasta bilgileri (Adı-Soyadı, Yaşı, Örnek alınma zamanı, Örnek tipi) doğru şekilde etiketlenmelidir.

İstem formları kapların etrafına sarılmamalı, ayrı su geçirmez zarflara yerleştirilmelidir.

Enjektör ile örnek gönderilmemeli, steril bir tüpe aktarılmalıdır.



Örnek kabı üzerinde olması gereken bilgiler

- ✓ Örneğin kimden alındığı
- ✓ Ne zaman alındığı
- ✓ Örnek tipi yazılmalı
- ✓ Tetkik istem formu elektronik ortamda veya yazılı olmalı





T.C. Sağlık Bakanlığı

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü



Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve
Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı

arama...

ARA

Anasayfa | Kurumsal - | Rehberler - | **Analiz İstem Formları** | Numune Alma El Kitabı | Laboratuvarlar - | Duyurular | Sürveysans - |



Laboratuvar Sürveysansları

UAMDSS
Ulusal Antimikrobiyal Direnç
Sürveys Sistemi

UEPLA
Ulusal Enterik Patojen
Laboratuvar Sürveys Ağı

TuLSA
Ulusal Tüberküloz
Laboratuvar Sürveys Ağı

INFLINE
Ulusal Hastane Enfeksiyonları
Sürveysi

Kurumumuzda yapılan çalışmaya KLİMUD'dan ödül

18 - 22 Kasım 2015 tarihleri arasında Titanik Kongre Merkezi Belek-Antalya'da gerçekleştirilen 3. Klinik Mikrobiyoloji Kongresinde Kurumumuz Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığında yapılan "Flukonazole dirençli/duyarlılığı azalmış invazif *Candida albicans* izolatlarında ERG11 gen mutasyonlarının DNA dizi analizi yöntemi ile araştırılması" konulu çalışma 509 çalışma arasından ilk beşe girerek "En başarılı çalışma Jüri Özel ödülü" ile ödüllendirildi.



Çalışmayı indirmek için tıklayınız



3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi-2015

18-22 Kasım 2015, Titanik Kongre Merkezi, Belek, Antalya

FLUKONAZOLE DİRENÇLİ/DUYARLILIĞI AZALMIŞ İNVAZİF CANDIDA ALBICANS İZOLATLARINDA ERG11 GEN MUTASYONLARININ DNA DİZİ ANALİZİ YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Feriye ARDÖN, Dr. E. Gülüm, Ayşe Derman

En başarılı çalışma Jüri özel ödülü

Dr. Dr. Feriye ARDÖN

Klinik Mikrobiyoloji Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveys Sistemi Kongre Başkanı

Dr. Dr. Burcu SEVER

Klinik Mikrobiyoloji Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveys Sistemi Kongre Genel Sekreteri

Dr. Dr. Feriye ARDÖN

Klinik Mikrobiyoloji Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveys Sistemi Kongre Başkanı



Laboratu-
varlar için
TANI
REHBERİ



Hekimler
için
TANI
REHBERİ



ULUSAL
TÜBERKÜLOZ
TANI
REHBERİ



LABORATUVAR
GÜVENLİĞİ
REHBERİ



ULUSAL
ANTİMİKROBİYAL
DİRENÇ
SÜREYANS
SİSTEMİ
(UAMDSS)



UMS
GERİ BİLDİRİM
FORMU



T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı Mikoloji Referans Laboratuvarı MİKOLJİK TANI İSTEK FORMU	
HASTA BİLGİLERİ	
HASTANIN ADI SOYADI:	GÖNDEREN HEKİMİN ADI SOYADI:
CİNSİYETİ ☐ E ☐ K	KURUMU:
YAŞI:	TEL :
TC Kimlik No:	ÖN TANI:
HASTANIN ADRESİ:	ŞİKAYETİ: _____gün önce başlamış
HASTANIN MESLEĞİ:	Seyahat öyküsü (son 15 gün içinde): Yok ☐ Var ☐
NUMUNE ALMA TARİHİ /SAATİ:	Varsa yer belirtiniz:
NUMUNE GÖNDERME TARİHİ/SAATİ :	İmmümsupresif durum Yok ☐ Var ☐
I. YÜZEYEL MİKOZ TANI TESTLERİ	
☐ MANTAR ARANMASI(KOH ile) (906091) ☐ MANTAR KÜLTÜRÜ (906120) KLİNİK ÖRNEK TİPLERİ: ☐ Deri Kazıntı Materyali ☐ Tırnak Kazıntı Materyali ☐ Saç/Saçlı Deri Kazıntı Materyali	
II. DERİN MİKOZ TANI TESTLERİ	
IFA ☐ Pneumocystis jirovecii (907930) ANTİJEN ☐ Aspergillus (907390) ☐ Cryptococcus (905820)	Real-Time PCR ☐ Pneumocystis jirovecii (908728) ☐ Candida (C.albicans,C.dubliniensis, C.glabrata,C.parapsilosis,C.guilliermondii,C.krusei C.tropicalis,C.famata,C.kefyr,C.lipolitiyca)(908728) ☐ Aspergillus (A.niger,A.fumigatus,A.flavus)(908728) ☐ F.solanii(908730) ☐ S.prolificans(908730) ☐ C.neoformans(908730) ☐ S.cerevisiae(908730)
KLİNİK ÖRNEK TİPLERİ: ☐ Balgam ☐ BAL ☐ ETA ☐ Ağız Çalkalama Suyu ☐ BOS ☐ Serum ☐ Diğer ☐ Tam Kan (BAL: Bronkoalveolar lavaj, ETA: Endotrakeal aspirat, BOS: Beyin omurilik sıvısı)	
III. DERİN MİKOZ İDENTİFİKASYON/DUYARLILIK TESTLERİ	
İDENTİFİKASYON PANELİ ☐ Direk Mikroskopi (906091) ☐ Mantar Kültürü (906120) ☐ Mantar Tanımlanması (Otomatik sistem) (906130)	ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ ☐ Antifungal Duyarlılık Testi (Herbiri) MİC (905650) ☐ Mantar Tanımlanması (Otomatik Sistem) (906130) ☐ Mantar Tanımlanması ve Antifungal Duyarlılık Testi (906140) ☐ Antifungal Duyarlılık Testi (Herbiri) E- Test (905640)
KLİNİK ÖRNEK TİPLERİ: ☐ Balgam ☐ BAL ☐ ETA ☐ Kan Kültürü ☐ BOS ☐ Serum ☐ İdrar ☐ Abse İçeriği ☐ Smear ☐ Gaita ☐ Tam Kan ☐ Vücut Sıvıları ☐ Doku Biyopsisi ☐ Diğer	ANTİFUNGALLER ☐ AMPHOTERİCİN B ☐ FLUCONAZOLE ☐ İTRACANAZOLE ☐ CASPOFUNGİN ☐ VORİCONAZOLE ☐ POSACONAZOLE
Adres: Refik Saydam Yerleşkesi,Sağlık Mahallesi Adnan Saygun Caddesi No: 55 06100 Sıhhiye/ANKARA TEL: 0312 565 57 81 Faks: 0312 565 54 55	



https://hsgm.saglik.gov.tr/-faaliyetler/hsgm_2018_fiyat_rehberi.pdf

MİKROBİYOLOJİ REFERANS LABORATUVARLARI VE BİYOLOJİK ÜRÜNLER DAİRE BAŞKANLIĞI ANALİZLERİ FİYAT LİSTESİ					
SUT / HSGM KODU	TEST ADI	YÖNTEM	ÖRNEK MİKTARI/ TİPİ	RAPORLAMA SÜRESİ	ANALİZ ÜCRETİ (₺)
<i>Aspergillus</i> spp. aranması ve kültürü paketi					
906.091	<i>Aspergillus</i> mikroskopisi	Mikroskobi	3-5 mL Abse içeriği (steril tüpte)	5 iş günü	***
906.120	<i>Aspergillus</i> kültürü	Kültür	2-3 g Biyopsi örneği (Formalin içermeyen SF içinde)		***
906.130	İdentifikasyon	Otomatize sistem	5 mL Bronkoalveoler lavaj		***
905.760	Boyalı mikroskopik inceleme	Mikroskobi	5 mL Endotrakeal aspirat		***
908.728	<i>Aspergillus</i> spp. PCR	Real Time PCR 1-5 çift	5 mL Bronkoalveoler lavaj	2 iş günü	***
			3 mL Serum		



Laboratuvar Sürveysansları

UAMDSS
Ulusal Antimikrobiyal Direnç
Sürveys Sistemi

UEPLA
Ulusal Enterik Patojen
Laboratuvar Sürveys Ağı

TuLSA
Ulusal Tüberküloz
Laboratuvar Sürveys Ağı

INFLINE
Ulusal Hastane Enfeksiyonları
Sürveysi

Kurumumuzda yapılan çalışmaya KLİMUD'dan ödül

18 - 22 Kasım 2015 tarihleri arasında Titanik Kongre Merkezi Belek-Antalya'da gerçekleştirilen 3. Klinik Mikrobiyoloji Kongresinde Kurumumuz Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığında yapılan "Flukonazole dirençli/duyarlılığı azalmış invazif *Candida albicans* izolatlarında ERG11 gen mutasyonlarının DNA dizi analizi yöntemi ile araştırılması" konulu çalışma 509 çalışma arasından ilk beşe girerek "En başarılı çalışma Jüri Özel ödülü" ile ödüllendirildi.



Çalışmayı indirmek için tıklayınız





Bulaşıcı Hastalıkların Araştırılmasında Sahada Çalışan HEKİMLER İÇİN LABORATUVAR REHBERİ

HEKİMLER İÇİN

- Editör ve Yazarlar
- Kısaltmalar ve Tanımlar
- Giriş ve Genel Hususlar
- Hastalıklar/Hastalık Etkenleri
- Alfabetik Dizini
- Ekler

Rehberi Cilt halinde aşağıdaki kapak resimlerine tıklayarak pdf formatında indirebilirsiniz (174 MB). Ayrıca soldaki sütunda bulunan "Hekimler İçin" başlığı altındaki konu başlıklarına ve alfabetik dizine giderek istediğiniz dokümanı bağımsız pdf dosyası halinde indirebilirsiniz.



© T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu,
Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı
"Bulaşıcı Hastalıkların Araştırılmasında Sahada Çalışan Hekimler için Laboratuvar Rehberi"

Bu Belgenin her türlü yayın hakkı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı'na aittir. Başkanlığın yazılı izni olmadan bu belgenin bir kısmı veya tamamı serbestçe alıntılanabilir, çoğaltılabilir; ancak, ticari amaçla kazanç elde etmek veya satmak için kullanılamaz.

Bu Belgede ifade edilen görüşlerin sorumluluğu sadece yazarlara/katkıda bulunanlara aittir. Belirli firmaların veya üreticilerin ürünlerinden söz ediliyor ise, bu husus, Başkanlığın bunları o bahiste adı geçmeyen benzer nitelikteki diğerlerine tercih ettiği, kullanımını tavsiye ettiği veya onayladığı anlamında yorumlanamaz.

ISBN:

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No:

Yayın tarihi: 15.04.2014

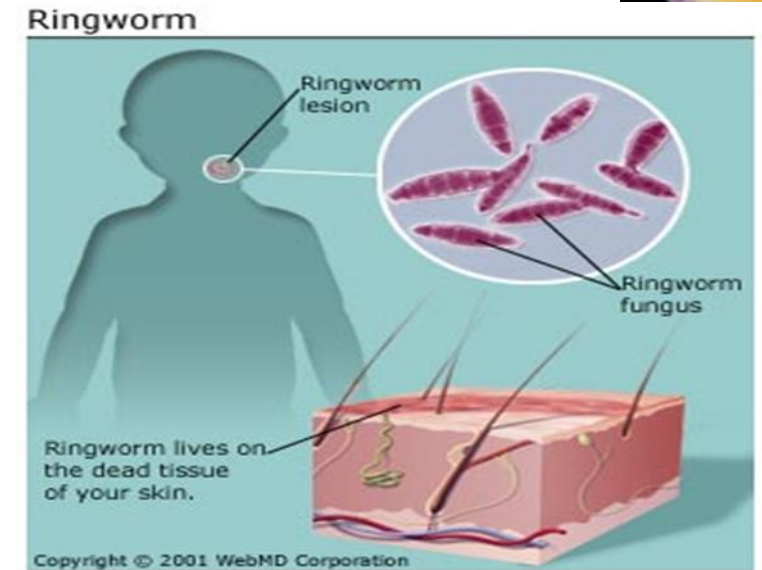
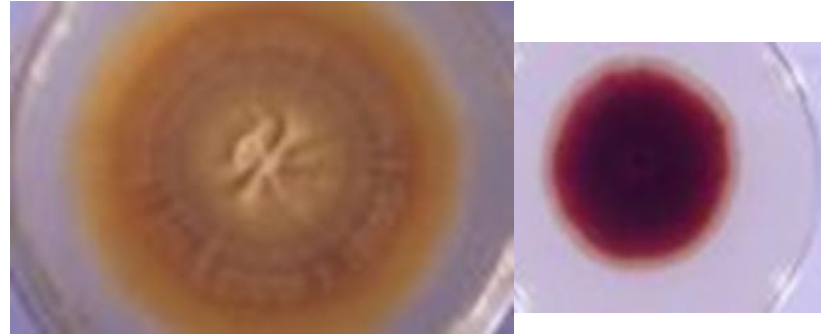
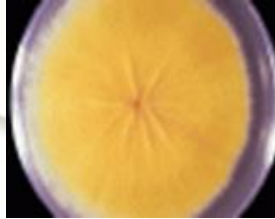
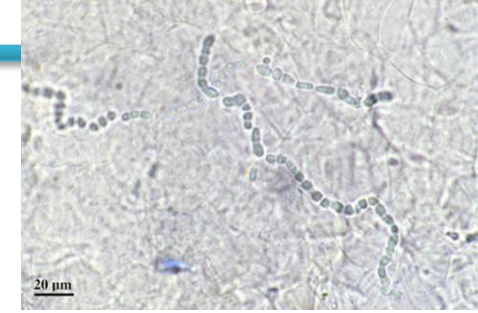
Baskı sayısı: 1000

Basım yeri: Ankara

Yüzeysel Mikoz Tanı

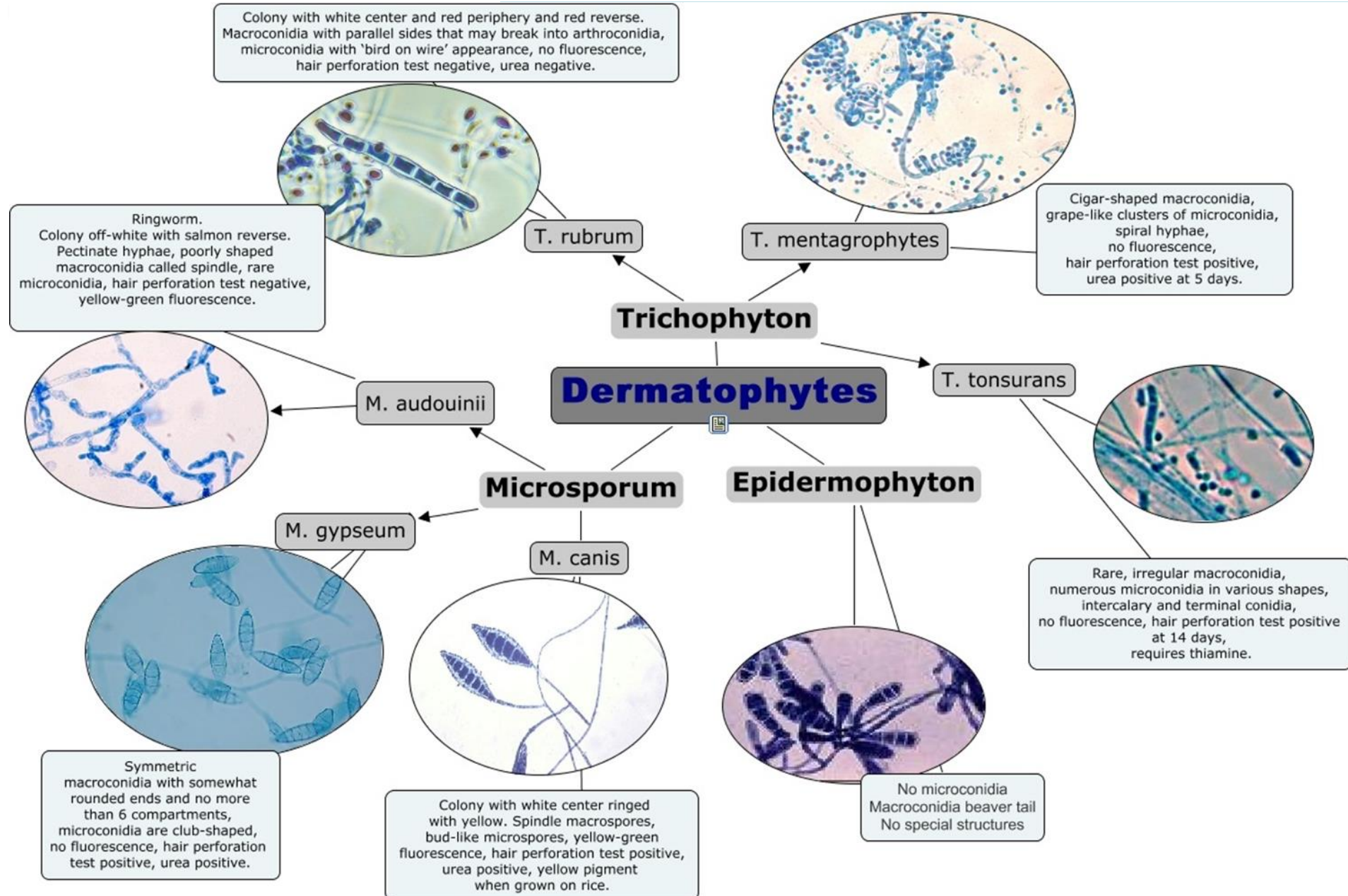
Uzun süreli enfeksiyona neden oluyor, tekrarlıyor ve tedavisi uzun zaman gerektiriyor.

- Makroskobik (örn., koloninin pigmentasyonu, üreme hızı ve dokusu)
- Mikroskobik (*i.e.*, konidyum özellikleri ve klamidyakonidyum) morfoloji
- Fizyolojik ve biyokimyasal testler
- NAT, ITS sekansı,
- MALDI-TOF MS





T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü





24th
ECCMID Barcelona, Spain
10–13 May 2014

eP391

Comparative evaluation of Dermatophyte-PCR kit, with conventional methods for rapid detection of dermatophytes and identification of *Trichophyton rubrum* in nail specimens

N. Karabıcak¹, D. Guldemir¹, S. Topal¹, N. Alem¹, O. Danismaz¹, G. Elcin², R. Durmaz¹.

¹Public Health Institution of Turkey, Ankara, Turkey; ²Hacettepe University, Ankara, Turkey



Introduction

Onychomycosis is a common and persistent fungal infection caused chiefly by *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*. Diagnosis has relied on a combination of microscopy and culture based techniques; however, microscopy lack sensitivity, specificity and their growth may take to weeks. A fast and accurate detection and identification of the causal agent in onychomycosis is essential, since requires long-term systemic antifungal treatment. Recently, many PCR assays have been developed to improve onychomycosis diagnosis. In this study, a commercially available multiplex PCR kit, which combines pan-dermatophytes PCR with a *T. rubrum*-specific PCR was compared with KOH microscopy and culture isolation for diagnosis of dermatophytes in nail specimens.

Materials and Methods

Nail specimens (n=130) were prospectively collected from patients with clinically suspected onychomycosis and were studied by KOH microscopy, cultures and multiplex PCR kit (Dermatophyte PCR kit, Statens Serum Institut, SSI Diagnostica, Denmark) in a mycology reference laboratory. Fungal DNA was easily and rapidly (15 min) extracted using a commercial kit. The multiplex PCR using novel primers targeting the pan-dermatophyte-specific sequence of the chitin synthase 1 gene (CHS1) for detecting dermatophytes generally and ITS2 (internal transcribed spacer) for detecting *T. rubrum* was performed. The test was completed within 5 h.

Results

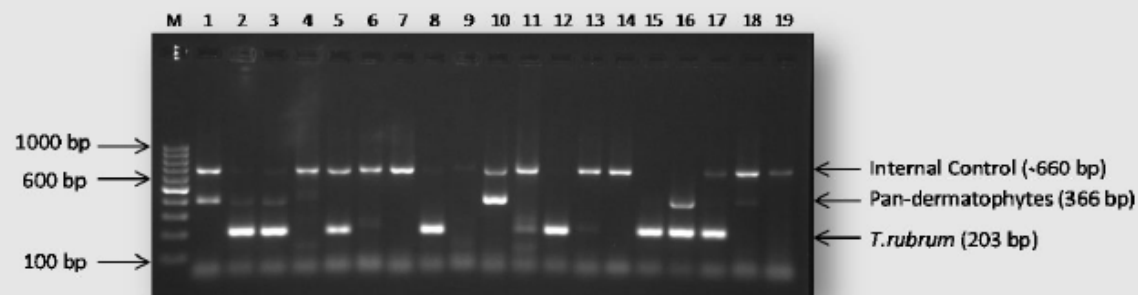


Fig. 1. Example of *Trichophyton rubrum*-specific and pan-dermatophyte multiplex PCR product analysis. Lanes: M, Marker (100 bp DNA ladder); 1, dermatophyte genomic DNA (control 1); 2, *T. rubrum* genomic DNA (control 2); 3 to 18, results of multiplex PCR performed for DNA extracted directly from nail specimens diagnosed by culture and microscopy as *T. rubrum* (Lane 3, 5, 6, 8, 11, 12, 13, 15, 16, 17); negative (Lane 4, 7, 9, 14); *Trichophyton interdigitale* (Lane 10, 18), and 19, negative control.

Table 1. Microscopy and culture results from nail specimens with suspected onychomycosis in relation to positive or negative PCR results.

Positive PCR



Evaluation of the Bruker Matrix-Assisted Laser Desorption–Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) System for the Identification of Clinically Important Dermatophyte Species

Nilgün Karabıçak · Onur Karatuna · Macit İlkit ·
Işın Akyar

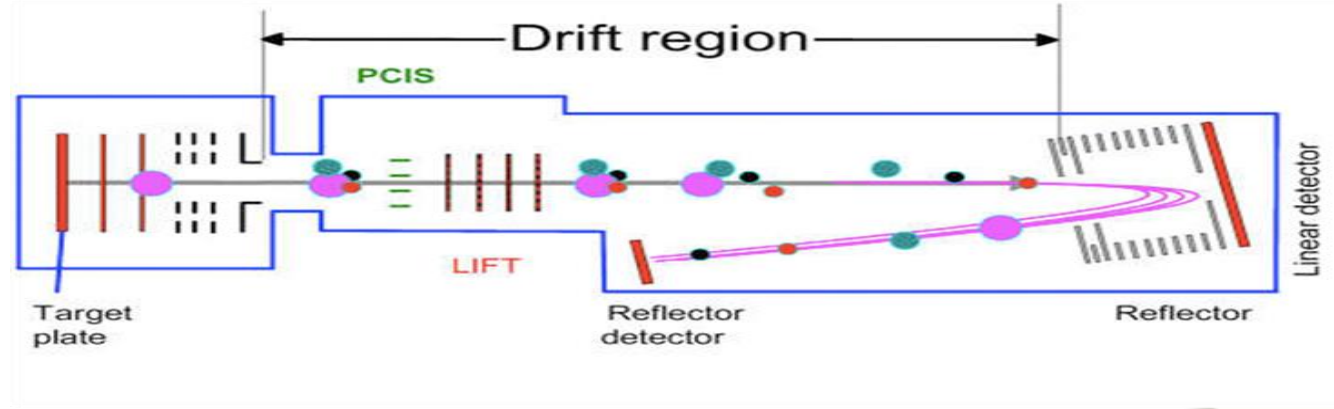
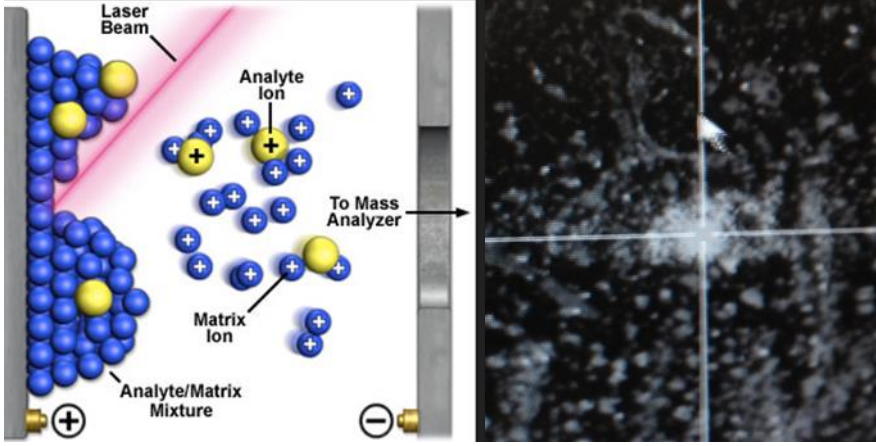
Received: 11 March 2015 / Accepted: 2 May 2015
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2015

Abstract Dermatophytes can invade the stratum corneum of the skin and other keratinized tissues and are responsible for a broad diversity of diseases of skin, nails and hair. Although the standard identification of dermatophytoses depends on macroscopic and microscopic characterization of the colonies grown on special media, there are a number of limitations owing to intraspecies morphological variability, atypical morphology or interspecies morphological similarity which entails improvement in the identification methods. Matrix-assisted laser desorption–ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) is a novel method which proved to be effective for rapid and reliable identification of dermatophytes grown in cultures when compared to conventional methods. We evaluated the performance of Bruker MALDI-TOF MS System (Bruker Daltonics, Germany) for

identification of clinically relevant dermatophytes. In order to increase the identification capacity of the system, we created supplemental spectral database entries using ten reference dermatophyte strains (ten species in two genera). The utility of the generated database was then challenged using a total of 126 dermatophytes (115 clinical isolates and 11 additional reference strains). The results were evaluated by both manufacturer recommended and lowered cutoff scores. MALDI-TOF MS provided correct identification in 122 (96.8 %) and 113 (89.7 %) of the isolates with the lowered scores and using the supplemented database, respectively, versus 65 (51.6 %) and 17 (13.5 %) correct identifications obtained by the unmodified database and recommended scores at the genus and species levels, respectively. Our results support the potential utility of MALDI-TOF MS as a routine tool for accurate and reliable identification of dermatophytes.

N. Karabıçak
National Mycology Reference Laboratory, Public Health
Institute of Turkey, Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad.
No:55, Sıhhiye, 06100 Ankara, Turkey

Keywords Dermatophyte · Dermatophytose ·
Identification · MALDI-TOF MS



- Hazırlanan mikroorganizma örneği üzerine lazer ile atış yapılır.
- Parçalanma olur.

- Matriks & tuz iyonları ile kaplanmış analit molekülleri
- Yüzeydeki demetlerden patlama olur
- Matriks molekülleri uçar ve bir gaz formu bırakır.

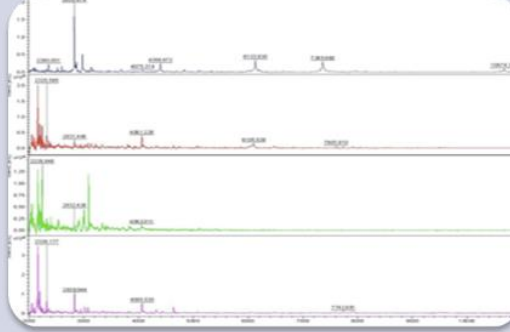
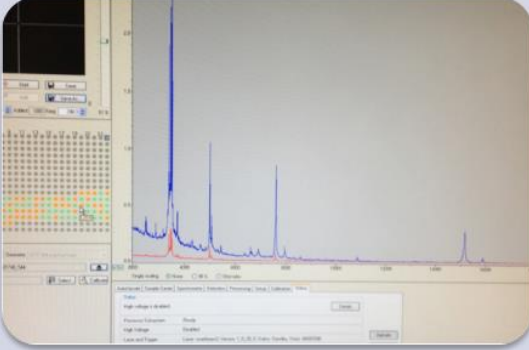
- Proteinler lazer ile incelenir.
- Aygıt içerisindeki vakum ile yönlendirilen analitler saptama elektrodu ile toplanırlar.



1

2

3



MALDI identification result			
Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (100%)	Staphylococcus aureus ATCC 1445 DSM	2.144	88170
2 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 13962 DSM	2.133	1288
3 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 4910 DSM	2.074	88170
4 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 10491 DSM	2.047	88170
5 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 11822 DSM	2.040	88170
6 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 29213 DSM	2.037	1288
7 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 144 DSM	2.035	88170
8 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 13991 DSM	2.040	1288
9 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 29212 DSM	2.040	1288
10 (99%)	Staphylococcus aureus ATCC 29422 DSM	2.040	88170

2.0-3.00 Secure genus and species identification
1.7-1.99 Probable genus identification
0.0- 1.69 Unreliable identification

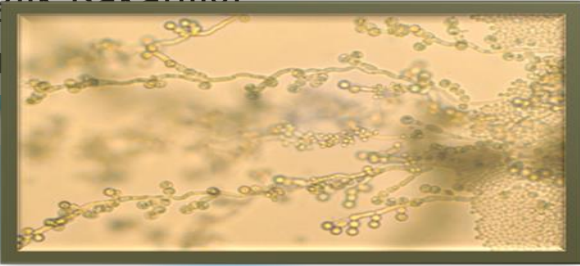
- Spektrum standart kalıpla algoritmik olarak eşleştirilir.
- Elde edilen ham veriler MBL/SMBL ile kullanılarak tanımlanır.

- Tanımlama SMBL veritabanında bulunan bir referans suşa yakınlığa dayanılarak yapılır.

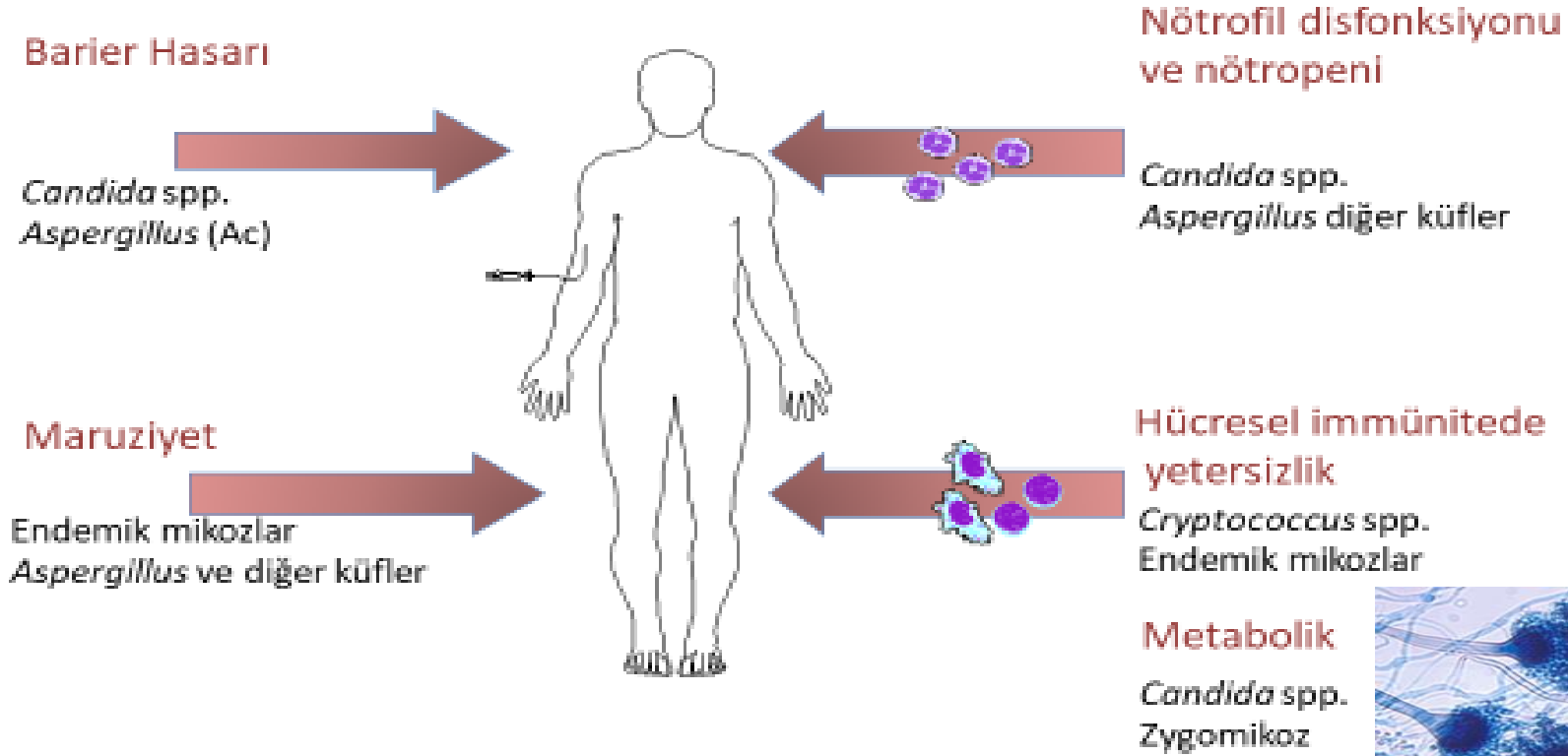
- Tür ve cins tanımlaması olasılığa göre “güvenilirlik”



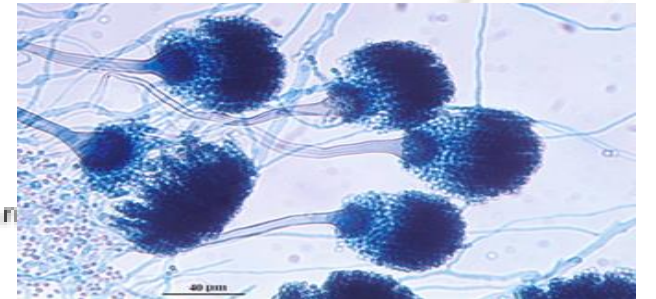
- Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Standart kütüphanesine sık ve nadir görülen türlerin ilavesi çeşitliliği artırarak dermatofitlerin tür düzeyinde doğru tanımlanmasını,
- Spektral skor değerlerinin düşürülmesi, yanlış tanıya neden olmadan, tür düzeyinde tanı kapasitesinin artırılmasını sağlamıştır.
- MALDI-TOF MS sistemi, dermatofitlerin tanımlanmasında doğru, hızlı, tekrar edilebilir ve cihaz kurulduktan sonra sarf maliyeti gerektirmediğinden maliyet etkin bulunmuştur.



Fırsatçı Mikozlardaki Risk Faktörleri



Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları





Derin Mikoz Tanı

İmmün sistemi baskılanmış
konak sayısı

İnvaziv fungal
enfeksiyon

İK da yüksek
mortalite (%50)

C. albicans dışı *Candida*,
Rhodotorula, *Trichosporon*,
Malassezia ve *Aspergillus*,
Fusarium,...

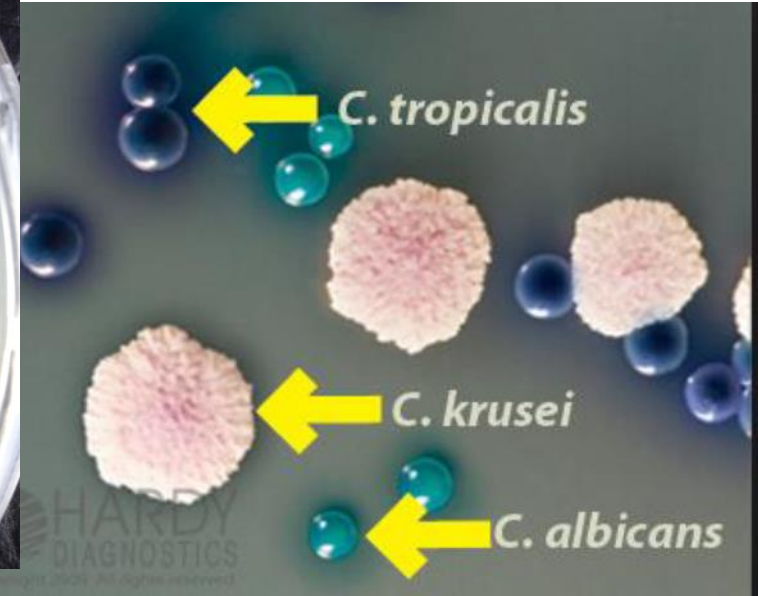
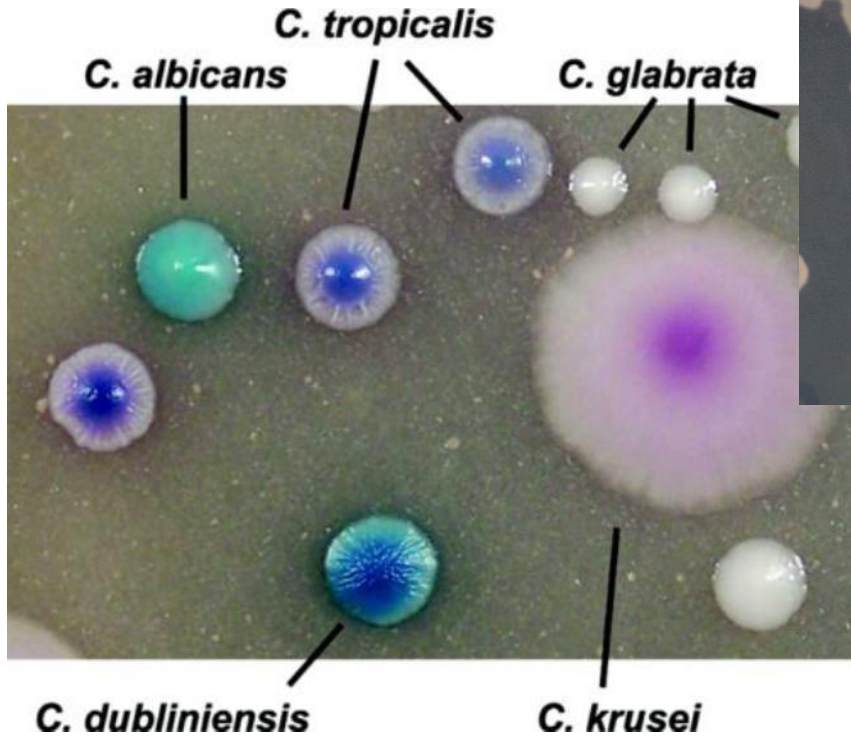


Tür düzeyinde *doğru tanımlama & antifungal duyarlılık testleri*

- erken ve doğru tanı ve erken tedaviyi sağlayarak prognozu olumlu yönde etkileyen en önemli faktörlerdir.
- antifungal tedavinin doğru yönlendirilebilmesi,
- klinik yanıtın tahmin edilebilmesi
- epidemiyolojik sürveyans çalışmaları açısından da önemlidir.



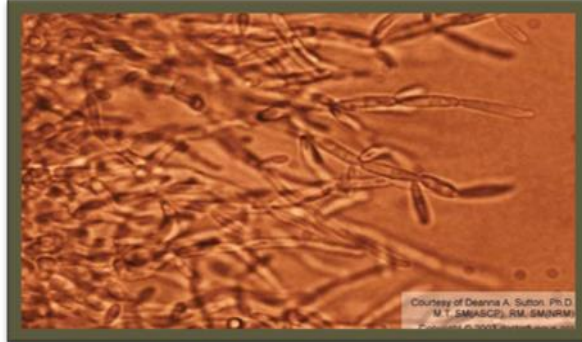
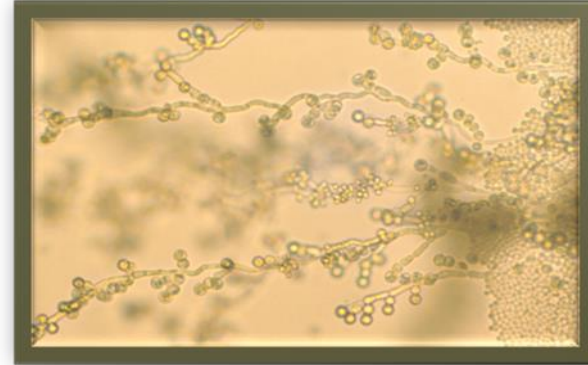
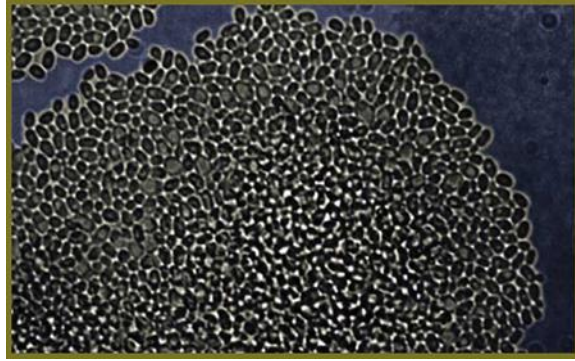
Fizyolojik ve Morfolojik Yöntemlerle Tanımla ve Tür Dağılımı

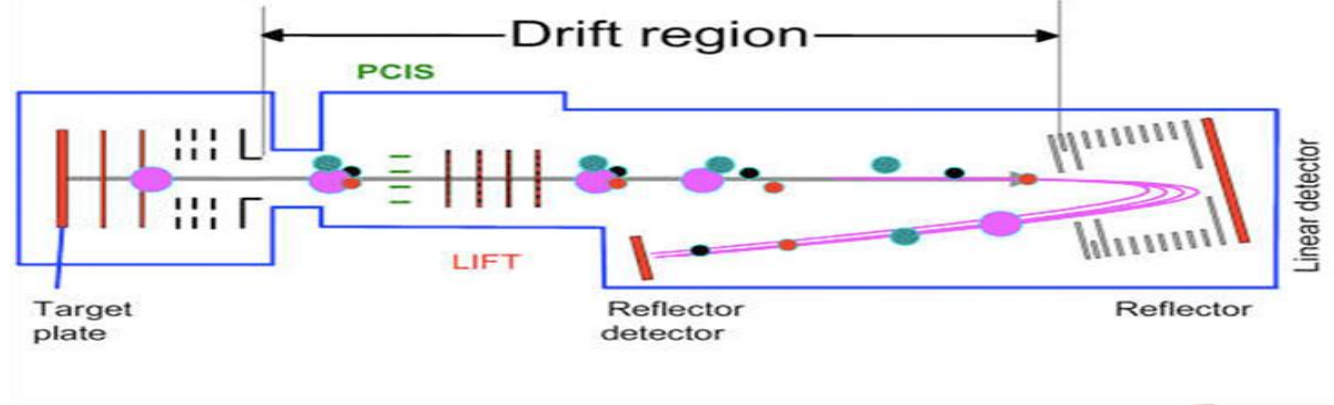
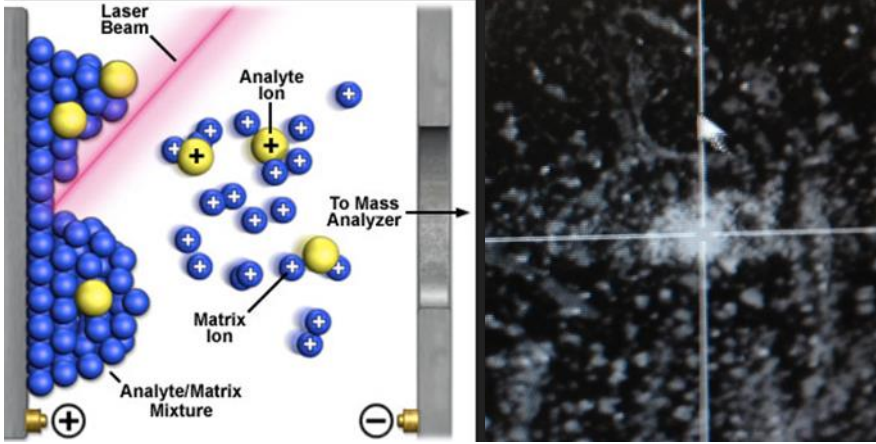




Fizyolojik ve Morfolojik Yöntemlerle Tanımla ve Tür Dağılımı

- Mısır unlu -Tween 80 besiyerinde morfoloji





- Hazırlanan mikroorganizma örneği üzerine lazer ile atış yapılır.
- Parçalanma olur.

- Matriks & tuz iyonları ile kaplanmış analit molekülleri
- Yüzeydeki demetlerden patlama olur
- Matriks molekülleri uçar ve bir gaz formu bırakır.

- Proteinler lazer ile incelenir.
- Aygıt içerisindeki vakum ile yönlendirilen analitler saptama elektrodu ile toplanırlar.



24th
ECCMID Barcelona, Spain
10-13 May 2014

eP479



Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for accurate and fast identification of yeasts isolated from bloodstream infections

N. Karabıcak¹, O. Karatuna², I. Akyar².

¹ Public Health Institution of Turkey, Mycology Reference Laboratory, Ankara, Turkey

² Acibadem University, School of Medicine, Department of Medical Microbiology and Acibadem Labmed Clinical Laboratories, Istanbul, Turkey



Introduction

Invasive fungal infections are a significant cause of morbidity and mortality in the immunocompromised. Fast and accurate identification of yeast isolates from invasive infections at the species level is clinically important because of the varying intrinsic antimicrobial resistance profiles among different yeast species and the newly introduced species-specific clinical breakpoints. We evaluated the performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the identification of yeast isolates recovered from bloodstream infections in comparison to phenotypic methods.

Materials and Methods

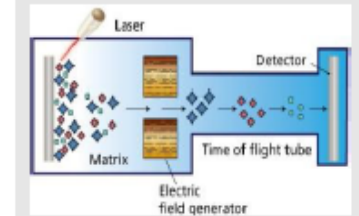
- Yeast isolates (n = 443, 16 species in 4 genera) obtained from blood cultures of invasive candidiasis patients from various intensive care units in Turkey between 2010-2012 and eight reference strains (8 species in 3 genera: *Candida dubliniensis* ATCC MYA-583, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida orthopsilosis* ATCC 96139, *Candida metapsilosis* ATCC 96144, *Candida albicans* ATCC 10231, *Cryptococcus neoformans* ATCC 32268 and *Trichosporon asahii*

Results

All reference strains (n = 8) were accurately identified at the species level by MALDI-TOF MS. For clinical isolates (n = 443), accurate identification rates at the species and genus levels were 90.3% (n = 400) and 97.7% (n = 433), respectively. Although the scores obtained for ten clinical isolates were lower than the confidence limit (scores <1.700), the identifications were in concordance with morphological identification results. In addition, MALDI-TOF MS presented some advantages over phenotypic methods by accurately identifying uncommon *Candida* species, differentiating *C. parapsilosis* from *C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis*, distinguishing between *C. albicans* and *C. dubliniensis*, and identifying a *Magnusiomyces capitatus* isolate which also was confirmed with DNA-sequencing (Table 1).

Table 1. Performance of MALDI-TOF MS in identification of reference and clinical yeast isolates

Yeast species (final identification)	No. tested	Confidence level of identification		
		Not reliable Score <1.7	Genus level Score ≥1.7 - <2.0	Species level Score ≥2.0
Reference strains	8			
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1			1
<i>Candida dubliniensis</i> ATCC MYA 583	1			1
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	1			1
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	1			1
<i>Candida orthopsilosis</i> ATCC 96139	1			1
<i>Candida metapsilosis</i> ATCC 96144	1			1
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 32268	1			1
<i>Trichosporon asahii</i> ATCC 96144	1			1

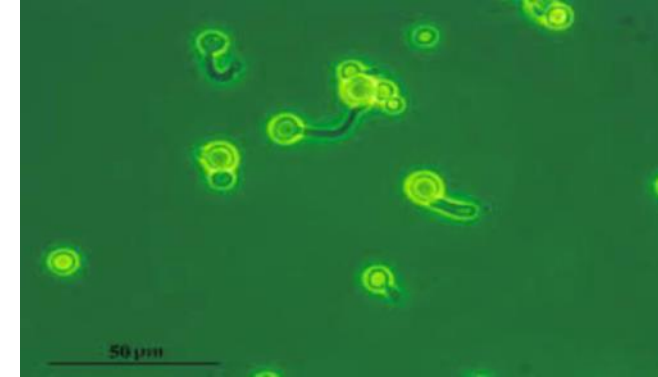




Fizyolojik ve Morfolojik Yöntemlerle Tanımla ve Tür Dağılımı



- Germ Tüp deneyi
- API 20C AUX/ API ID 32 C
- Çeşitli ısılarda üreme
 - 37°C
 - 42°C
- Sikloheksimid duyarlılığı





Fizyolojik ve Morfolojik Yöntemlerle Tanımla ve Tür Dağılımı



- Üre hidrolizi
- Nitrat asimilasyonu
- Pigment üretimi
- Klasik Wickerham fermentasyon testi (glukoz, maltoz, sukroz, laktoz, galaktoz ve trehaloz)



Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Maya Türlerinin Tanımlanmasında Sık Kullanılan Ticari Sistemlerin Değerlendirilmesi: Çok Merkezli Bir Çalışma

Evaluation of Common Commercial Systems for the Identification of Yeast Isolates in Microbiology Laboratories: A Multicenter Study

Nilgün KARABIÇAK¹, Hatice ULUDAĞ ALTUN^{2,3}, Onur KARATUNA⁴, Gülşen HAZIROLAN⁵, Neriman AKSU⁵, Ali ADILOĞLU², Işın AKYAR⁴

¹ Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı, Ankara.

¹ Public Health Institution of Turkey, Mycology Reference Laboratory, Ankara, Turkey.

² Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.

² Ankara Training and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Ankara, Turkey.

³ Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

³ Turgut Ozal University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

⁴ Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

⁴ Acibadem University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

⁵ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.

⁵ Ankara Numune Training and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 10.12.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 21.03.2015

ÖZ

Son yıllarda türe özgü klinik direnç sınır değerlerinin belirlenmesi nedeniyle ve uygun antifungal tedaviye erken başlanması için maya türlerinin doğru ve hızlı tanımlanması önemlidir. Klinik laboratuvarlarda tanımlama, sıklıkla biyokimyasal özellikleri temel alan çeşitli ticari sistemlerle ve nadiren de fizyolojik ve morfolojik özelliklere göre yapılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, rutin laboratuvarlarda sık kullanılan Vitek 2 sistemi YST maya tanımlama kartı (Vitek; bioMérieux, Fransa) ve API 20C AUX (API; bioMérieux, Fransa) sisteminin konvansiyonel mikolojik tanı yöntemleriyle karşılaştırılmasıdır. Çalışmamızda, çeşitli üniversite ve eğitim/araştırma hastanelerinde klinik örneklerden izole edilen ve Vitek ile tanımlanan toplam 473 maya izolatu, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı'nda, API sistemi ve morfolojik tanımlamayı da içeren konvansiyonel mikolojik yöntemler ile birlikte değerlendirilerek tür düzeyinde tanımlanmıştır. Çalışmada kalite kontrol suşları olarak *Candida dubliniensis* MYA 582, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Cryptococcus neoformans*



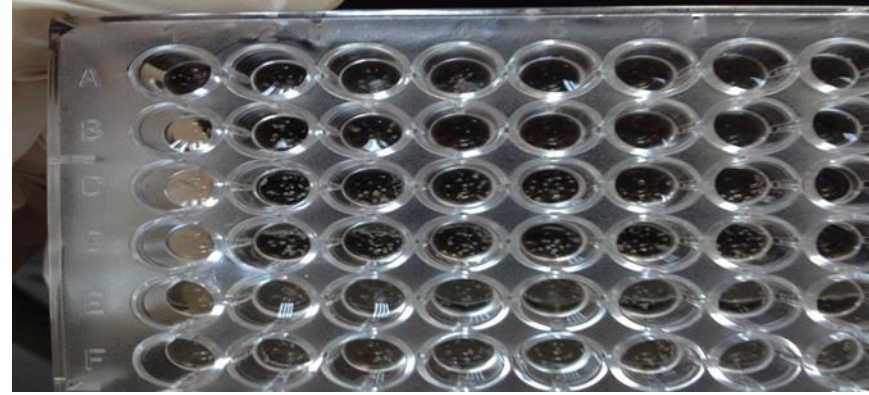
Referans Antifungal Duyarlılık Test Yöntemleri

- Mayalar için: CLSI M27-A3, **M27-S4, 2012**
CLSI M44-A2, **M44-S3**
EUCAST EDef 7.3.1 (2017)
- Küfler için: CLSI M38-A2
CLSI M51-A, **M51-S1**
EUCAST EDef 9.3.1 (2017)

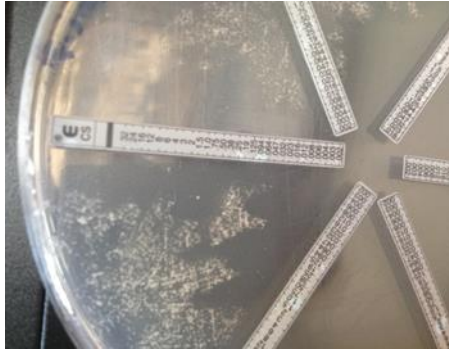




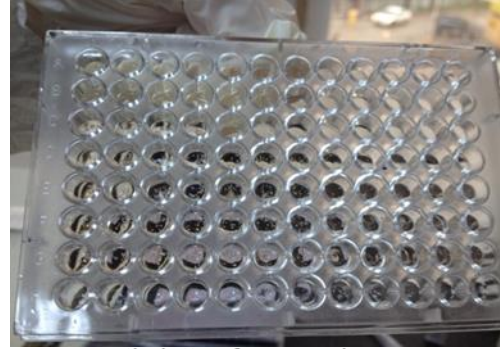
T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü



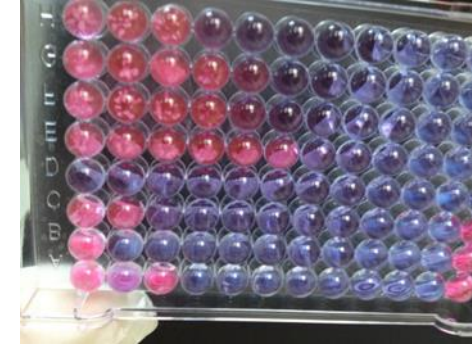
HSGM-Mikoloji Referans Laboratuvarı



HSGM-Mikoloji Referans Laboratuvarı



HSGM-Mikoloji Referans Laboratuvarı



HSGM-Mikoloji Referans Laboratuvarı



- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen* **yeni türe özgü «klinik direnç sınır değerleri»** (CBP) ve **«epidemiyolojik eşik değerleri*»** (ECV) ile antifungal duyarlılık profillerinin belirlenmesi nedeniyle **tür tanımlaması** daha da önemli bir hale gelmiştir.



Candida* Türlerinin Triazol Antifungal Duyarlılık Profilleri: Antifungal Direncin Belirlenmesinde Yeni CLSI Türe Özgü Klinik Direnç Sınır Değerleri ve Epidemiyolojik Eşik Değerlerinin Uygulanması

Antifungal Susceptibility Profiles of *Candida* Species to Triazole: Application of New CLSI Species-Specific Clinical Breakpoints and Epidemiological Cutoff Values for Characterization of Antifungal Resistance

Nilgün KARABIÇAK, Nihal ALEM

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı, Ankara.
Public Health Institution of Turkey, Mycology Reference Laboratory, Ankara, Turkey.

* Bu çalışma, 24. European Clinical Microbiology and Infectious Diseases Congress (ECCMID; 10-13 Mayıs 2014 Barselona, İspanya) Kongresinde sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 23.06.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 08.12.2015

ÖZ

Klinik ve Laboratuvar Standartlar Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) Antifungal Duyarlılık Testleri Alt Komitesi flukonazol ve vorikonazol için yeni türe özgü klinik direnç sınır değerleri (clinical breakpoint; CBP) önermiştir. CBP belirlenemediğinde, vahşi tip minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) dağılımları saptanır ve epidemiyolojik eşik değerleri (epidemiological cutoff value; ECV) direncin gösterilmesinde yararlıdır. Bu çalışmanın amacı, yeni CLSI CBP'yi kullanarak, *Candida* izolatlarında triazollere dirençli türleri belirlemektir. Çalışmaya, 2011-2012 döneminde Türkiye'deki çeşitli yoğun bakım ünitelerinde yatan invazif kandidozlu hastaların kan kültürlerinden izole edilen ve referans laboratuvarımıza gönderilen 140 *Candida* kökeni alınmıştır. İzolatlar, konvansiyonel yöntemler ile tanımlanmış; flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için duyarlılık testleri, CLSI sıvı mikrodilüsyon (BMD) metodu ile 24 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirilmiştir. Kökenlerin azol direnç oranları, yeni türe özgü CBP'ler ve uygun olduğunda ECV'ler kullanılarak saptanmıştır. İzolatların tür dağılımı; *C.parapsilosis* (n= 31), *C.tropicalis* (n= 26), *C.glabrata* (n= 21), *C.albicans* (n= 18), *C.lusitaniae* (n=16), *C.krusei* (n= 16), *C.kefyr* (n= 9), *C.guilliermondii* (n= 2) ve *C.dubliniensis* (n= 1) şeklindedir. Yeni belirlenen CLSI CBP'ye



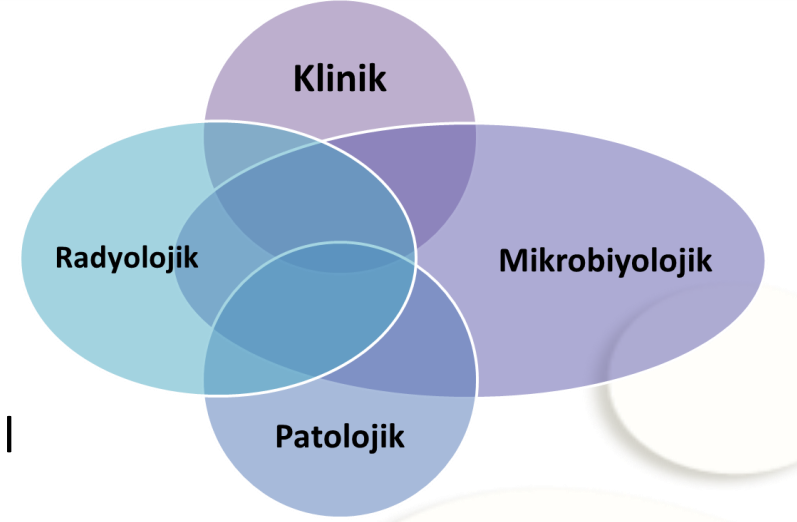
T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü





İnvazif Aspergilloz Tanı

- Başlangıçtaki belirti ve bulgular nonspesifik
- Radyolojik ve CT-Scans bulguları İA için özgül ve duyarlı değil
- Kan kültürü nadiren pozitif
- Gecikmiş tanıda tedavi başarısı düşüyor
- Kesin tanı yöntemlerini uygulamak her zaman olası değil. Histopatoloji veya kültür, invazif yöntemler ve duyarlılığı düşük (BAL ve biyopsiden kültür ile tanı $\leq 50\%$)
- Serolojik ve -hızlı tanıya yönelik geliştirilen- moleküler yöntemler önem kazanmaktadır.

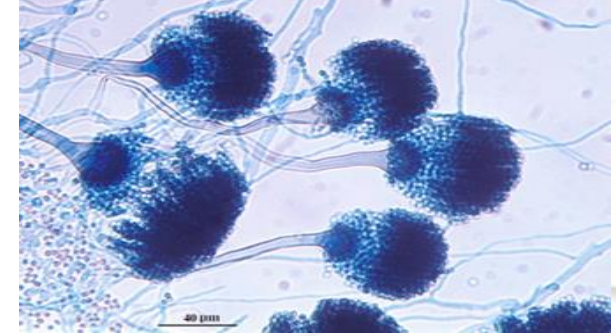


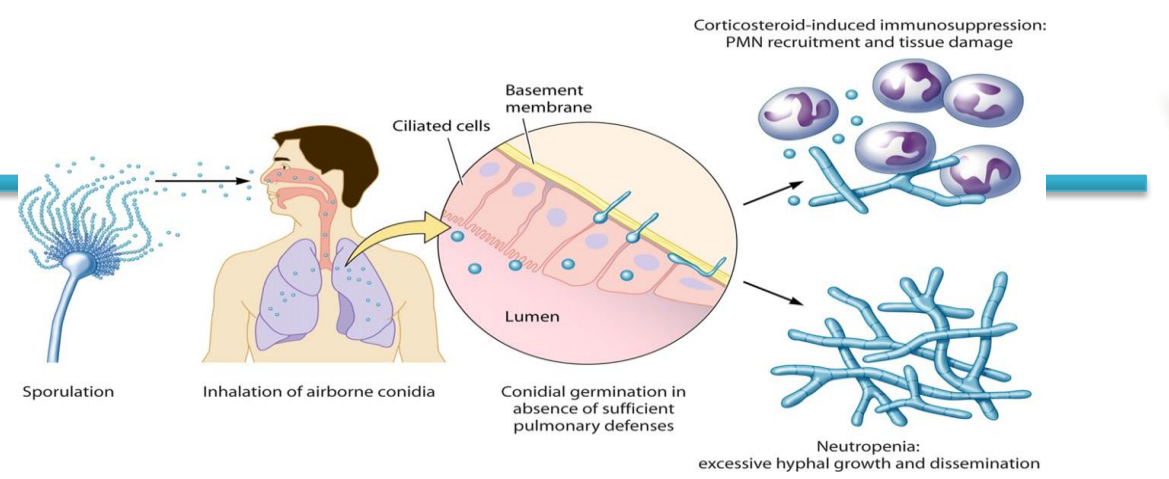


İnvazif Aspergilloz Mikrobiyolojik Tanı

- Kan kültürü
 - *Aspergillus* %5
- Respiratuar kültürler geç dönemde pozitifleşir
 - Balgam kültürü
 - Duyarlılığı düşük
 - Bronkoalveolar lavaj
 - Nötropenik hastalarda Duyarlılık %56, PPV %63
- Açık akciğer biyopsisi
 - Kültürün duyarlılığı $\leq$ %50

Kültür altın standart





İnvazif Aspergilloz Tanısında Myconostica Mycassay Aspergillus Testinin Değerlendirilmesi

Nilgün Karabıçak¹, Nihal Alem¹, Ayla Yenigün².

¹Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı, Ankara.

²Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

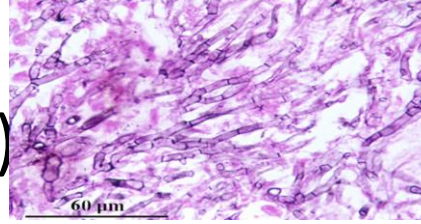
- Mart 2014-Eylül 2014 döneminde çeşitli hastanelerin Hematoloji Servisleri ve Kemik iliği Transplantasyon Ünitelerindeki hematolojik maligniteli, SOT Üniteleri ve diğer immün sistemi baskılanmış nötropenik hastaların (n= 50) İA ön tanısıyla Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikoloji Referans Laboratuvarı 'na gönderilen 61 örneği [serum (n=45), solunum yolu örnekleri (SYÖ) (n=15), biyopsi (n=1)] incelenmiştir.



- Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonu-Mikoz Çalışma Grubu (EORTC-MSG 2008) rehberine göre;
- **KANITLANMIŞ ("proven") aspergilloz**
- **KUVVETLE OLASI ("probable") aspergilloz**
- **OLASI ("possible") aspergilloz** sınıflandırılmıştır.
- EORTC-MSG 2008 rehberine göre 50 hastanın,
- 9'u KUVVETLE OLASI ("probable") aspergilloz
- 41'i OLASI ("possible") aspergilloz olarak değerlendirilmiştir.



- Mikroskopi , 4/15 (%26)



Aspergillus section Fumigati (n=3)

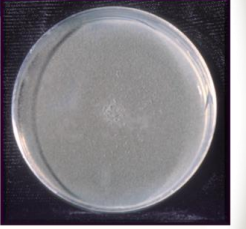
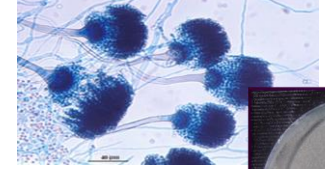
Türler

(Yaklaşık 30 spp.)

Aspergillus fumigatus
Aspergillus lentulus
Neosartorya udagawae
Neosartorya pseudofischeri

Özellikleri

Hızlı üreme
Gri-yeşil koloni
Kısa, düz konidyofor
Armut şeklinde vezikül
Tek sıralı fiyalit



- Kültür, 4/15 (%26)

Aspergillus section Clavati (n=1)

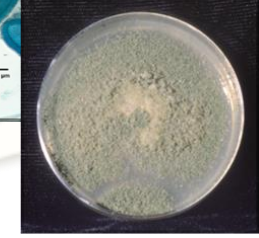
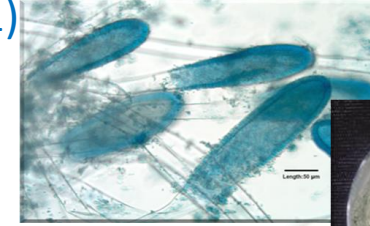
Türler

(yaklaşık 7 spp.)

Aspergillus clavatus

Özellikler

Tek sıralı, silindirik
Gri-yeşil
Silindirik vezikül
Eliptik konidyum



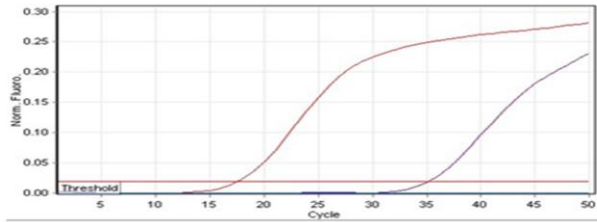
- GM, 7/45 (%15)
 - *Aspergillus* galaktomannan (GM) antijeni, Platelia *Aspergillus* Ag kiti (Bio-Rad)
 - Ardışık iki örnekte optik dansite indeksi 0.5 ve üzeri pozitif kabul edildi.

- Real-time PCR, 8/61 (%13)

SYÖ ve serumdan *Aspergillus* DNA'sı QIAamp DNA Mini Kiti (Qiagen, Almanya) DNA çoğaltılması *Aspergillus* sp. için spesifik primer ve prob (MycAssay™ Aspergillus – Myconostica, United Kingdom) kullanılarak, gerçek zamanlı PCR yöntemi (Rotor-Gene Q, Qiagen, Almanya)

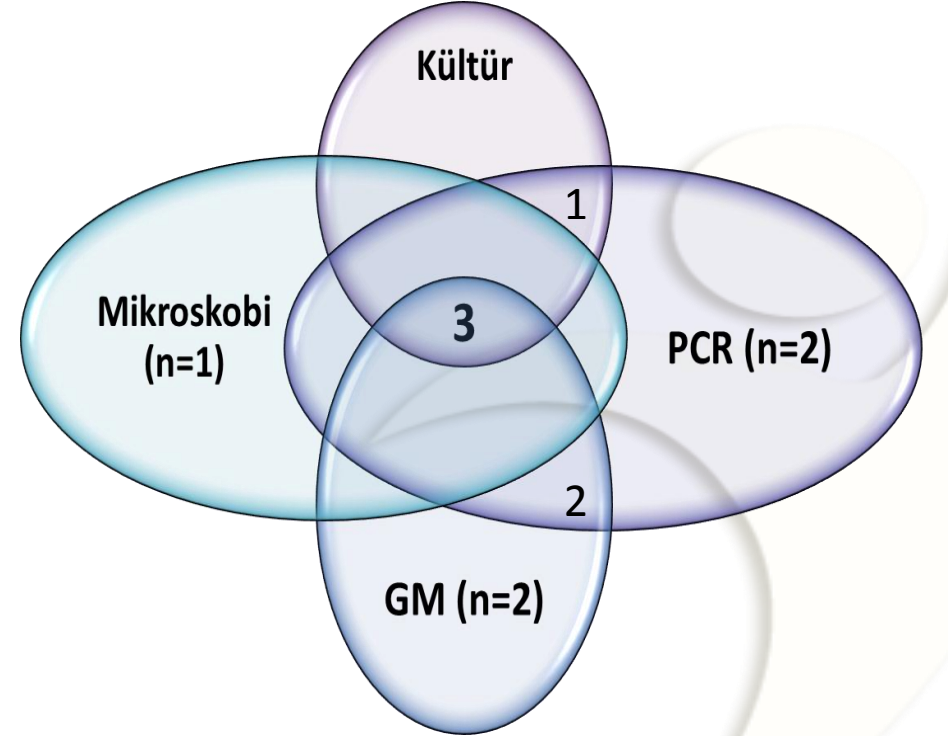
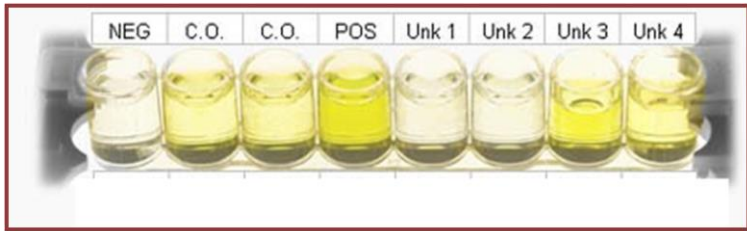


Quantitation data for Cycling A.Green



Real-time PCR ile pozitif bulunan 8 örneğin;

- 3/8'i (%37) direkt mikroskopik inceleme ile de pozitif,
- 4/8'i (%50) kültür ile de pozitif,
- 5/8'i (%62) GM ile de pozitif, olarak saptanmıştır.



GM pozitif 7 örneğin 5/7 (% 71)'si real-time PCR ile de pozitif, olarak saptanmıştır.



- GM Antijen Testi İA'un erken tanısında yardımcı serolojik metot olarak kullanılmaktadır
- Klinik bulgular ve kültürden 6 -10 gün önce pozitifleşir
- Non- invazif bir test
- 3 saatte sonuç alınır.
- EORTC/MSG tarafından önerilen bir testtir.
- Yalancı pozitiflik (yetişkinlerde %6 –14 Çocuklarda %80)
- Ardışık ≥ 2 pozitif sonuç ile daha duyarlı ve özgül

GM Antijen Testi Yalancı Pozitiflik

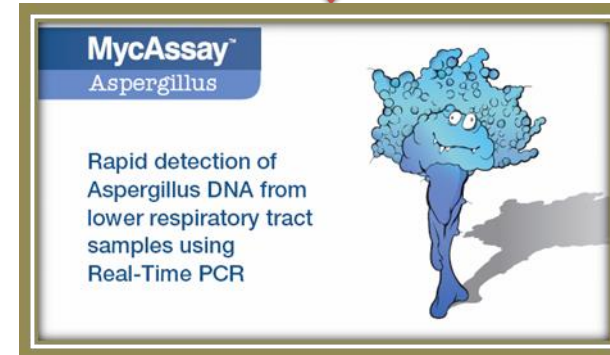
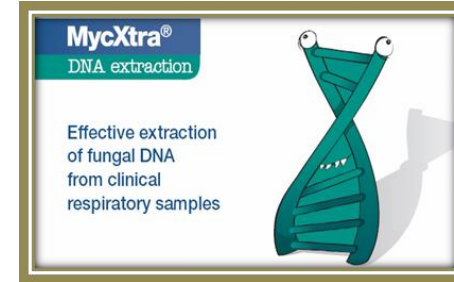
- çeşitli besinler (tahıllar, prinç, makarna, konserve ve katkı maddeleri)
- *Aspergillus* spp dışı mantarlar (Histoplazmoz, kriptokokkoz, *Blastomyces dermatitidis*, *Nigrospora oryzae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium chrysogenum*, *Geotrichum capitatum* and *Trichothecium roseum*)
- Antibiyotikler (Piperacillin/Tazobactam)
- Kan ürünleri

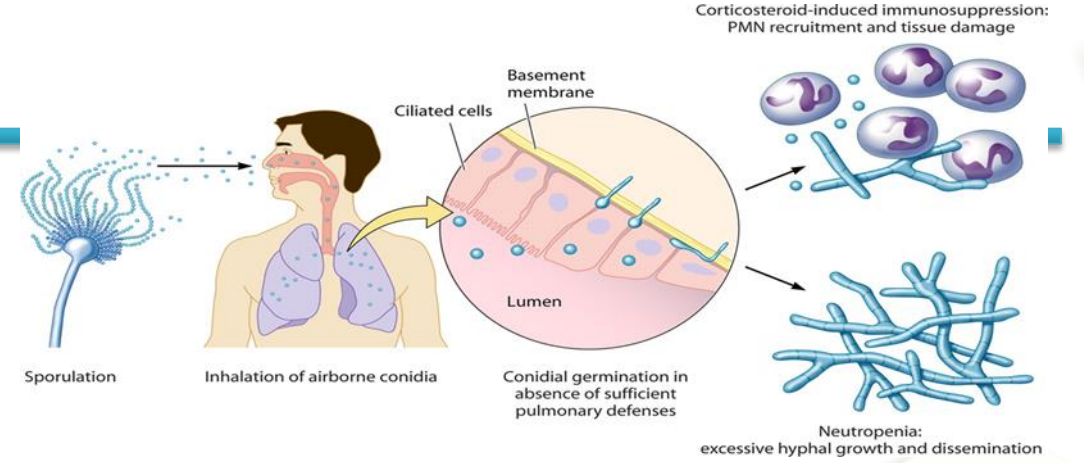
GM Antijen Testi Yalancı Negatiflik

- Anti-*Aspergillus* antikor varlığı
- Testin cutt-off değerlerinin düşürülmesi yalancı negatifliği artırmaktadır



- İA'un geleneksel yöntemlerle erken tanısındaki güçlükler nedeniyle, hızlı tanıya yönelik moleküler yöntemler önem kazanmıştır.
- PCR IA tanısında yardımcı bir test olarak neredeyse son 20 yıldır kullanılmaktadır.
- **PCR Sorunlar ve belirsizlikler;**
- Standardizasyon
- Kontaminasyon ⇒ Yalancı pozitiflik
- Kolonizasyon-enfeksiyon ayırımı
- Sınırlı veri
- **PCR ile erken tanı:** Proflaksi alan hastalarda,
- IFE tanısında GM dan daha önce tanı konulabilir.





- İA tanısında kültürün duyarlılığı düşük.
- Beraberinde standardize real-time PCR testlerinin kullanımı ve seri GM ölçümü, erken ve doğru tanı konulabilmesi ve tedaviye başlanması yönünden önemlidir.
- İlaveten PCR negatif sonuçlar hastanın İA olmadığını göstermektedir.



Evaluation of real-time PCR for diagnosing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in non-HIV immunocompromised patients

Nilgün Karabıçak¹ and Selmur Topal²

Mycology Reference Laboratory¹ and Communicable Diseases Department², Public Health Institution of Turkey, Ankara, Turkey.

Objectives: *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PJP) is an important cause of morbidity and mortality in immunocompromised patients. Microscopic diagnosis relies predominantly on immunofluorescence staining of a lower respiratory tract specimens which has limitations. Real-time PCR may assist in diagnosis. The main objectives of the study were to evaluate prospectively two methods for the detection of *P. jirovecii* in clinical specimens and compared a real-time PCR methods (MycAssay *Pneumocystis*) with our standard indirect immunofluorescence assay (IFA).

Methods: In this study, results of the respiratory fluid samples of patients with clinical suspicion of PJP (n=135) that were sent to Mycology Reference Laboratory, Public Health Institution of Turkey between August 2013 and September 2014 from the transplant, oncology unit and tertiary care teaching and university hospitals in Ankara were evaluated. Respiratory fluid samples were examined for the presence of *Pneumocystis* DNA by the MycAssay *Pneumocystis* that targets the *P. jirovecii* mitochondrial large subunit and compared to microscopic diagnosis using an IFA test (Cellabs Pneumo CEL). The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values were calculated by standard methods.

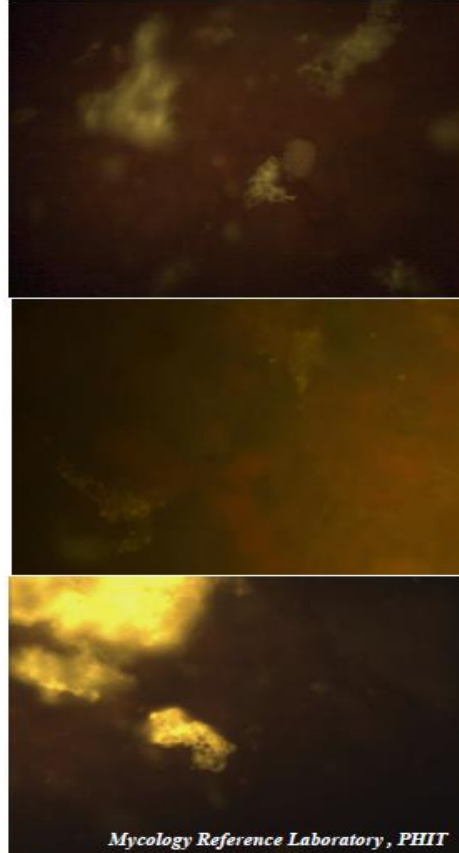


FIG. 1. *P. jirovecii* trophic and cyst forms in a smear of bronchoalveolar lavage material.

Results: The median age of the patients was 41.5 and their sex ratio (M/F) 1.2. PCR results were compared with *P. jirovecii*-IFA test results. All patients (n=135) were HIV negative. A total of 135 respiratory fluid samples were received from patients with a clinical suspicion of pneumocystosis. The specimens consisted of 83 bronchoalveolar lavage specimens, 26 tracheal-bronchial aspirate, 22 induced sputa, 2 fine needle aspiration lung biopsies, and 2 pleural fluid specimens. Microscopical examination was positive (Figure 1) for 11.8% (16/135) of the patients and real-time PCR was positive for 13.3% (18/135) of the patients. Out of 135, 15 were positive and 116 were negative by both detection methods. The remaining, 3 were positive by PCR-negative by microscopy and 1 was positive by microscopy-negative by PCR (Table 1). Three positive PCR results may indicate *P. jirovecii* colonization in patients with chronic lung disease and no clinical suspicion of PJP. However, all our patients had acute pulmonary infiltrates and severe immunodeficiency and most of them were under treatment for active malignancy. Positive PCR in this setting should be taken as possibly indicating infection. The performance of PCR for diagnosing PJP, with IFA as the reference standard, PCR sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values were 93.8%, 97.5%, 83.3%, and 99.1% respectively.

TABLE 1. Comparison of detection of *P. jirovecii* in respiratory samples by the MycAssay *Pneumocystis* real-time PCR assay and a laboratory standard of IFA^a.

	IFA					
	Positive	Negative	Total			
	n	%	n	%	n	%
Real-time PCR						
Positive	15	(83,3)	3	(16,7)	18	(13,3)
Negative	1	(0,9)	116	(99,1)	117	(86,7)
Total	16	(11,9)	119	(88,1)	135	(100,0)

^a A total of 135 respiratory fluid samples of patients with clinical suspicion of PJP were tested.

Conclusion: The detection of *Pneumocystis* DNA in clinical specimens by using the MycAssay *Pneumocystis* – real-time PCR may be important for HIV-negative immunocompromised patients, who develop often PJP with many fewer organisms than HIV-infected patients.

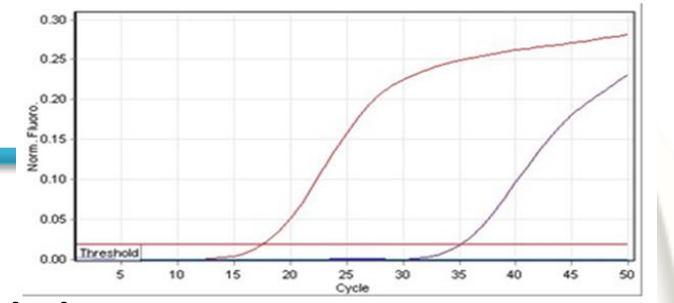
EV0987



T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

References:

1. Hauser PM, et al. Multicenter, Prospective Clinical Evaluation of Respiratory Samples from Subjects at Risk for *Pneumocystis jirovecii* Infection by Use of a Commercial Real-Time PCR Assay. J Clin Microbiol. 2011;49: 1872–1878.
2. McTaggart, et al. Validation of the MycAssay *Pneumocystis* Kit for Detection of *Pneumocystis jirovecii* in Bronchoalveolar Lavage Specimens by Comparison to a Laboratory Standard of Direct Immunofluorescence Microscopy. Real-Time PCR or Conventional PCR. J Clin Microbiol. 2013;50: 1856-1859.



İndüklenmiş balgam veya BAL'dan direkt boyama yöntemlerinin duyarlılığı düşük.

DFA da duyarlılığı belirgin bir şekilde artıramıyor.

PCR'ın duyarlılığı 100%

Problem P. jiroveci ile kolonize olan hastalardaki yanlış pozitif sonuçlar(8,9-26,9%).

Kantitatif PCR yöntemi kullanılması veya serum beta-D-glucan bakılması, kolonizasyonu enfeksiyondan ayırmada yardımcı olabilir.



[Tapparel L et al. Rev Med Suisse. 2010 Oct 13;6\(266\):1922-5.](#)

Diagnostic of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in a non HIV patient.

The Role of Mycology Laboratory in Management of *Fusarium* Keratitis

P1464

Didem Özgür¹, Nilgün Karabıçak², Sahin Direkel³, Ufuk Adıgüzel⁴, M. Atila Argın⁴, Z. Feza Otağ¹

¹Mersin University School of Medicine, Department of Medical Microbiology, ⁴Ophthalmology, Mersin, Turkey

²Public Health Institution of Turkey, Mycology Reference Laboratory, Ankara, Turkey.

³Giresun University School of Medicine, Department of Medical Microbiology, Giresun, Turkey

Introduction and Purpose

The most frequently isolated *Fusarium* species in infectious keratitis, which is one of the most frequent causes of unilateral blindness all over the world, become intact epithelium with a wide variety of traumas such as leaf/branch strike. In this study on the *Fusarium* species which are reported to be able to change depending on the resistance or even isolate, it is aimed to share the methods used in early diagnosis of the eye samples sent from the mycology laboratory fungal keratitis.

Methods

Corneal scraping, conjunctival swabs and intravitreal fluids were sent from the eye clinic between 2007-2016 which were cultivated in Sabouraud dextrose agar, sheep blood and chocolate agars, aerobically incubated at 35° C. The isolates were identified using conventional methods (both macroscopic and microscopic characteristics on potato dextrose agar) and were confirmed by DNA-PCR-based molecular assays (e.g., sequencing of the internal transcribed spacer 1 [ITS1] and ITS2 regions). Fungal elements were investigated in Gram preparations which were prepared on 1, 2 and 3 days of the same swab. Susceptibility testing was performed for amphotericin-B, itraconazole, voriconazole, posaconazole and terbinafine by using broth microdilution method according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M 38-A2) and interpreted according to epidemiological cutoff values (ECVs) criteria. Categorical endpoints have not been established for *Fusarium* spp. In the absence of specific CPBs, establishing

Results

The growth was determined in 104 (26.9%) of total 387 ocular samples which were sent in nine years. Filamentous fungal growth was detected 13 of them (3.3%). The growth of *Fusarium* SC has been identified in 10 patients who have corneal trauma history. *F. solani* SC (n=7) and *Foxysporum* SC (n=3) were defined by sequence analysis in these patients. Typical macroconidia and hyphae of *Fusarium* species were observed in Gram preparations made on the first day of 3 patients, 2nd day of 5 patients and 3rd day of 2 patients in the microscopic examinations of clinical specimens. Thus, the patient was diagnosed early without waiting for the long incubation period. According to ECV values of *Fusarium* SC (Ingroff AE, 2016. Antimicrob Agents Chemother), all isolates were evaluated as wild type for amphotericin-B, itraconazole, voriconazole, and posaconazole. High MIC values was determined for terbinafine.

Table 1: Demographic and clinical characteristics of *Fusarium* keratitis

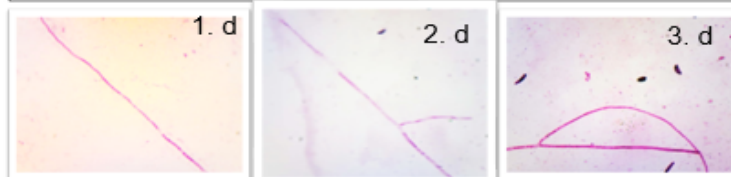
No	Age / Sex	Month/ Year	Species	Gram (+) on day	Trauma	Eye	Risk Factor	Antifungal Treatment
1	57/F	11/07	FSSC	2	Soil	Right	DM	AMB
2	80/M	11/12	FOSC	1	Not remembered	Right	DM	AMB
3	66/M	10/13	FOSC	3	Olive Tree Branch	Right	-	AMB, VOR
4	49/F	08/13	FOSC	2	Not remembered	Left	-	No treatment
5	63/F	11/14	FSSC	2	Not remembered	Right	-	VOR
6	30/M	09/14	FSSC	3	Not remembered	Right	-	VOR, AMB
7	18/M	09/14	FSSC	2	VCM	Left	-	No treatment
8	14/F	04/15	FSSC	1	Soil	Right	-	AMB, VOR
9	39/M	04/16	FSSC	2	Cigarette ash	Left	-	VOR
10	49/M	05/16	FSSC	1	Not remembered	Right	-	VOR, AMB

FSSC: *Fusarium solani* Species Complex; FOSC: *Fusarium oxysporum* Species Complex
AMB: Amphotericin B; VOR: Voriconazole; VCM: Vegetable-contaminated material

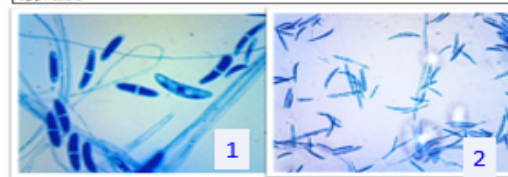
Table 2: ECV of AMB, ITR, POS, VOR for two clinically relevant *Fusarium* SC and MIC range (n=10) as determined by the CLSI broth microdilution method after 48-hour incubation

Species	Antifungal agent	ECV (µg/ml)		MIC range (µg/ml)
		WT	Non-WT	
FOSC (n=3)	AMB	≤8	>8	0.5-8
	ITR	≤32	>32	2-16
	POS	≤8	>8	0.5-8
	VOR	≤16	>16	0.5-1
	TER	NA	NA	2-8
FSSC (n=7)	AMB	≤8	>8	1-8
	ITR	≤32	>32	16-16
	POS	≤32	>32	1-16
	VOR	≤32	>32	1-16
	TER	NA	NA	16-16

FSSC: *Fusarium solani* Species Complex; FOSC: *Fusarium oxysporum* Species Complex; AMB: Amphotericin B; VOR: Voriconazole; POS: Posaconazole; ITR: Itraconazole; TER: Terbinafine; WT: Wildtype; Non-WT: Non-wildtype; NA: Not applicable



Gram preparations on days 1.d, 2.d and 3.d of eye samples, 100X



LPCB preparations from SDA 1. *Fusarium* SC 2. *Foxysporum* SC



T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü





Türkiye’de Amerika Birleşik Devletleri Kaynaklı Bir Koksidiyoidomikoz Olgusu*

A Case of Coccidioidomycosis in Turkey Imported from the United States of America

Seniha BAŞARAN¹, Nilgün KARABIÇAK², Serap ŞİMŞEK YAVUZ¹, Nathan P. WIEDERHOLD³,
Seda ŞAFAK⁴, Aysun SARIBUĞA¹, Deanna A. SUTTON³, Züleyha BİNGÖL⁵,
Atahan ÇAĞATAY¹, Halit ÖZSÜT¹, Zeki KILIÇASLAN⁵, Haluk ERAKSOY¹

¹ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

¹ Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey.

² Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı, Ankara.

² Public Health Institution of Turkey, Mycology Reference Laboratory, Ankara, Turkey.

³ Teksas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Merkezi, Patoloji Bölümü, San Antonio, Teksas, ABD.

³ University of Texas Health Science Center San Antonio, Department of Pathology, San Antonio, Texas, USA.

⁴ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul.

⁴ Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Istanbul, Turkey

⁵ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul.

⁵ Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Chest Diseases, Istanbul, Turkey.

* Bu çalışma, XVII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi
(25-29 Mart 2015, Antalya)’nde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 20.12.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 07.04.2017

ÖZ

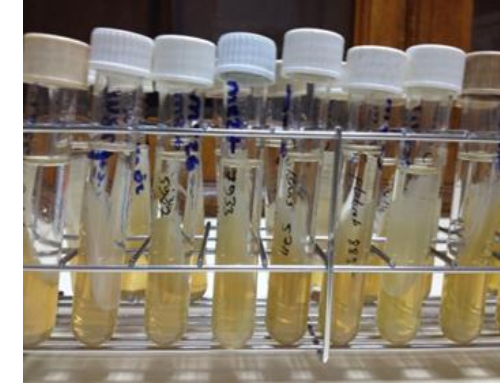
Coccidioides immitis veya *Coccidioides posadasii*’nin neden olduğu koksidiyoidomikoz, endemik olduğu bölgeler dışında nadir görülen bir enfeksiyon hastalığıdır. Bu olguda, Türkiye’de tanımlanan üçüncü ithal koksidiyoidomikoz olgusu sunulmuştur. Otuz yaşındaki erkek hasta hastanemize ateş ve göğüs tüpünden



- Steril suda, oda ısısında



- Mineral yağı ile kaplanarak, oda ısısında



- Dondurma, -70 °C





Evaluation of the Viabilities and Stabilities of Pathogenic Mold and Yeast Species Using Three Different Preservation Methods Over a 12-Year Period Along with a Review of Published Reports

Nilgün Karabıçak · Onur Karatuna · Işın Akyar

Received: 30 June 2015 / Accepted: 22 January 2016 / Published online: 10 February 2016
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2016

Abstract Serious mycological work requires a reliable source of cultures that are maintained under safe long-term storage. In this study, 1186 clinical fungal isolates consisting of molds (20 species in 11 genera) and yeasts (21 species in seven genera) maintained in water, under mineral oil at room temperature and cryopreserved at -80°C for periods ranging from 1 to 12 years, were evaluated for their viabilities and stabilities. The strains were subcultured onto either Sabouraud dextrose agar or potato dextrose agar to determine the viabilities and purities. The stabilities of the dermatophytes were investigated using urease test medium, the *Trichophyton* agar test and morphological examination. The stabilities of yeasts were evaluated by microscopic morphology and by determining the

oil and by freezing, were assessed as 94.7, 82.0 and 97.4 %, respectively. Viability was generally unrelated to the duration of storage. More stable and consistent growth was achieved after storage in water and freezing compared with mineral oil preservation. Our results demonstrate that the procedure for maintaining fungal cultures in water is a simple and inexpensive method, next to cryopreservation, and that both can be reliably used for the long-term preservation of most fungal isolates.

Keywords Fungi · Preservation methods · Cryopreservation · Long-term viability



Tür	Su kültürü	Mineral yağı ile kaplama	-80 °C dondurma
Maya*			
<i>Candida albicans</i>	239/239	235/239	239/239
<i>Candida dubliniensis</i>	2/4	1/4	3/4
<i>Candida glabrata</i>	78/79	67/79	78/79
<i>Candida guilliermondii</i>	5/5	3/5	5/5
<i>Candida kefyr</i>	28/28	25/28	28/28
<i>Candida krusei</i>	27/27	21/27	27/27
<i>Candida lipolytica</i>	0/1	0/1	1/1
<i>Candida lusitanae</i>	16/16	8/16	16/16
<i>Candida parapsilosis</i>	62/63	47/63	62/63
<i>Candida pelliculosa</i>	11/11	8/11	11/11
<i>Candida tropicalis</i>	70/71	68/71	71/71
<i>Candida zeylanoides</i>	3/3	2/3	3/3
<i>Cryptococcus neoformans</i>	3/3	2/3	3/3
<i>Cryptococcus uzbekistanensis</i>	1/1	1/1	1/1
<i>Geotrichum candidum</i>	1/1	1/1	1/1
<i>Saprochaete capitata</i>	1/1	0/1	1/1
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	3/3	3/3	3/3
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1/1	0/1	1/1
<i>Trichosporon asahii</i>	3/3	2/3	3/3
<i>Trichosporon cutaneum</i>	6/6	5/6	6/6
<i>Trichosporon mucoides</i>	1/1	1/1	1/1
Toplam maya* (%)	561/567 (98.9)	500/567 (88.2)	564/567 (99.5)



T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Tür	Su kültürü	Mineral yağı ile kaplama	-80 °C dondurma
Maya*			
Toplam maya* (%)	561/567 (98.9)	500/567 (88.2)	564/567 (99.5)
Küf			
Moniliaceous küfler			
<i>Aspergillus clavatus</i>	2/2	1/2	2/2
<i>Aspergillus flavus</i>	1/1	1/1	1/1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	11/14	10/14	14/14
<i>Aspergillus nidulans</i>	1/1	1/1	1/1
<i>Aspergillus niger</i>	5/6	6/6	6/6
<i>Fusarium spp.</i>	1/2	2/2	2/2
<i>Mucor spp.</i>	2/2	1/2	1/2
<i>Rhizopus spp.</i>	1/2	0/2	2/2
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	2/3	1/3	3/3
Dematiaceous küfler			
<i>Alternaria spp.</i>	2/2	1/2	1/2
<i>Curvularia spp.</i>	1/1	0/1	0/1
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	1/1	1/1	1/1
Dermatophytes			
<i>Epidermophyton floccosum</i>	2/6	1/6	4/6
<i>Microsporum audouinii</i>	0/1	0/1	1/1
<i>Microsporum canis</i>	16/19	10/19	19/19
<i>Microsporum gypseum complex</i>	0/1	0/1	1/1
<i>Trichophyton interdigitale</i>	144/151	133/151	146/151
<i>Trichophyton rubrum</i>	321/350	263/350	334/350
<i>Trichophyton tonsurans</i>	48/51	40/51	50/51
<i>Trichophyton violaceum</i>	1/3	0/3	2/3
Toplam küf (%)	562/619 (90.8)	472/619 (76.3)	591/619 (95.5)
Toplam viabilite oranı (%)	1123/1186 (94.7)	972/1186 (82.0)	1155/1186 (97.4)



2018 KALKINMA BAKANLIĞI PROJE ÖNERİLERİ

Projelerin Yeri: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK), Sağlık Mahallesi A. Adnan Saygun 2 Cad No: 55
06100 Sıhhiye Çankaya/ANKARA

Projelerin Sektörü: Halk Sağlığı

Projelerin Türü: Ar-Ge

Projeleri Yürütecek Kurum/Kuruluş: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK)

Proje Adı: Klinik önemi olan insan patojeni küflerin hızlı ve güvenilir tür tayini için 7 hedef genli DNA dizi analizi ile tür tayini yönteminin geliştirilmesi

Proje Süresi: 1 yıl

Proje Bütçesi:

Proje Sorumlusu: Nilgün Karabıçak

Projenin Amacı, Gerekçesi ve Hedefleri: Önerilen proje ile küf mantarlarının tür tayini için, fungal sistematığa uygun olduğu bilinen ITS ve IGS1 (Schoch ve ark, 2012), Elongasyon faktörü 1 α (EF-1 α) (Peterson, 2006), β -Tubulin (Peterson ve ark, 2005), Calmodulin (Perrone ve ark, 2004), RNA Polimeraz I (RPB1) ve RNA polimeraz II (RPB2) (Lutzoni ve ark, 2004) lokuslarını hedefleyen primer ve prob setleri tasarlanacaktır. Birden fazla hedef gen analizi ile kesin tür tespiti de gerçekleştirilmiş olacaktır. Geliştirilen yöntem, primerlerin hedeflediği 7 farklı lokusun DNA dizi analizi ile de doğrulanacaktır.



T.C. Sağlık Bakanlığı
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

teşekkürler...

Mikoloji Referans Laboratuvarı

Adres: HSGM, MRLBÜDB, E blok, 2.kat, 06100, Sıhhiye, Ankara

e-posta: aysegl_ugur@hotmail.com

nihalalem@hotmail.com

gunesmehmt@gmail.com>

nilgunkarabicak@hotmail.com

Telefon: 0312 5655592

0312 5655504

