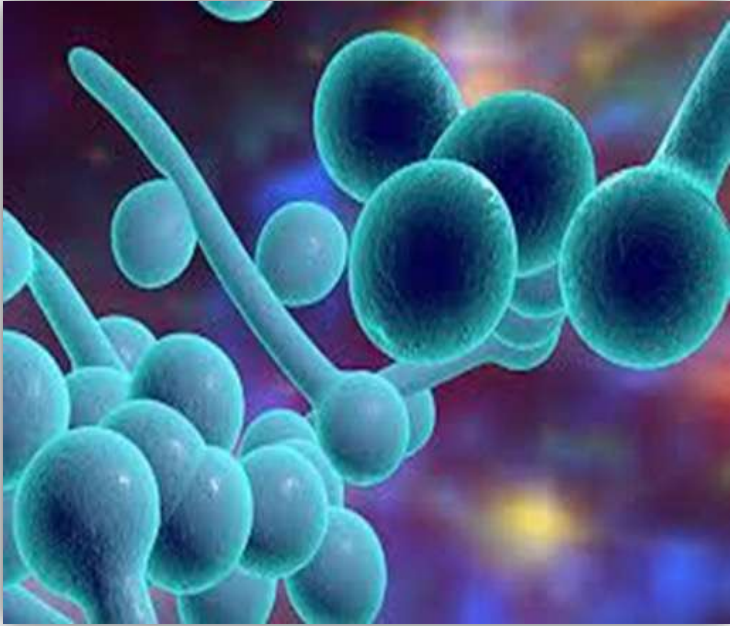


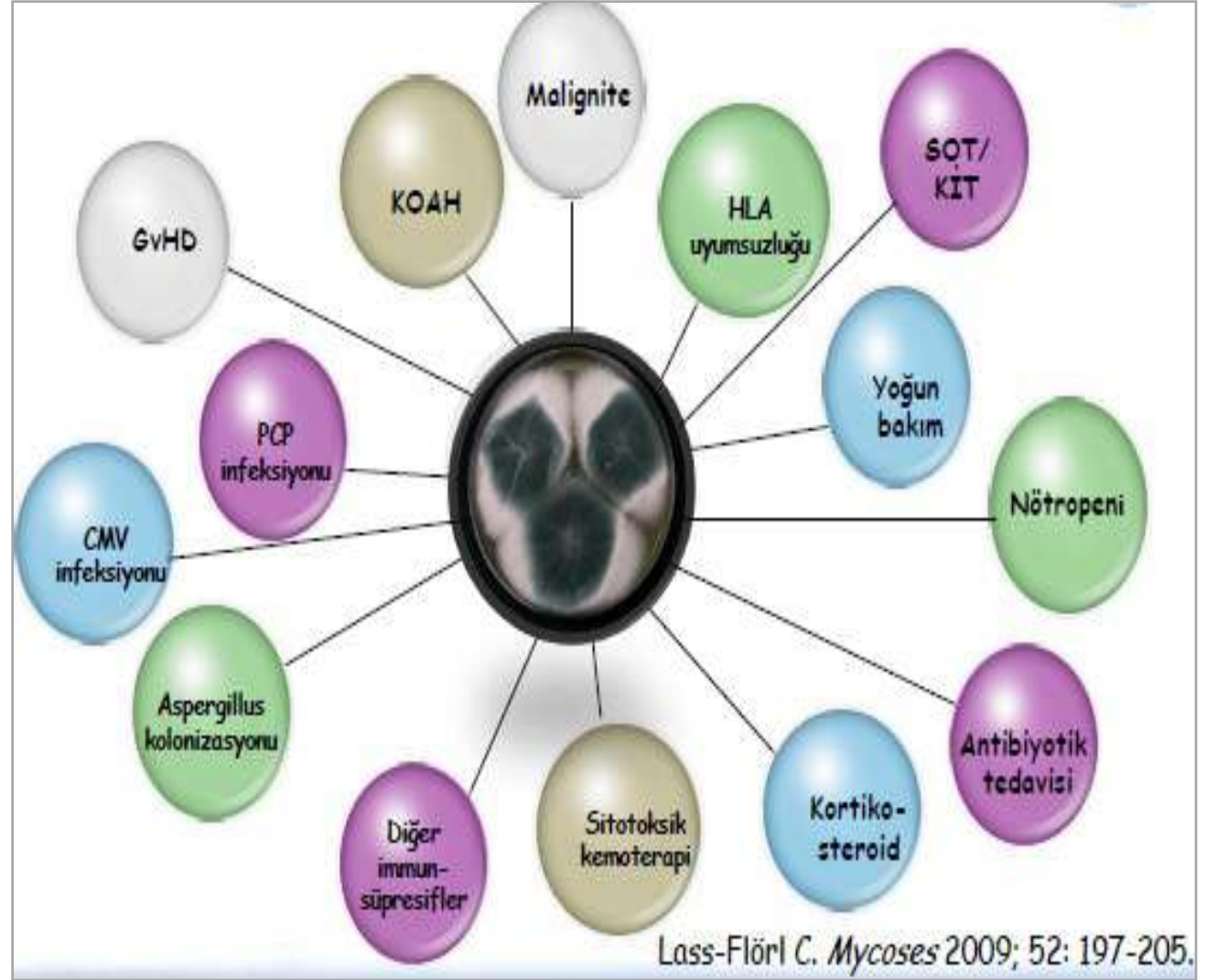
# İnvaziv Fungal Enfeksiyonlarda Ne Değişti? Güncel Tanı ve Yaşanan Zorluklar



**Dr Beyza Ener**  
**Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
**10.03.2022**  
**Belek-Antalya**

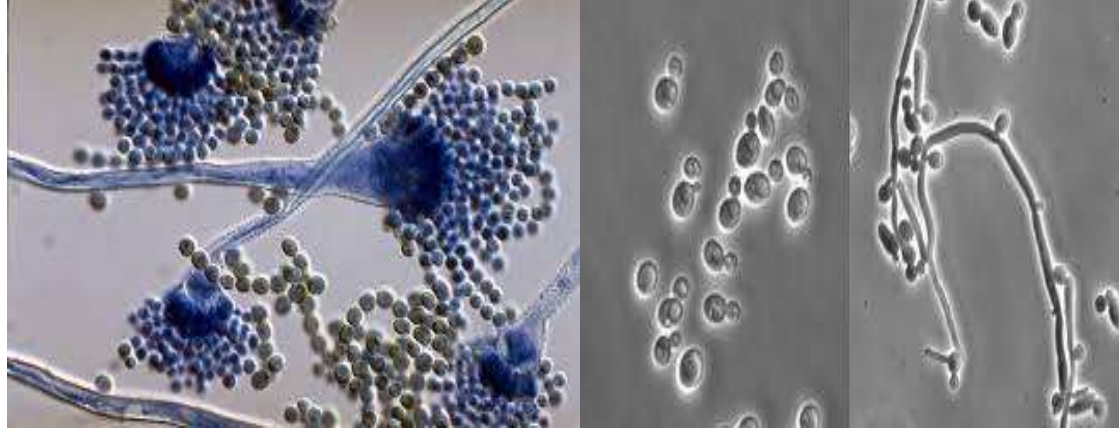
# İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar (İFE)

- Hayatı tehdit eden fırsatçı enfeksiyonlar
  - Kanser hastaları
  - Nakil olan hastalar
    - Nötropeni, mukoza bariyerinin bozulması yoğun antibiyotik ve kortikosteroidler
  - Otoimmün hastalığı olanlar
    - İmmünsüpresyon yapan ilaçlar ve kortikosteroidler
  - Kronik hastalığı olanlar
    - Kronik granülomatöz hst
    - Kronik akciğer hst
    - Kronik renal hst..vs
    - Kronik CMV enfeksiyonları
  - Yoğun bakım hastaları
    - Yoğun bakım ihtiyacı olan büyük cerrahi geçirenler
    - Yoğun bakım ihtiyacı olan influenza ve covid-19 hastaları



# İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar

- *Candida* türleri
- *Aspergillus* türleri
- *Pneumocystis jirovecii*
- *Cryptococcus neoformans*



- *Candida* dışı maya mantarları
- *Aspergillus* dışı küf mantarları

*Trichosporon* türleri  
*Malassezia* türleri  
*Geotrichum candidum*  
*Saprochaete capitata*

*Mucorales* takımı  
*Fusarium* türleri  
*Pseudallesheria/Scedosporium*

# İnvaziv Fungal Enfeksiyonlarda Tanı

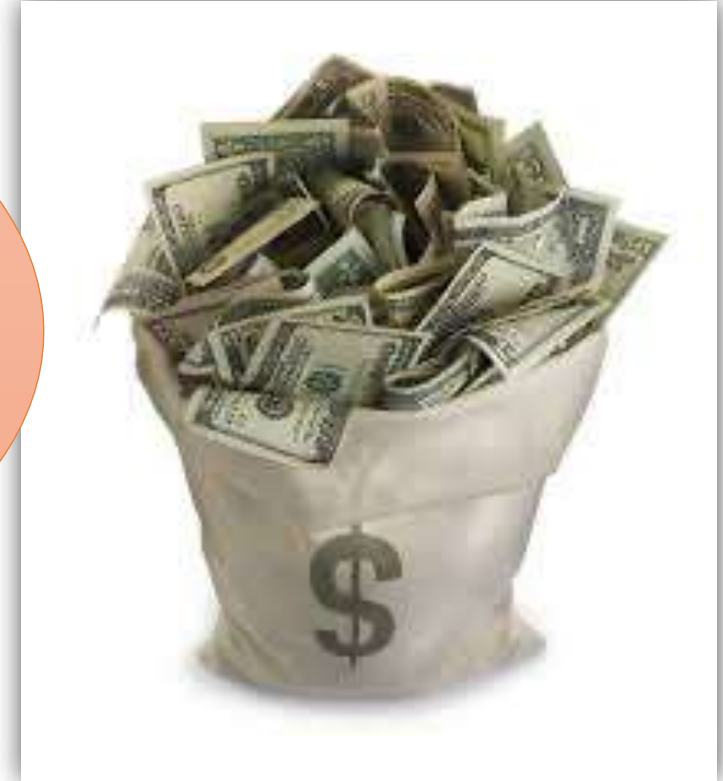
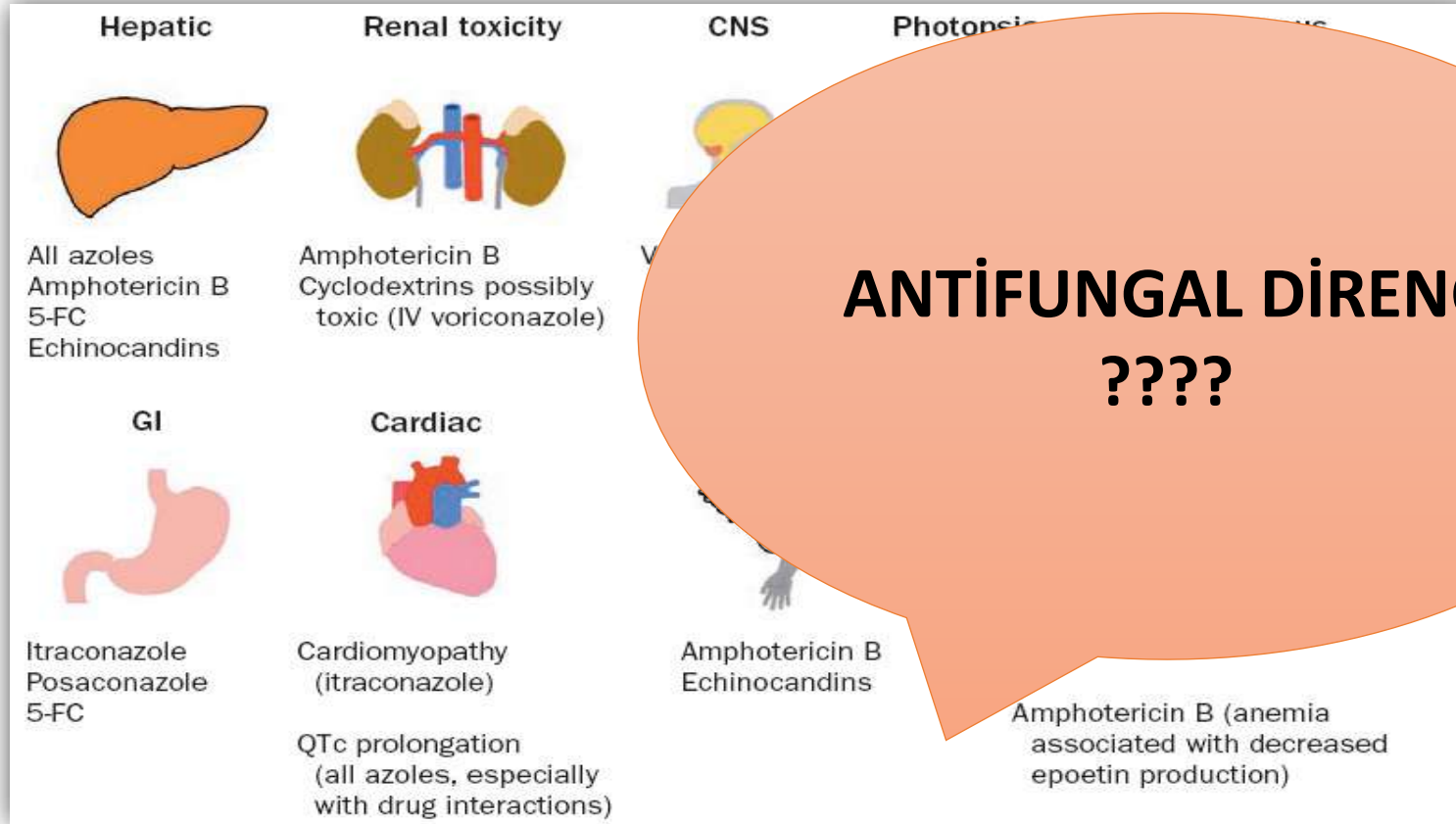
Tanı → ZOR

Erken tanı → daha da ZOR

**İnvaziv fungal enfeksiyonlarda  
tedaviye erken başlanması  
başarıyı arttırıyor**



# Bu nedenle invaziv fungal enfeksiyonlarda yoğun ampirik tedavi uygulanıyor



**CİDDİ YAN ETKİLER**

**ARTMIŞ MALİYET**

# İFE açısından yüksek riskli olan hasta

## Tanı

### Klinik bulgular

AB tdv rağmen düşmeyen ateş

### İFi açısından odak

Solunum yolları

GIS , katater...vs

### Görüntüleme Yöntemleri

Toraks BT

Abdominal US

### Etiyolojiye Yönelme

Kan kültürleri, Doku, Solunum örnekleri

DMİ ve Kültür

Diğer yöntemler

# Tanıda Radyolojik Bulgular/Akciğer Bilgisayarlı Tomografi (BT)

• Olası

**Sadece BT bulguları tedavi kararı vermek için yeterli mi?**

- Rutinde çoğunlukla evet
  - Kolay, hızlı, non-invaziv
- Aşırı antifungal kullanımına yol açar
  - Toksisite
  - Direnç
  - İlaç etkileşimi
  - Maliyet

mez

## Chest CT scans are frequently abnormal in asymptomatic patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia

### ABSTRACT

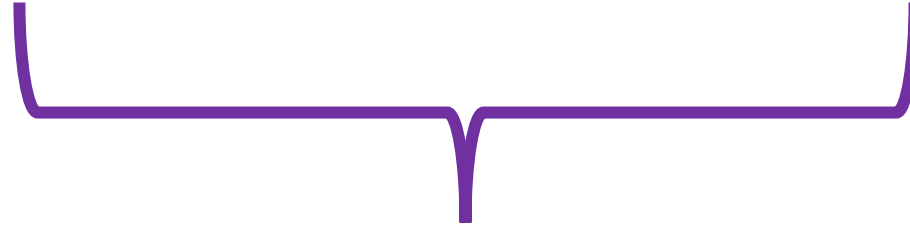
Chest computed tomography (CT) findings of nodules, ground glass opacities, and consolidations are often interpreted as representing invasive fungal infection in individuals with febrile neutropenia. We assessed whether these CT findings were present in asymptomatic individuals with acute myeloid leukemia (AML) at low risk of invasive fungal disease. A retrospective study of consecutive asymptomatic adult patients with newly diagnosed AML over a 2-year period was performed at a tertiary care oncology center. Radiology reports of baseline chest CTs were reviewed. Of 145 CT scans, the majority (88%) had pulmonary abnormalities. Many (70%) had one or both of unspecified opacities (52%) and nodules (49%). Ground glass opacities (18%) and consolidations (12%) occurred less frequently. Radiologists suggested pneumonia as a possible diagnosis in 32% ( $n = 47$ ) of scans. Chest CT may result in over-diagnosis of invasive fungal disease in individuals with febrile neutropenia if interpreted without correlation to the patients' clinical status.



# Etiyolojik Tanıda Konvansiyonel Yöntemler

## Altın Standart

- Kültür
- Direkt Mikroskopik İnceleme



- Uygun örnek almak
- Örnekleri uygun işlemek
- Sonuçları doğru yorumlamak

# Fungal Enfeksiyonlar İçin Uygun Örnekler

## • Biyopsi örnekleri

- Nazal, sizonazal, deri, karaciğer, MSS.....vs
- Steril cerrahi koşullarda alınmalı
- Kesinlikle formol gibi fiksatif konulmamalı
- Gazlı bez içinde gönderilmemeli
- Steril bir kap içine alınır
- Kurumasını önlemek için steril serum fizyolojik eklenebilir

## • Kan, kemik iliği ve steril vücut sıvıları

- Alınırken kontaminasyon önlenmeli
- Uygun miktarda alınmalı
- Steril vücut sıvıları 2ml'nin üzerinde olmalıdır
- Oda ısısında saklanmalı

## • Aspirasyon örnekleri

- Paranasal sinüs aspirasyon materyali
- Nazal sürüntü örnekleri kullanılmamalıdır

## • Solunum yolu örnekleri (Balgam, DTA, BAL, NBL, gibi)

- Sabah ilk balgam tercih edilir
- BAL örneklerinin miktarı 5-10ml olmalıdır
- Ağız kapalı steril kaplara alınması gerekiyor
- En fazla iki saat oda sıcaklığında tutulabilir
- En fazla 24 saat buzdolabı sıcaklığında tutulabilir

## • İdrar

- Üriner sonda varlığı?
  - *Candida* türleri geçici olarak kolonize
- Kadın hastalarda vajinal kontaminasyon
- Sistemik enfeksiyonlarda mantarların çoğu böbreği tutar
- En fazla iki saat oda sıcaklığında tutulabilir
- En fazla 24 saat buzdolabı sıcaklığında tutulabilir

## • Sürüntü örnekleri uygun değildir

- Sadece *Candida* mukoza enfeksiyonlarında alınabilir
- Çift ekivyonla alınmalıdır

# Direkt Mikroskobi

- Sporlar

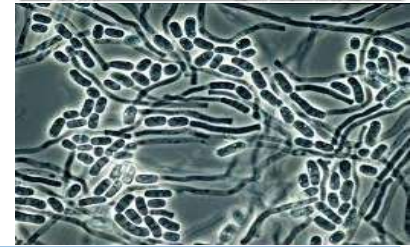
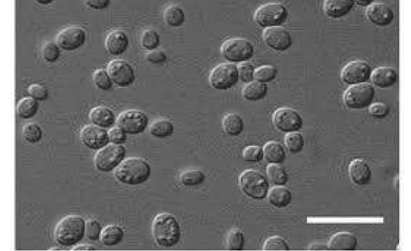
- Blastospor

- Artrospor

- Hifler

Tomurcuklanma

Fragmantasyon



**Antifungal tedavi alındaki hastalarda karakteristik hif yapısı bozulabilir**

- *Mucarales* takımına özgü hifler



# Kültür

## AVANTAJLARI

- Cins ve tür düzeyinde tanımlama
- Kan, steril vücut sıvıları ve biyopsi örneklerindeki üremeler **kesin mantar enfeksiyonu tanısını koyduruyor**
- Antifungal duyarlılık testi şansı

## DEZAVANTAJLARI

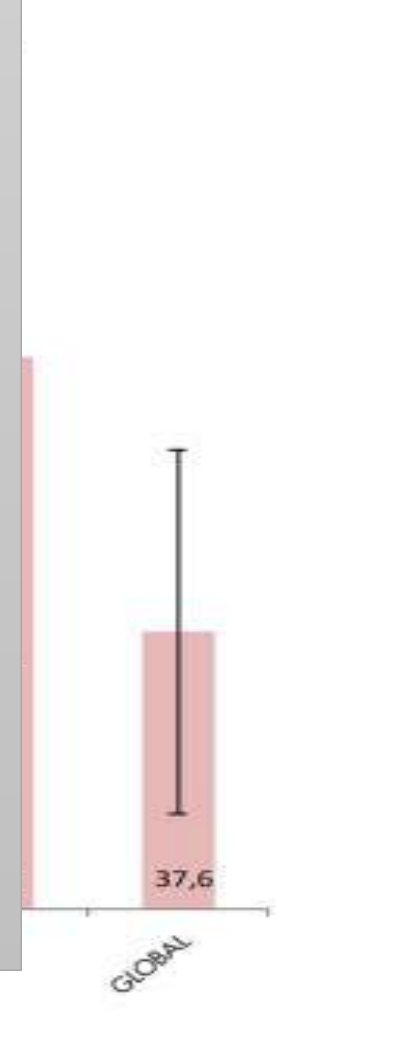
- Duyarlılığı ve özgüllüğü çeşitli faktörlerden etkilenir
  - **Uygun örnek**, doğru işlem
  - Altta yatan hastalık
  - Bazı örneklerdeki üremelerin yorumlanmasındaki güçlükler (eşik değerlerin mevcut olmayışı, enfeksiyon-kolonizasyon ayırımı zor)
- Süre uzun

# İnvaziv Kandidoz

- Derin doku kandidozu **olmadan** sadece kandidemi
    - Katater ilişkili kandidemi iyi bir örnek
  - Derin doku kandidozu ile **beraber** kandidemi
  - Kandidemi **olmadan** derin doku kandidozu
    - Önceden belirlenmemiş bir kandidemi sonucu gelişir
    - İatrojenik olarak *Candida* türünün bölgeye inokülasyonu ile gelişir
      - Abdominal cerrahiden sonra intra abdominal kandidoz
- Kan kültürü
    - Kandidemilerdeki duyarlılığı %40-60
    - Derin doku kandidozunda <%5
  - Doku kültürü
  - B-D-Glukan testi
  - Mannan/Anti Mannan
  - PCR bazlı testler

# Kan kültürlerinde *Candida* türleri ortalama 36-38 saatte

- Sinyal veren şişeden pasaj: 24-48 saat
  - Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) ile tanımlama (10-15 dakika)
- Toplam hastadan örnek alınmasından
  - En erken 40 saat (2 güne yakın)
  - En geç 96-100 saat (4 gün)
- Konvansiyonel tanımlama ve antifungal duyarlılık: 48-72 saat
- Toplamda hastadan örnek alınmasından itibaren:
  - En erken 91 saat (4 gün)
  - En geç >195 saat (8 gün)

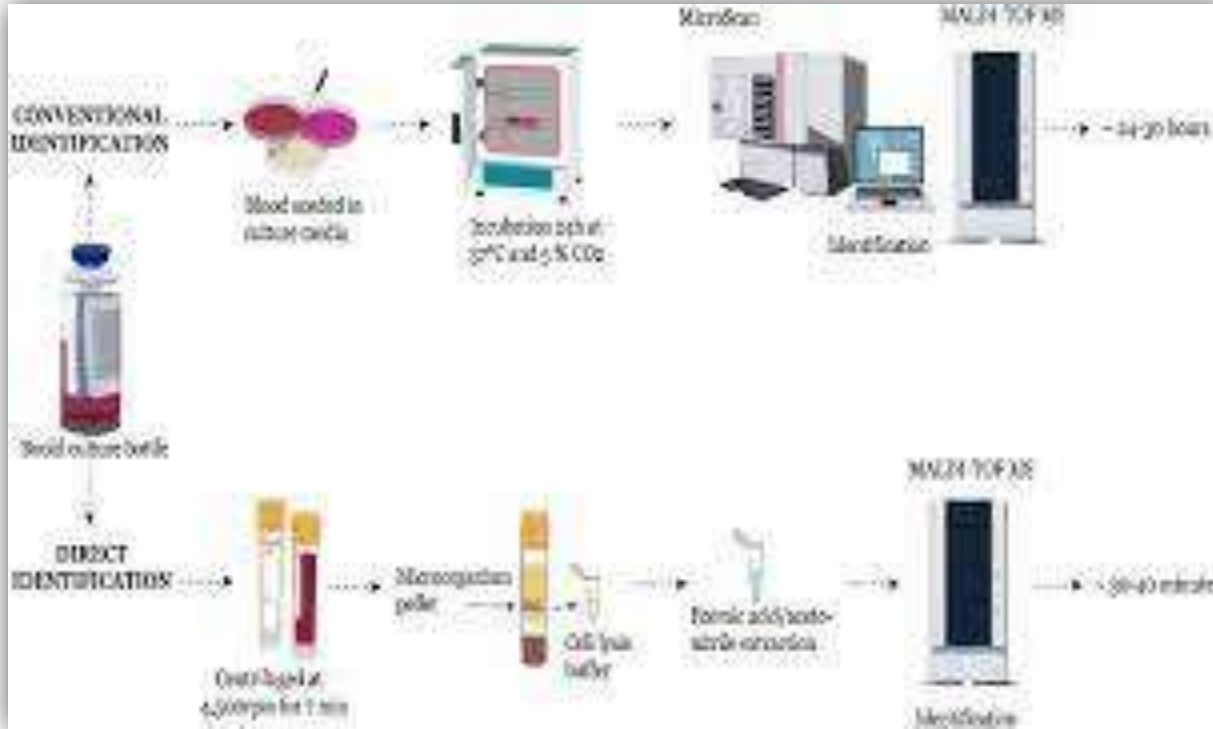




# Kan kültüründeki üremeleri hızlı tanımlama

- Hiç pasaj yapmadan pozitif sinyal veren kan kültür şişesinde yapılan tanımlama

## 1. MALDI-TOF

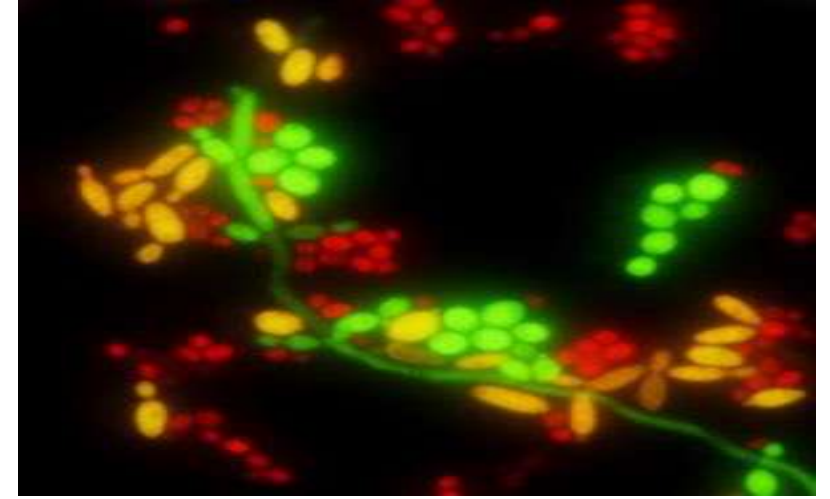


## • MALDI-TOF

- Her iki büyük ticari sistemin protokolü var
- İşlem birçok santrifüj, yıkama ve asit ve alkol ile muamele işlemleri içeriyor
- Yine de yaklaşık 30 dakika
- *C. albicans*'ı oldukça başarılı tanımlıyor
- Diğer türlerde tanımlama düşük
- Polimikrobiyal üremeyi tanımlayamıyor

# Kan kültüründeki üremeleri hızlı tanımlama

- Hiç pasaj yapmadan pozitif sinyal veren kan kültür şişesinde yapılan tanımlama
  1. MALDI-TOF
  2. Peptide Nucleic Acid Fluorescent In-situ Hybridization (PNA-FISH)
    - Yeast Traffic Light PNA FISH™ (AdvanDX; Woburn, MA)
    - PNA'lar DNA ve RNA'ya benzeyen sentetik polimerlerdir
    - Bunlar floresan boya ile işaretleniyorlar ve hedef nükleik asit ile bağlanıyorlar
    - Floresan mikroskopta inceleniyor



- Pozitif sinyalden sonra 90 dakika içinde sonuç veriyor
- FDA onaylı
  - *C. albicans*/*C. parapsilosis* yeşil
  - *C. tropicalis* sarı
  - *C. krusei*/*C. glabrata* kırmızı

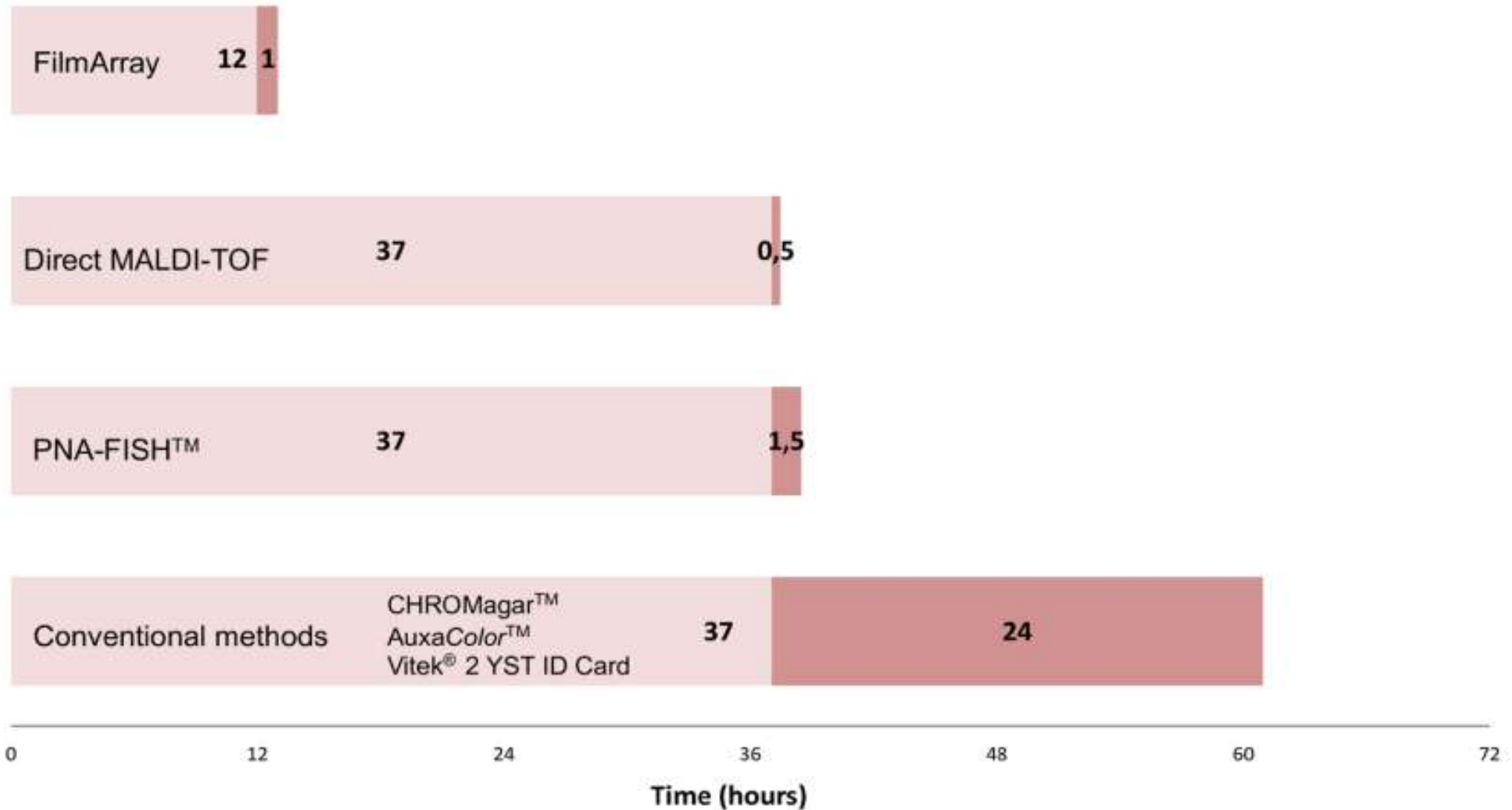
# Kan kültüründeki üremeleri hızlı tanımlama

- Hiç pasaj yapmadan pozitif sinyal veren kan kültür şişesinde yapılan tanımlama
  1. MALDI-TOF
  2. Peptide Nucleic Acid Fluorescent In-situ Hybridization (PNA-FISH)
    - Yeast Traffic Light PNA FISH™ (AdvanDX; Woburn, MA)
  3. Multiplex-PCR platforms (Filmarray)
    - Bir çok bakterinin yanında *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*'i tanıyabiliyor
    - Özgüllük ve duyarlılığı yüksek
    - Bir saat gibi kısa sürede tanımlama yapabiliyor
    - Polimikrobiyal enfeksiyonları tanıyor



FilmArray™ multipleks PCR sistemi için Kan Kültürü Tanımlama (ID) Paneli (bioMérieux)

## BLOOD CULTURE BASED METHODS



# Kandidemi ve invaziv kandidozda kültür dışı yöntemler

- Biyo-belirteç dediğimiz zaman mantarlara ait çeşitli yapıların kültür dışı yöntemlerle belirlenmesi anlaşılır
- Tekniklerin performansı her merkez veya her hasta tipinde aynı değil
- Sonuçların yorumlanması her zaman çok kolay olmamakta

## Kandidemi ve invaziv kandidozda biyo-belirteçler

Mannan/Anti-mannan testleri

*Candida* germ tüp testi (GAGTA)

1,3  $\beta$ -D Glukan Testi

Özgül nükleik asitler

T2Candida nanodiagnostik panel

# Mannan Antijeni ve Anti-mannan antikoru

- Mannan *Candida* hücre duvarının önemli bir molekülü
- ELISA yöntemi ile serum/plazma örneklerinde aranıyor
- Mannan antijenemisi, anti-mannan varlığında azalıyor
  - Sadece Mannan testinin geri ödemesi var
- Kombine kullanımı
- Seri kullanımı
  - ECIL kronik dissemine kandidoz ve kandidemi beraber kullanılması (BIII ve CII)
  - ESCMID: Kandidemi ve kronik dissemine kandidozda «recommended II»

# 14 çalışma, 453 hasta, 767 kontrol

|            | Mannan Ab | Mannan Ag | İkisi beraber |
|------------|-----------|-----------|---------------|
| Duyarlılık | %58       | %59       | %83           |
| Özgüllük   | %93       | %83       | %86           |

European Conference on Infections  
in Leukemia (ECIL)

- ECCMID 2011
- Mikulska M et al. Crit Care 2010



## Tüm Hastalar (128 hasta)

|                   | Duyarlılık | Özgüllük | PPV  | NPV  |
|-------------------|------------|----------|------|------|
| Mannan Ag         | 31,9       | 76,8     | 63,9 | 46,7 |
| Anti-mannan Ab    | 81,9       | 46,4     | 66,3 | 66,7 |
| Her ikisi (+)     | 20,8       | 89,3     | 48,4 | 46,7 |
| Herhangi biri (+) | 93         | 33,9     | 64,4 | 88,1 |

# Hasta Gruplarına göre duyarlılık

|                                        | Mannan Ag (+) | Mannan Ab (+) |
|----------------------------------------|---------------|---------------|
| Nötropenik hasta (9)                   | 6 (%66,7)     | 2 (%22,2)     |
| Non-nötropenik hasta (63)              | 17 (%27)      | 57 (%90,5)    |
| Bakteriyemili ve sağlıklı kontrol (56) | 13 (%23,2)    | 30 (%53,6)    |

# Candida germ tüp testi (GAGTA)

- Hasta serumunda anti-miçel antikorlarının indirekt immunfloresan yöntemle tesbit edilmesi
  - Önce *C. albicans* için önerilmiş, daha sonra tüm *Candida* türlerine uygun olduğu görülmüş
  - Ancak özgüllük ve duyarlılığı çok yüksek olmadığından başka testlerle beraber kullanılması önerilmektedir

# (1→3)-β-D-Glukan

## β-D-Glucan as a Diagnostic Adjunct for Invasive Fungal Infections: Validation, Cut-off Development, and Performance in Patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome

Zekaver Odabasi, Gloria Mattiuzzi, Eliby Estey, Hagen Kantarijan, Fumihiko Sasaki, Richard L. Bidge, Paul A.

- Yalancı pozitiflik
- Yüksek maliyet
- Geri ödemesi yok
- Negatif tanı değeri yüksek

|                               |                    |           |             |                                            |                                            |
|-------------------------------|--------------------|-----------|-------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Karageorgopoulos et al., 2011 | HM, SOT            | 16 (2979) | IA, IC, PJP | 0.77 (0.67–0.84)                           | 0.85 (0.80–0.90)                           |
| Lu et al., 2011               | HM, SOT, ICU       | 13 (1708) | IA, IC      | 0.76 (0.67–0.83)                           | 0.85 (0.73–0.92)                           |
| Onishi et al., 2012           | HM, HIV, ICU, SOT  | 36 (5453) | IA, IC, PJP | 0.80 (0.77–0.82)                           | 0.82 (0.81–0.83)                           |
|                               |                    |           |             | 0.96 (0.92–0.98)                           | 0.84 (0.83–0.86)                           |
| Karageorgopoulos et al., 2012 | HIV, HM, HSCT, SOT | 14 (2800) | PJP         | 0.95 (0.91–0.97)                           | 0.86 (0.82–0.90)                           |
| Lamoth et al., 2012           | HM, HSCT           | 6 (1771)  | IA, IC      | 0.50 (0.34–0.65) for 2 consecutive samples | 0.99 (0.97–0.99) for 2 consecutive samples |

## **(1→3)-β-D-Glukan (BDG)**

- Fungitell test (80pg/ml) (**Associates of Cape Cod East Falmouth, MA, USA**)
- Fungitec-G-Test MK (30pg/ml) (Seikagaku Corporation Tokyo, Japan)
- B-G Star (20pg/ml) (**Maruha Corporation, Osaka, Japan**)
- Wako β-Glucan (11pg/ml) (**Wako Pure Chemicals Wako, Japan**)
- Dynamiker Fungus (1-3)-β-D Glucan Assay (95pg/ml) (**Dynamiker Biotechnology Tianjin Co., Ltd, China**)

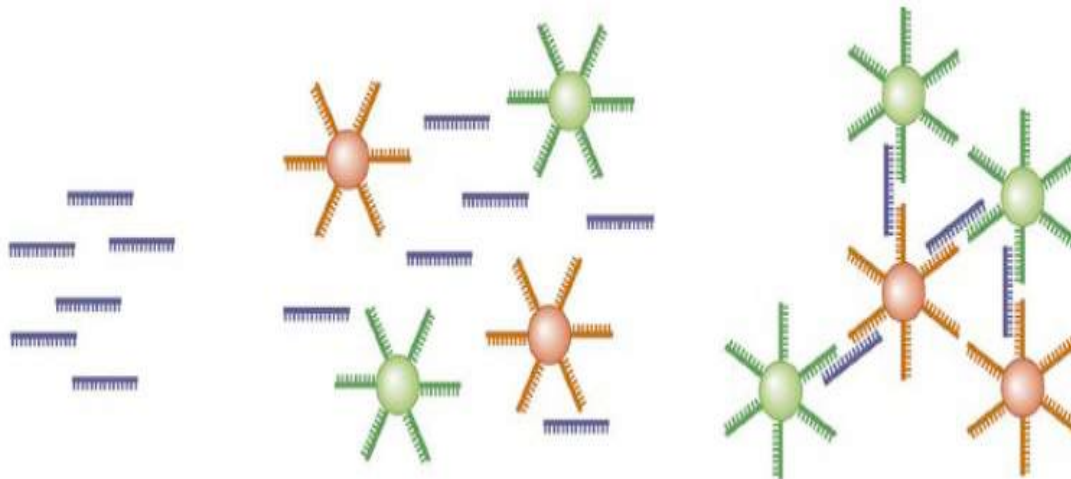
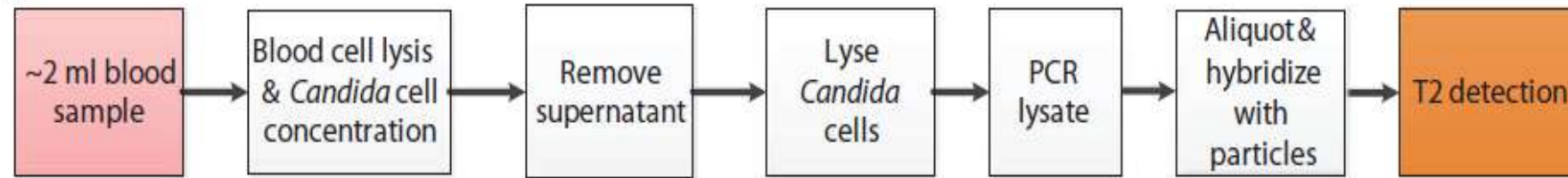
# Özgül nükleik asit ve T2Candida nanodiagnostik panel

- Özgül nükleik asit aranması PCR testleri ile yapılmaktadır
  - In-house testler
  - Ticari sistemler
- Duyarlılık birçok çalışmada >%80
  - Kan kültürü %40-60
- En önemli problem standart valide edilmiş bir yöntemin olmayışı
- Bu sorunu aşmak için önerilen
  - T2Candida nanodiagnostik panel

# T2 Magnetic Resonance Enables Nanoparticle-Mediated Rapid Detection of Candidemia in Whole Blood

Lori A. Neely,<sup>1</sup> Mark Audeh,<sup>1</sup> Nu Ai Phung,<sup>1</sup> Michael Min,<sup>1</sup> Adam Suchocki,<sup>1</sup> Daniella Plourde,<sup>1</sup>

- Ticari bir sistem: T2Candida assay (T2 Biosystems, USA)
- Magnetik bir alanda su moleküllerinin nasıl tepki verdiğini ölçer





# T2Candida nanodiagnostik panel

- Hızlı (3-5 saat) duyarlı ve özgül sonuç
- Saptama limiti; **1 CFU/ml** (geleneksel PCR'da 100-1000CFU/ml)
- FDA onayı, 2014
- Direkt tam kan örneği
- 5 tür; *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.krusei*

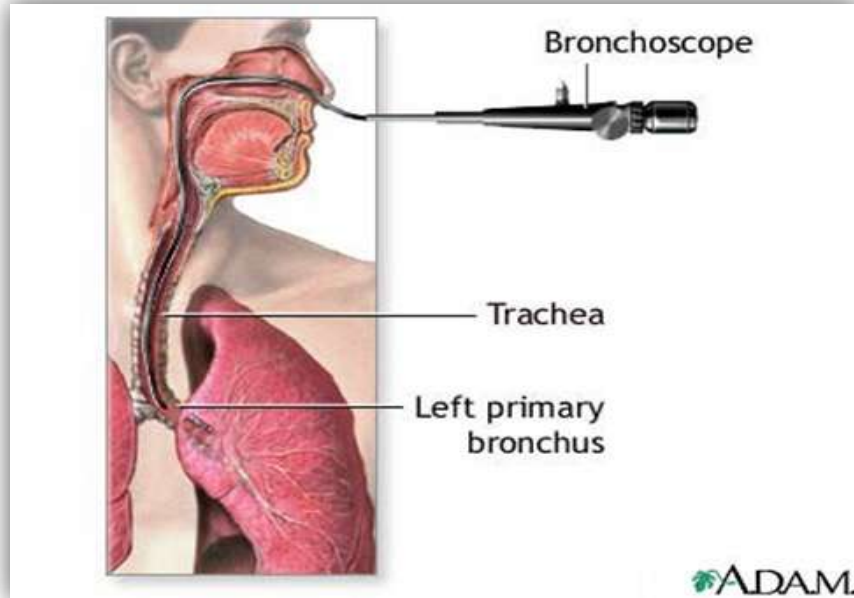
Mylonakis et al. Clinical Infectious Diseases 2015;60(6):892–9

# İnvaziv Aspergilloz

- Tanı invaziv kandidozdan daha zor
- İnvaziv aspergillozda kan kültürlerinde üreme yok
- Kesin tanı için sadece doku örneklerine ihtiyaç var
- Solunum yolu örneklerinin özgüllük ve duyarlılıkları düşük

# İnvaziv Aspergilloz Tanısında Solunum Yolu örnekleri

## Balgam, Derin Trakeal aspirat, Non-bronkoscobik lavaj, Bronkoskopik lavajlar



- Duyarlılık
  - BAL/BL > TAS > Balgam

**ISHAM**  
INTERNATIONAL SOCIETY FOR  
HUMAN AND ANIMAL MYCOLOGY

*Medical Mycology*, 2015, 53, 235–240  
doi: 10.1093/mmy/myu090  
Advance Access Publication Date: 28 January 2015  
Original Article

Original Article

**Sputum and bronchial secretion samples are equally useful as bronchoalveolar lavage samples for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in selected patients**

Pilar Escribano<sup>1,2,3</sup>, Laura Judith Marcos-Zambrano<sup>1,2</sup>,  
Teresa Peláez<sup>1,2,3,4</sup>, Patricia Muñoz<sup>1,2,3,4</sup>, Belén Padilla<sup>1,2,3</sup>,  
Emilio Bouza<sup>1,2,3,4</sup> and Jesús Guinea<sup>1,2,3,4,\*</sup>

# Kan Galaktomannan

- *Aspergillus* türlerinin hücre duvarında bulunuyor ve aktif üreme esnasında dış ortama salgılanabiliyor
- Pfeiffer, C. D., Fine, J. P., and Safdar, N. (2006). Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. Clin. Infect. Dis. 42, 1417–1727. doi: 10.1086/503427
  - Hematolojik maliniteli hastalar
  - Duyarlılık %61
  - Özgüllük %93
- Leeflang, M. M. G., Debets-Ossenkopp, Y. J., Wang, J., Visser, C. E., Scholten, R. J. P. M., Hooft, L., et al. (2015). Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. Cochrane Database Syst. Rev. 2015:CD007394. doi: 10.1002/14651858.CD007394.pub2
  - Hematolojik maliniteli hastalar
  - Duyarlılık %78
  - Özgüllük %89

# Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline

| Population                                                                                                                    | Intention                    | Intervention                                            | SoR    | QoE      | Comment                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Ref.              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------------------|--------|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Patients with prolonged neutropenia or allogeneic stem cell transplantation recipients <b>not on mould-active prophylaxis</b> | Prospective screening for IA | GM in blood <sup>a</sup><br>Draw samples every 3–4 days | A<br>C | I<br>III | Highest test accuracy requiring two consecutive samples with an ODI $\geq 0.5$ or retesting the same sample<br>Prospective monitoring should be combined with HRCT and clinical evaluation                                                                                                                                     | [82,94,390–394]   |
| Patients with prolonged neutropenic or allogeneic stem cell transplantation recipients <b>on mould active prophylaxis</b>     | Prospective screening for IA | GM in blood <sup>a</sup>                                | D      | II       | Low prevalence of IA in this setting with consequently low PPV of blood GM test<br>Prophylaxis may have a negative impact on sensitivity of the test or the low yield may be due to decreased incidence of IA                                                                                                                  | [395,396]         |
| Patients with a haematological malignancy                                                                                     | <u>To diagnose IA</u>        | GM in blood <sup>a</sup>                                | A<br>B | II<br>II | Significantly lower sensitivity in non-neutropenic patients                                                                                                                                                                                                                                                                    | [319,391,397,398] |
| • Neutropenic patients                                                                                                        |                              |                                                         |        |          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                   |
| • Non-neutropenic patients                                                                                                    |                              |                                                         |        |          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                   |
| ICU patients                                                                                                                  | To diagnose IA               | GM in blood <sup>a</sup>                                | C      | II       | Better performance in neutropenic than in non-neutropenic patients                                                                                                                                                                                                                                                             | [89,399]          |
| Solid organ recipients                                                                                                        | To diagnose IA               | GM in blood <sup>a</sup>                                | C      | II       | Low sensitivity, good specificity<br>Most data for lung SOT                                                                                                                                                                                                                                                                    | [319,400,401]     |
| Any other patient                                                                                                             | To diagnose IA               | GM in blood <sup>a</sup>                                | C      | II       | Piperacillin/tazobactam may no longer be responsible for false-positive results according to recent studies<br>Cross-reactivity in case of histoplasmosis, fusariosis, talaromycosis (formerly: penicilliosis)<br>False-positive results reported due to ingestion of ice-pops, transfusions, antibiotics, Plasmalyt® infusion | [398,402–409]     |
| Cancer patients                                                                                                               | To monitor treatment         | GM in blood <sup>a</sup>                                | A      | II       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | [85,353,410]      |



# IAPA ve CAPA Tanı

- Mikolojik bulgular

- Solunum yolu örnekleri

- Biyopsi
    - Bronkoalveolar lavaj (BAL)
    - Non-directed (non-bronkoskopik) bronşial lavaj (NBL)
    - Trakeal aspirat (DTA)
    - Balgam

- Histopatolojik ve direkt mikroskopik olarak septalı hifler
    - Kültürde *Aspergillus* üremesi

Aspergillus kolonizasyonunu  
ayrımak zor

- Direkt mikroskopi ve kültür (BAL, NBL, trakeal aspirat, balgam)
      - Galaktomannan Ag testi (BAL) =  $OI \geq 1$  (NBL ve DTA valide değil;  $OI \geq 4,5$ )
      - Lateral flow assay (LFA= IMMY sona USA) veya lateral flow device (LFD=OLM Diagnostics UK)
      - *Aspergillus* PCR (BAL)= Galaktomannan ile çoğunlukla uyumlu sonuç vermekte

## Serum

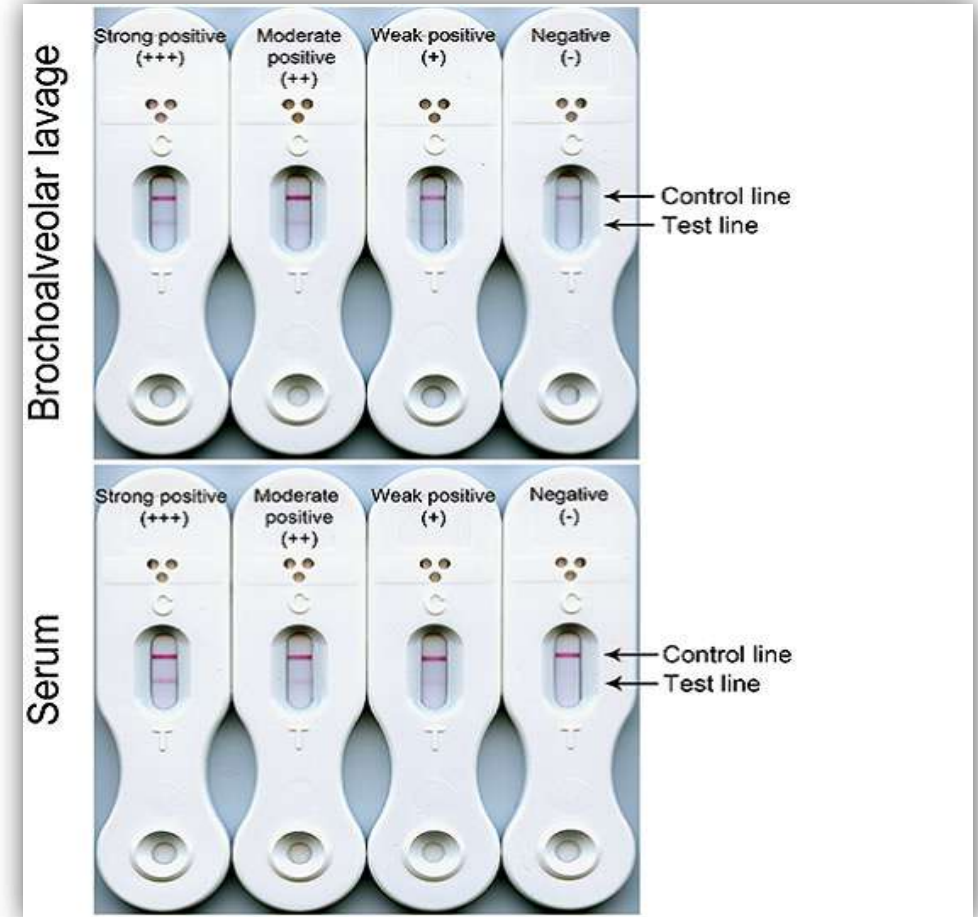
- Galaktomannan Ag testi (serum) =  $OI \geq 0,5$  (CAPA olgularının %20'sinde pozitif; IAPA olgularında %65))
        - *Aspergillus* PCR (serum= iki pozitif sonuç)
        - B-D Glukan testi (serum) =  $\geq 80$  pg/ml (fungitell) (Arda arda gelen iki pozitif örnek IFE için %90 özgül)
        - LFA veya LFD

# Galaktomannan Kiti

- **Platelia Aspergillus (Bio-Rad Laboratories, Marne-La-Coquette, France)**
- Dynamiker *Aspergillus* Galactomannan Assay (Dynamiker Biotechnology Tianjin China)
- FungiXpert *Aspergillus* Galactomannan ELISA (ERA Biology Tianjin China)
- Euroimmun Galaktomannan kiti (Euroimmun; Germany)
- .....VS

# Lateral Flow Device (LFD)/Lateral Flow Assay (LFA)

- İmmunkromotografi prensibini kullanmakta
- **LFD** (LFD=OLM Diagnostics UK): *Aspergillus* tarafından salgılanan glikoproteine karşı oluşturulmuş monoklonal antikoru (JF5 IgG3) kullanmakta
- **LFA** (LFA= IMMY sona USA) : Galaktomannan antijenine karşı monoklonal antikor kullanmakta
- 10-15 dakikada sonuçlanıyor
  - **a point-of-care (POC) test**





# invaziv aspergilloz tanısında PCR

**ISHAM**  
INTERNATIONAL SOCIETY FOR  
HUMAN AND ANIMAL MYCOLOGY





WORKING GROUP  
EUROPEAN ASPERGILLUS PCR INITIATIVE  
**EAPCRI**

Chamber of Commerce number  
(Kamer van Koophandel-NL)  
09165918

[Our Goals](#)

[Foundation](#)

[Milestones](#)

[The Steering Committee](#)

[Working Parties](#)

[Commercial Section](#)

[Current Activities](#)

[Publications](#)

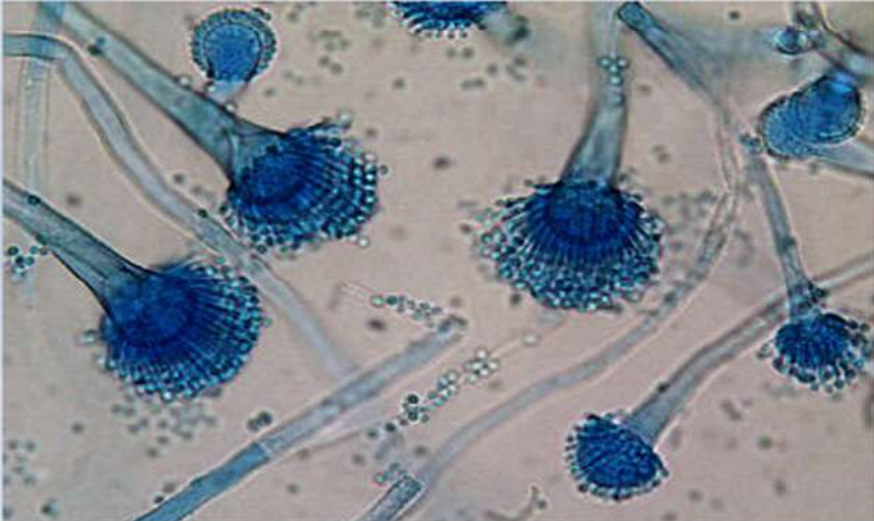
[Sponsors](#)

[Links](#)

[Contact](#)

## Welcome to the Working Group European Aspergillus PCR Initiative

The ISHAM Working Group – "Towards a Standard for Aspergillus PCR"



## The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments

Stephen A. Bustin,<sup>1\*</sup> Vladimir Benes,<sup>2</sup> Jeremy A. Garson,<sup>3,4</sup> Jan Hellemans,<sup>5</sup> Jim Huggett,<sup>6</sup>  
Mikael Kubista,<sup>7,8</sup> Reinhold Mueller,<sup>9</sup> Tania Nolan,<sup>10</sup> Michael W. Pfaffl,<sup>11</sup> Gregory L. Shipley,<sup>12</sup>  
Jo Vandesompele,<sup>5</sup> and Carl T. Wittwer<sup>13,14</sup>

**BACKGROUND:** Currently, a lack of consensus exists on how best to perform and interpret quantitative real-time PCR (qPCR) experiments. The problem is exacerbated by a lack of sufficient experimental detail in many publications, which impedes a reader's ability to evaluate critically the quality of the results presented or to repeat the experiments.

**CONTENT:** The Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments (MIQE) guidelines target the reliability of results to help ensure the integrity of the scientific literature, promote consistency between laboratories, and increase experimental transparency. MIQE is a set of guidelines that describe the minimum information necessary for evaluating qPCR experiments. Included is a checklist to accompany the initial submission of a manuscript to the publisher. By providing all relevant experimental conditions and assay characteristics, reviewers can assess the validity of the protocols used. Full disclosure of all reagents, sequences, and analysis methods is necessary to enable other investigators to reproduce results. MIQE details should be published either in abbreviated form or as an online supplement.

**SUMMARY:** Following these guidelines will encourage better experimental practice, allowing more reliable and unequivocal interpretation of qPCR results.

© 2009 American Association for Clinical Chemistry

The fluorescence-based quantitative real-time PCR (qPCR)<sup>15</sup> (1–3), with its capacity to detect and measure minute amounts of nucleic acids in a wide range of samples from numerous sources, is the enabling technology par excellence of molecular diagnostics, life sciences, agriculture, and medicine (4, 5). Its conceptual and practical simplicity, together with its combination of speed, sensitivity, and specificity in a homogeneous assay, have made it the touchstone for nucleic acid quantification. In addition to its use as a research tool, many diagnostic applications have been developed, including microbial quantification, gene dosage determination, identification of transgenes in genetically modified foods, risk assessment of cancer recurrence, and applications for forensic use (6–11).

This popularity is reflected in the prodigious number of publications reporting qPCR data, which invariably use diverse reagents, protocols, analysis methods, and reporting formats. This remarkable lack of consensus on how best to perform qPCR ex-

## Ticari sistemler

- MycoGENIE (Ademtech)
- AsperGenius (PathoNostics)
- Fungiplex (Renishaw)



# Performance of Galactomannan, Beta-D-Glucan, *Aspergillus* Lateral-Flow Device, Conventional Culture, and PCR Tests with Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis

| Population                                | Intention      | Intervention                                     | SoR | QoE | Comment                                                                                                                                                             | Ref.    |
|-------------------------------------------|----------------|--------------------------------------------------|-----|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Patients with haematological malignancies | To diagnose IA | PCR on blood samples                             | B   | II  | Meta-analysis: 16 studies PCR single positive test: Sensitivity: 88%, specificity: 75%; PCR two consecutive positive tests: Sensitivity: 75%, specificity: 87%      | [460]   |
|                                           | To diagnose IA | PCR on serum samples                             |     |     | 97% of protocols detected threshold of 10 genomes/mL serum volume >0.5 mL, elution volume <100 µL, sensitivity: 86%; specificity: 94%                               | [461]   |
|                                           | To diagnose IA | PCR on whole blood samples                       |     |     | First blood PCR assay to be compatible with EAPCRI recommendations, fever driven: Sensitivity: 92%, specificity: 95%, negative PCR result to be used to rule out IA | [462]   |
| Haematopoietic stem cell transplantation  | To diagnose IA | Prospective screening PCR on whole blood samples | B   | II  | Combination of serum and whole blood superior                                                                                                                       | [94–97] |
|                                           | To diagnose IA | Prospective screening PCR on blood samples       | B   | II  | Addition of GM and PCR monitoring provides greater accuracy, PPV 50%–80%, NPV 80%–90%                                                                               | [98]    |
|                                           | To diagnose IA | PCR and GM in BAL                                | A   | II  |                                                                                                                                                                     | [393]   |

- Akılcı antifungal kullanımı için laboratuvar – klinik işbirliği şart
  - Bu işbirliği olmadığında antifungallerin aşırı kullanılması söz konusu
- Elimizde direkt mikroskopik inceleme ve kültür var
  - İyi bir direkt mikroskopik inceleme yapılmalı (Deneyim gerektirir)
    - Erken tedavi başlamasını sağlar
  - Kültür, tür tanımlaması ve antifungal duyarlılık testleri
    - İlaç değişimini sağlar
- Kan kültürü kandidemi ve invaziv kandidoz için elimizdeki en önemli araç
  - Kan kültüründe üreme sinyalinden sonra hızlı tanımlama hedefi
    - MALDI-TOF-MS
- Bugün birçok merkezde galaktomannan testi çalışılıyor
  - Farklı firma kitleri ???
- LFA kullanılabilir. Ülkemizde bulunmakta. Ancak gerçekten hasta başı test mi?
- *Aspergillus* PCR rutin laboratuvar girmeli. Ticari kitler pahalı. Ancak artık in-house yöntem için standardizasyon var
  - *Aspergillus* enfeksiyonlarında BAL GM ve PCR testinin beraberliği tanıda çok önemli
    - Antifungal tedaviyi kestirebilir