

# Kandida İnfeksiyonlarında Güncel Tanı Yöntemleri

**Dr. Öğr. Üyesi Aysun BENLİ**

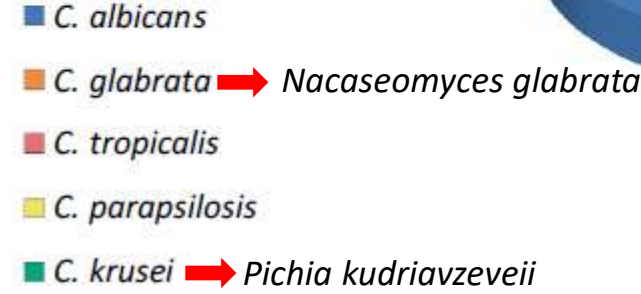
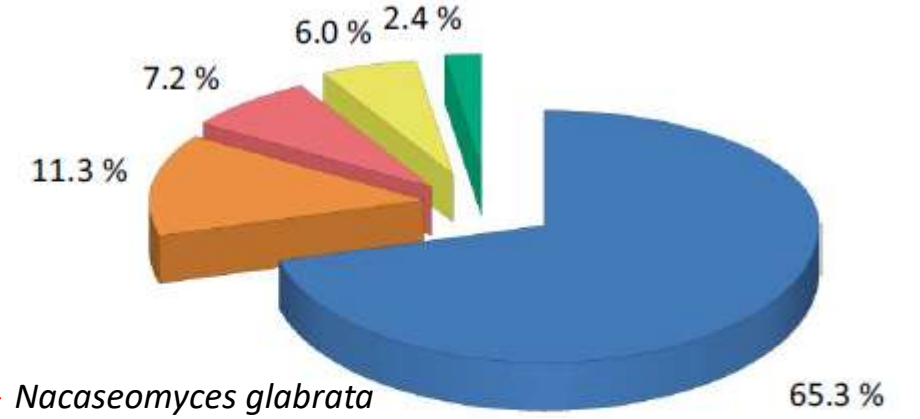
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi

İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

07.03.2024

# Giriş

- Doğada 160'tan fazla kandida türü bulunur, yaklaşık 20 tanesi insanlarda infeksiyona yol açar
- Kandida infeksiyonları arasında *C.albicans* en sık etkindir
- Kandida türlerinin hepsi tüm klinik sendromları yapabilir
- Bu mikroorganizmaları tiplendirmek hem epidemiyolojik açıdan hem de uygun ve erken antifungal tedavi seçimi açısından oldukça önemlidir



Year	No. Tested	% by Species				
		<i>C albicans</i>	<i>C glabrata</i>	<i>C parapsilosis</i>	<i>C tropicalis</i>	<i>C krusei</i>
1997-2001	5067	57.4	16.0	12.3	9.1	2.5
2006-2008	2647	51.2	15.9	16.8	10.7	2.1
2009-2011	4080	45.3	18.9	17.6	10.0	2.6
2012-2014	4928	46.3	19.3	15.1	8.6	3.2
2015-2016	3653	46.4	19.6	14.4	8.3	2.8

# Giriş

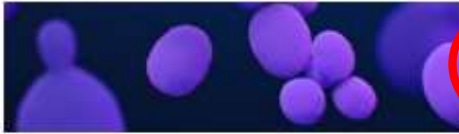
- Globalde kandida infeksiyonları nozokomiyal infeksiyonların yaklaşık %8'ini oluşturur
  - Amerika'da 4. sırada, Avrupa'da 6. sırada
- YBÜ hastalarında diğer servis hastalarına göre insidans 10 kat daha fazladır
- Yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir
  - Kandidemiyle ilişkili ölüm oranlarının YBÜ hastalarında yaklaşık %40-60  
septik şoklu hastalarda %80-90 olduğu bildirilmiştir
- Global fungal infeksiyon insidans ve mortalitesi
  - 120'den fazla ülke verisi dahil edilmiş
  - 1.565.000 kişide *Candida spp.*'ye bağlı kan dolaşımı infeksiyonu
  - **Mortalite %63.6** (995.000 ölüm)

## Urgent Threats

These germs are public health threats that require urgent and aggressive action:



CARBAPENEM-RESISTANT  
**ACINETOBACTER**



**CANDIDA AURIS**



**CLOSTRIDIoidES DIFFI**



CARBAPENEM-RESISTANT  
**ENTEROBACTERIACEA**



DRUG-RESISTANT  
**NEISSERIA GONORRHOEAE**

## Serious Threats

These germs are public health threats that require prompt and sustained action:



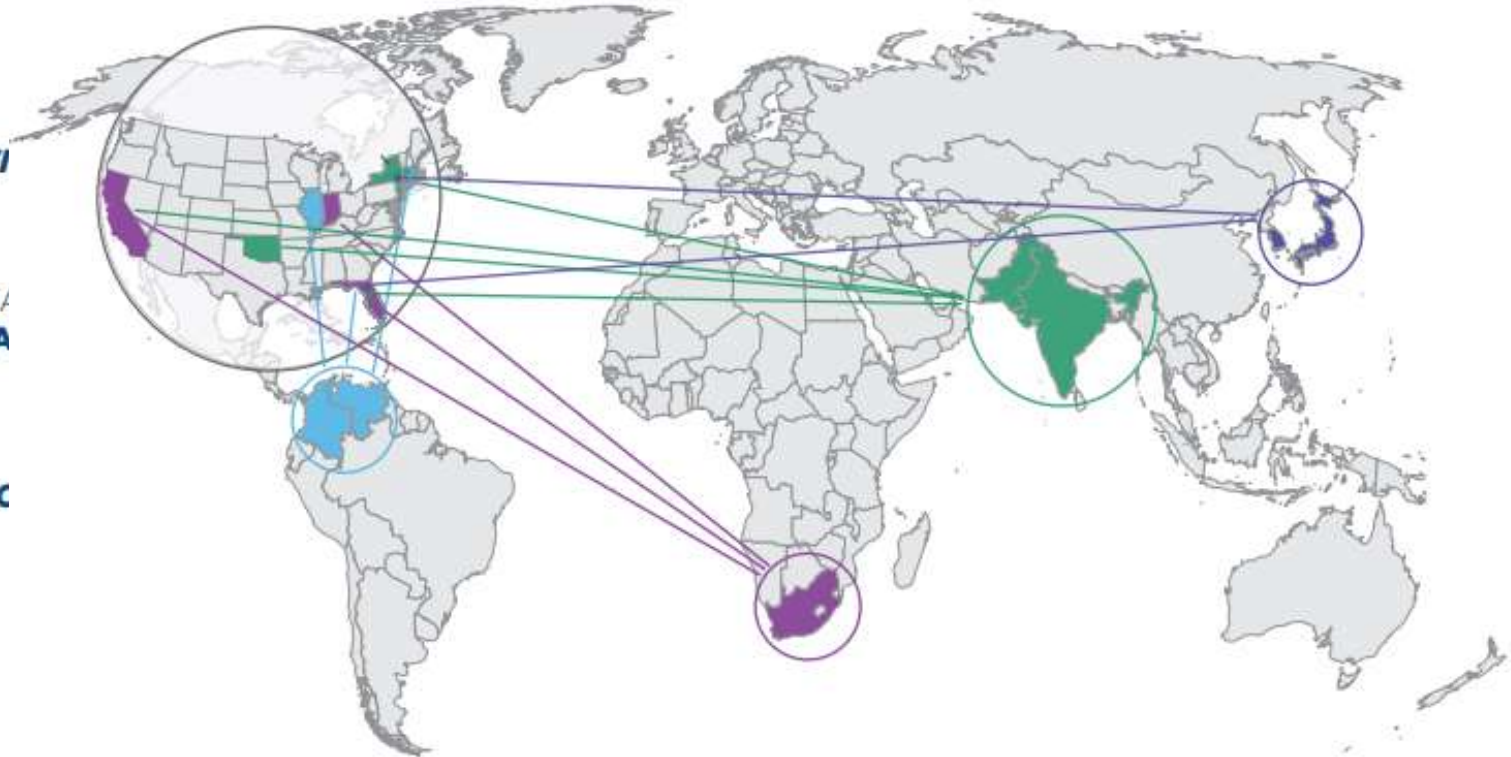
DRUG-RESISTANT  
**CAMPYLOBACTER**



DRUG-RESISTANT  
**CANDIDA**



ESBL-PRODUCING



South American strain—  
Florida, Illinois,  
Massachusetts

African strain—  
California,  
Florida, Indiana

South Asian strain—  
California, Connecticut,  
Florida, Maryland,  
New York, New Jersey,  
Oklahoma

East Asian strain—  
Florida, New York

Table 3. WHO fungal priority pathogens list

Critical group	High group	Medium group
 <i>Cryptococcus neoformans</i>	 <i>Nakaseomyces glabrata</i> ( <i>Candida glabrata</i> )	 <i>Scedosporium</i> spp.
 <i>Candida auris</i>	 <i>Histoplasma</i> spp.	 <i>Lomentospora prolificans</i>
 <i>Aspergillus fumigatus</i>	 Eumycetoma causative agents	 <i>Coccidioides</i> spp.
 <i>Candida albicans</i>	 Mucorales	 <i>Pichia kudriavzevii</i> ( <i>Candida krusei</i> )
	 <i>Fusarium</i> spp.	 <i>Cryptococcus gattii</i>
	 <i>Candida tropicalis</i>	 <i>Talaromyces marneffeii</i>
	 <i>Candida parapsilosis</i>	 <i>Pneumocystis jirovecii</i>
		 <i>Paracoccidioides</i> spp.

# İnvazif Kandidiyaz İçin Risk Faktörleri

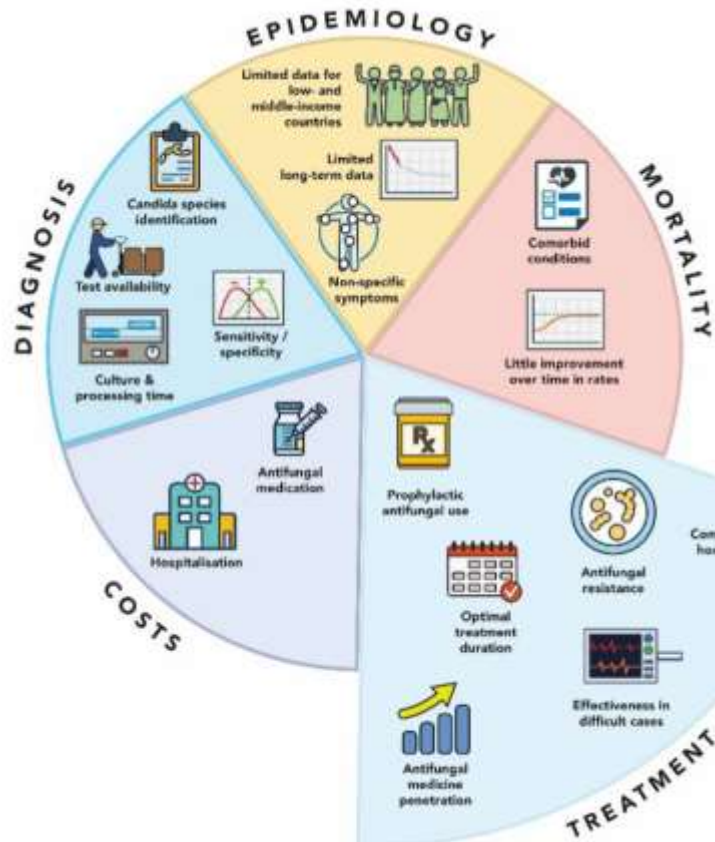
- Ana risk grubu **bağışıklığı baskılanmış ve yoğun bakım ünitesinde yatan** hastalar oluşturmakta
  - Hematolojik malignite
  - Solid organ ve hematopoetik kök hücre alıcıları
  - Kemoteröpatik ilaç kullanımı
  - Nötropeni
  - GIS'de mukozal hasar
  - Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
  - Santral venöz kateter varlığı
  - Hemodiyaliz
  - Akut böbrek yetmezliği
  - Total parenteral nütrisyon kullanımı
  - APACHE skorunun yüksek olması
  - Uzun yoğun bakım ünitesi yatışı
  - Cerrahi öyküsü özellikle abdominal cerrahi
  - GIS perforasyonları ve anastomoz kaçakları
  - Çok odaklı kandida kolonizasyonu

KLİNİK

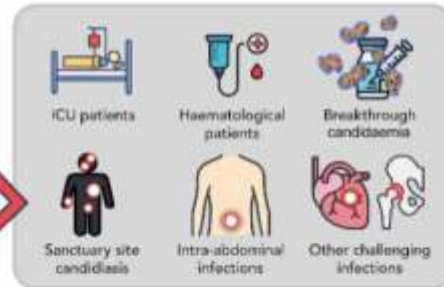
HİSTOPATOLOJİ

RADYOLOJİ

MİKROBİYOLOJİ



FORMS OF INVASIVE CANDIDIASIS



KESİN TANI

ETYOLOJİK TANI

# Klinik Manifestasyonlar

- Kandidemide **hafif ateşten** tam anlamıyla bakteriyel infeksiyonu taklit eden ağır bir **sepsis** tablosu görülebilir
- Kandidanın hematojen yayılımı sonrası
  - **Göz lezyonları:** % 2-20 (vitritin eşlik ettiği ya da etmediği koryoretinit)
  - **Deri lezyonları:** eritemli zeminde ağrısız püstüler nodüler lezyonlar, nötropenik hastalarda lezyonlar maküler karakterde
  - **Kas apseleri:** kaslarda hassasiyet, sıcaklık artışı ve şişlik
- Lezyon biyopsilerinden boyama, kültür ve histopatolojik inceleme yapılabilir





# Klinik Skorlamalar

- Skorlama sistemleri, **linik risk faktörleriyle kandida kolonizasyon indeksini** kombine ederek İK'nın öngörülebilirliğini artırmak amacıyla geliştirilmiştir
  - En önemli özellikleri negatif öngörü değerlerinin yüksek olmasıdır
  - İK riski düşük hastalar belirlenerek gereksiz preemtif/profilaktik antifungal ilaç uygulamasından kaçınılması sağlanır
  - Olası direnç gelişimi önlenir ve maliyet azalır

- ***Candida* skoru**

- **Ostrosky-Zeichner formülü**

## Kandida kolonizasyon indeksi

*Candida spp.* ile kolonize bölge sayısının örnek alınan toplam bölge sayısına bölünmesiyle hesaplanır

Kolonizasyon indeksi  $\geq 0.5$  olması, İK gelişimi için bağımsız risk faktörüdür, Negatif öngörü değeri yüksek

Skorlama sistemi	Ölçütler	Yorum
<b>Candida skoru</b>	<b>Sepsis (2 puan)</b>	<b>Duyarlılık: %81</b>
<b>(&gt;2.5 )</b>	<b>TPN (1 puan)</b>	<b>Özgüllük: %74</b>
	<b>Cerrahi (1 puan)</b>	<b>NPD: %98</b>
	<b>Çoklu kolonizasyon (1 puan)</b>	
<b>Ostrosky-Zeichner formülü</b>	<b>3 majör kriter</b> - Mekanik ventilasyon, geniş spektrumlu antibiyotik, santral venöz kateter varlığı	<b>Duyarlılık: %90</b>
	+	<b>Özgüllük: %48</b>
	<b>1 minör kriter</b> - TPN, diyaliz, majör cerrahi, pankreatit, immünosüpresif tedavi	<b>NPD: %99</b>

*Crit Care Med. 2006; 34(3): 730-7.*

*Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2007; 26(4): 271-6*

# Tanı

- Kesin tanı: ***Candida* türlerinin** normalde steril olan vücut sıvıları, bölgeleri veya doku örneklerinden **izole edilmesiyle** konur
- İnvazif kandida infeksiyonlarının tanısında **altın standart kültürdür**
  - Önemli bir diğer katkısı da, antifungal duyarlılık testlerine olanak vermesidir
  - Duyarlılığı düşüktür ve derin yerleşimli infeksiyonları kaçırabilir
- Otopsi serilerinde disemine kandidiyazi olan hastaların yaklaşık %50'sinin kan kültürlerinde pozitiflik olduğu saptanmış\*

# Kan Kùltürü

- Agar plakta üreme: en az 1-3 gün (*N.glabrata* için bu süreler daha uzun)  
Tanımlama: 1-2 gün
- Lizis-santrifüjleme yöntemi, BACTEC ve BactiAlert sistemlerindeki değişiklikler mayaların üremesini kolaylaştırıcı şekilde geliştirilmiştir
- Tanımlamayı hızlandırmak için kan kùltürü şişesinden katı besiyerine ekim yapılmadan mayalar **PNA-FISH** (*peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization*) tekniğiyle saatler içinde tanımlanabilir
- **MALDI-TOF MS** (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry*) yöntemiyle kan kùltüründen üretilen koloniler kullanılarak kısa sürede sonuç alınır

# Kültür Dışı Tanı Yöntemleri

- Mayaları tanımlamak için **daha hızlı tekniklere** ve kültür dışı tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç var
  - Epidemiyolojik açıdan
  - Uygun antifungal tedavi seçimi açısından
  - Mortaliteyi azaltmak için
- Mantar infeksiyonlarının tanısı konulurken etkenin kültürde üretilmesi için geçen süre özellikle kan dolaşımı infeksiyonlarında ya da nötropenik hastalar gibi özelleşmiş konaklarda **sağkalımı olumsuz etkilemektedir\***
  - Kan kültürü alınmasından antifungal tedavi başlangıcına kadar geçen zaman mortalite üzerinde etkilidir; 12 saatten daha kısa sürede tedavi başlanan hastalarda, başlanmayan hastalara göre mortalite azalmaktadır\*\*
  - Bu nedenle mayaların tanısında kullanılacak kültür dışı yöntemler günlük hasta pratiğinde önemli ölçüde yer bulmuştur

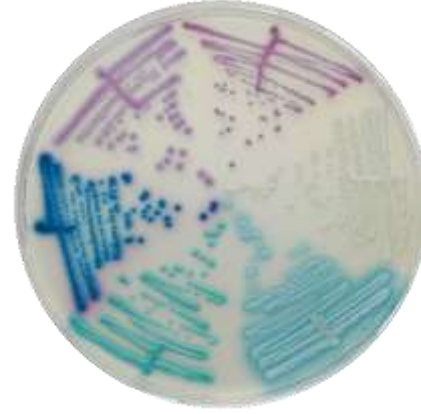
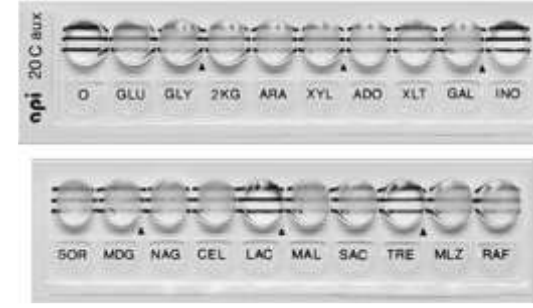
\**Nat Commun. 2018; 9(1): 5135.*

\*\**Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(9): 3640-5.*

# Mayaların Tanımlanması

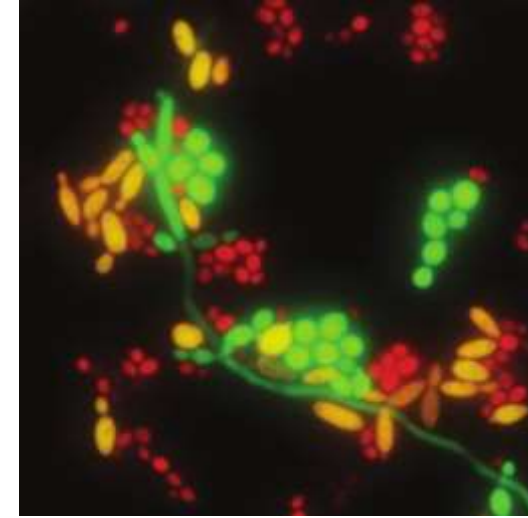
## A-Konvansiyonel yöntemler

- Mikroskobik inceleme ve mantar kültürü
  - SDA agar, CHROMagar, API *Candida*, Api 20C/32C, Auxacolor, Vitek 2
- Kültür dışı yöntemler
  - CAGTA (*C.albicans* germ-tüp antikoru)
  - Mannan ve anti-mannan
  - 1,3-beta-D-glukan



## B-Moleküler yöntemler

- PCR bazlı yöntemler
  - Multipleks PCR
  - T2Candida
- PCR dışı yöntemler
  - PNA-FISH
    - rRNA'yı hedefleyen floresan işaretli tür spesifik proplar
    - 5 *Candida* türü (*Candida albicans*, *parapsilosis*, *tropicalis*, *glabrata*, *krusei*)
    - 90 dakika
  - MALDI-TOF-MS
    - ~1 saat



# Mannan, Anti-mannan Testleri

- **FDA onayı yok**, Avrupa'da kullanılıyor
- Mannan antijeni (Mn), *Candida* hücre duvar bileşeni olan polisakkarid yapılı mannanı, anti-mannan antikorları (anti-Mn IgG) mannan antijenine karşı oluşan IgG'leri tespit eder
  - Dolaşımdan klirensi hızlı; yarılanma ömrü iki saat, yalancı negatif sonuç
  - Tek serum örneği ile sonuç yetersiz
  - Mukozal kolonizasyon; yalancı pozitif sonuç
- Nötropenik olmayan kritik hastaları içeren 7 çalışmanın dahil edildiği meta-analiz:  
453 hasta, 767 kontrol
  - Mn Ag; duyarlılık %58, özgüllük %93
  - anti-Mn IgG; duyarlılık %59, özgüllük %83
  - Ag+IgG kombinasyonu; duyarlılık %83 özgüllük %86
- *C.albicans*, *C.glabrata* ve *C. tropicalis* için daha duyarlı



# Antijen-antikor Testleri

- Serolojik testlerden **mannan antijeni ve antikor testi** ile ***Candida albicans* germ tüp antikor (CAGTA) testi** düşük kanıt düzeyleri olması nedeniyle zayıf şekilde önerilen testlerdir
- Antijenin klirensi hızlıdır; antikor testlerinin ise diğer tanı testlerinde olduğu gibi bağışıklığı baskılanmış hastalardaki tanı değeri sınırlıdır
- BDG ve CAGTA testinin ikisinin de kullanıldığı yoğun bakım hastalarında ise testlerin negatif prediktif değeri neredeyse %100 olup tedavinin güvenle kesilmesi için kullanılabilir.

# 1,3-beta-D-glukan (BDG)

- Fungal hücre duvarı bileşeni, ancak bir çok mantarın hücre duvarında bulunduğundan kandidalar için spesifik değil
  - *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Pneumocystis spp.*, *Acremonium spp.*, *Trichosporon spp.*
- At nalı yengeci (“horseshoe crab”) olarak bilinen *Limulidae* ailesindeki deniz artropodlarının amöbosit denen kan hücrelerinden elde edilen sulu bir ekstre (lizat) kullanılır. Testin temeli, BDG’nin bu lizatla reaksiyon vermesine dayanır.
- Glucatell, Fungitell ,**FDA tarafından 2004’de kullanımı onaylandı**
- Kandida infeksiyonları tanısında kullanışlı olduğu kanıtlanmış bir yöntem
  - Kan kültürü (-), derin yerleşimli İK (batın içi) tanısında yararlı olabilir
  - 80 pg/mL eşik değerinin üzerinde en az 2 serum örneğinde gösterilmesi
  - Klinik ve mikrobiyolojik verilerle desteklenmeli

# 1,3-beta-D-glukan (BDG)

- Profilaksi veya tedavi amacıyla kullanılan antifungal ilaçlar nedeniyle yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir
- **Yanlış pozitif sonuçlar:**
  - IVIG ve albümin tedavisi
  - Örnek alımı esnasında gazlı bezle temas
  - Barsak bütünlüğünün bozulması (örn.kemoterapiyle ilişkili mukozit)
  - Septik şok
  - İntestinal iskemi
- Duyarlılık %81, özgüllük %60 \*
- Pozitif prediktif değeri %70, negatif prediktif değeri %98\*\*
  - Ampirik başlanan antifungal tedavinin kesilmesinde kullanılabilir

\* *Am J Respir Crit Care Med* 2019;200:535.

\*\* *Clin Infect Dis* 2008; 46:1864.

# (1 → 3)-β-D-Glucan-guided antifungal therapy in adults with sepsis: the CandiSen randomized clinical trial



Frank Bloos<sup>1,2\*</sup>, Jürgen Held<sup>3</sup>, Stefan Kluge<sup>4</sup>, Philipp Simon<sup>5,12</sup>, Klaus Kogelma Sven-Olaf Kuhn<sup>7</sup>, Dominik Jarczyk<sup>4</sup>, Johann Motsch<sup>8</sup>, Gunther Hempel<sup>9</sup>, Norbe Andreas Weyland<sup>10</sup>, Matthias Drüner<sup>6</sup>, Matthias Gründling<sup>7</sup>, Patrick Meybohm<sup>1</sup>, Ulrich Jaschinski<sup>12</sup>, Onnen Moerer<sup>13</sup>, Ulf Günther<sup>14</sup>, Dirk Schädler<sup>15</sup>, Raphael Weixchel Castellanos<sup>17</sup>, Oliver Kurzai<sup>18,19</sup>, Peter Schlattmann<sup>20</sup>, Oliver A. Cornely<sup>21,2</sup>, Daniel Thomas-Rüddel<sup>12</sup> on behalf of the SepNet Study Group

## Abstract

**Purpose:** To investigate whether (1 → 3)-β-d-Glucan (BDG)-guidance shortens time to antifungal therapy and thereby reduces mortality of sepsis patients with high risk of invasive Candida infection (ICI).

**Methods:** Multicenter, randomized, controlled trial carried out between September 2016 and September 2019 in 18 intensive care units enrolling adult sepsis patients at high risk for ICI. Patients in the control group received targeted antifungal therapy driven by culture results. In addition to targeted therapy, patients in the BDG group received antifungals if at least one of two consecutive BDG samples taken during the first two study days was  $\geq 80$  pg/mL. Empirical antifungal therapy was discouraged in both groups. The primary endpoint was 28-day-mortality.

**Results:** 339 patients were enrolled. ICI was diagnosed in 48 patients (14.2%) within the first 96 h after enrollment. In the BDG-group, 48.8% (84/172) patients received antifungals during the first 96 h after enrollment and 6% (10/167) patients in the control group. Death until day 28 occurred in 58 of 172 patients (33.7%) in the BDG group and 51 of 167 patients (30.5%) in the control group (relative risk 1.10; 95% confidence interval, 0.80–1.51;  $p = 0.53$ ). Median time to antifungal therapy was 1.1 [interquartile range (IQR) 1.0–2.2] days in the BDG group and 4.4 (IQR 2.0–9.1,  $p < 0.01$ ) days in the control group.

**Conclusions:** Serum BDG guided antifungal treatment did not improve 28-day mortality among sepsis patients with risk factors for but unexpected low rate of IC. This study cannot comment on the potential benefit of BDG-guidance in a more selected at-risk population.

**Keywords:** Sepsis, Invasive Candida infection, Biomarker, (1 → 3)-β-D-Glucan, Antifungal therapy

**İnvazif kandida infeksiyonu riski yüksek olan sepsisli hastalarda BDG kullanımı mortaliteyi azaltıyor mu?**

YBÜ'de 339 hasta, RKÇ

BDG>80 pg/mL iki ardışık örnekten birinin pozitif olmasıyla ya da kültür sonuçlarına göre antifungal tedavi başlanan iki grup iki grup arasında 28 günlük mortalite açısından fark yok

## Lower (1,3)-beta-d-glucan (BDG) sensitivity and *in-vitro* levels in *Candida auris* and *Candida parapsilosis* strains

Malgorzata Mikulska • Nadir Ullah • Laura Magnasco • ... Lorenzo Ball • Anna Marchese •

Matteo Bassetti   • [Show all authors](#)

[Open Access](#) • Published: February 29, 2024 • DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.02.012>

- *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. auris* suşlarına ait **kan kültürlerinden toplanan supernatantlarda** ve hastaların kan kültürüne eş zamanda alınan **serum örneğinde BDG** bakılmış.
- 22 *C. auris*, 14 *C. albicans*, 10 *C. parapsilosis* suşu
- Supernatantlarda median BDG değeri *C. auris* için 463 pg/mL (IQR 379-648)  
*C. parapsilosis* için 755 pg/mL (IQR 511-930)  
*C. albicans* için 1080 pg/mL (IQR 830-1276) türler arasında anlamlı fark var ( **$p < 0.0001$** )
- Serum median BDG değeri *C. auris* ve *C. parapsilosis* 'de *C. albicans*'a göre daha düşük ( **$p < 0.0001$** )

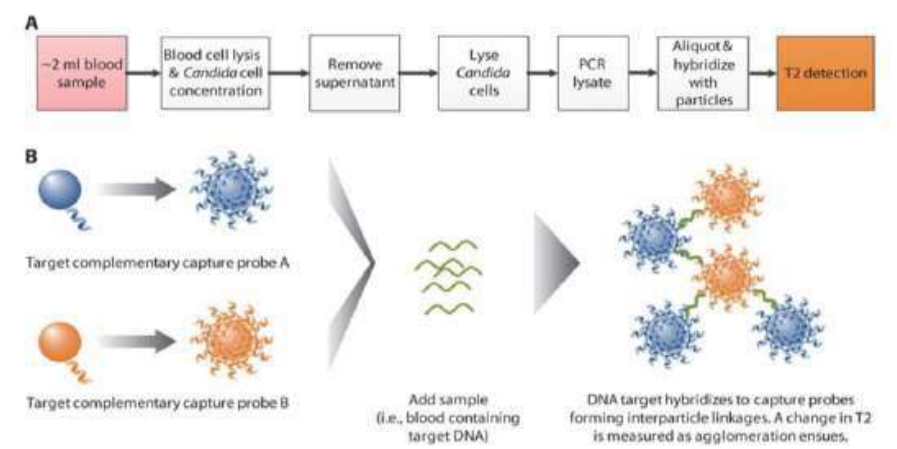
  - Sırasıyla 50 pg/ml (IQR 15-161), 57 pg/mL (IQR 18-332) ve 372 pg/mL (IQR 102-520)
  - **Kandidemide BDG duyarlılığı** sırasıyla was %39, %30 ve %78

- Kendi merkezleri için *C. albicans* kandidemisinde BDG performansını *C. auris* ve *C. parapsilosis*'e göre daha iyi bulmuşlar

# T2Candida

- T2Candida paneli ve cihazı ***C.albicans, C.tropicalis, C.parapsilosis, C.glabrata ve C.krusei*** ile ilişkili dolaşım yolu infeksiyonlarının tanısında kullanılmak üzere **FDA tarafından 2014 yılında onaylandı**
  - Kabul edilişi 1500 hastalık bir çalışmada negatif örneklerin %100'üne negatif sonuç vermesi ve belirli konsantrasyonda mayanın bulunduğu 300 kan örneğinde pozitif örneklerin %84'ünde doğru tahmin etmesiyle
- Nanopartikül bazlı hibridizasyon ve PCR tekniklerinin kombine edildiği bir teknik
  - Maya hücrelerini parçalayarak DNA'yı serbest bırakır; hedef DNA'yı kopyalar; ve manyetik rezonans teknolojisini kullanarak çoğaltılmış DNA tespit edilir
- Kan kültüründen çok daha hızlı bir şekilde, 3-5 saat içinde tam kan örneğindeki 1-3 CFU/mL kadar az miktarı tespit edebilir
- Performansı iyi, antifungal kullanımı sırasında T2Candida ile testin performansı değişmiyor
  - Oysaki azol kullanımı ile kan kültüründe %7-12 kadar duyarlılık azalıyor ve tespit edilme süresi uzuyor
- Hücre lizisi nedeniyle direnç bakılamıyor, maliyet yüksek, tanı spektrumu dar

# T2Candida



- 1801 hastalık bir seride duyarlılık %91, negatif prediktif değeri neredeyse %100 (DIRECT çalışması)\*
- Nötropenik ve önceden antifungal kullanan hastalarda kan kültürüne göre takipte pozitiflik saptama oranı daha fazla (DIRECT2 çalışması)\*\*
- STAMP çalışması; tedavi ile alınan kontrol kan kültürlerinde T2Candida ile tespit kan kültürüne göre daha fazla (%25 vs %7.5)\*\*\*
  - T2Candida, kan kültürüne göre kandidemi klirensini izlemek açısından daha iyi
- Prognostik indikatör olarak kullanılabilir
  - Kan kültürü pozitifliğinin ilk beş gününde T2Candida pozitifliği 37 kat komplike kandidemi (kandidemiye bağlı ölüm, derin yerleşimli metastatik infeksiyon)

- Performansı derin yerleşimli kandidiyaz vakalarında araştırılmamıştır
- Yayınlanmış klinik çalışmalarda umut veren bazı kanıtlara rağmen, kandidemi olmayan İK'daki performansını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

\**Clin Infect Dis* 2015; 60:892.

\*\**Clin Infect Dis* 2018; 66:1678.

\*\*\**J Clin Microbiol* 2018;56(4):e01756-17.

*J Fungi (Basel)*. 2018; 4(2). pii: E45

# T2Cauris™ Panel

- T2Cauris paneli
  - Kan, çevre, deri, sürüntü örneklerinde çalışılabilir
  - Deri sürüntü örneklerinde tanı değil araştırma amaçlı kullanımı var

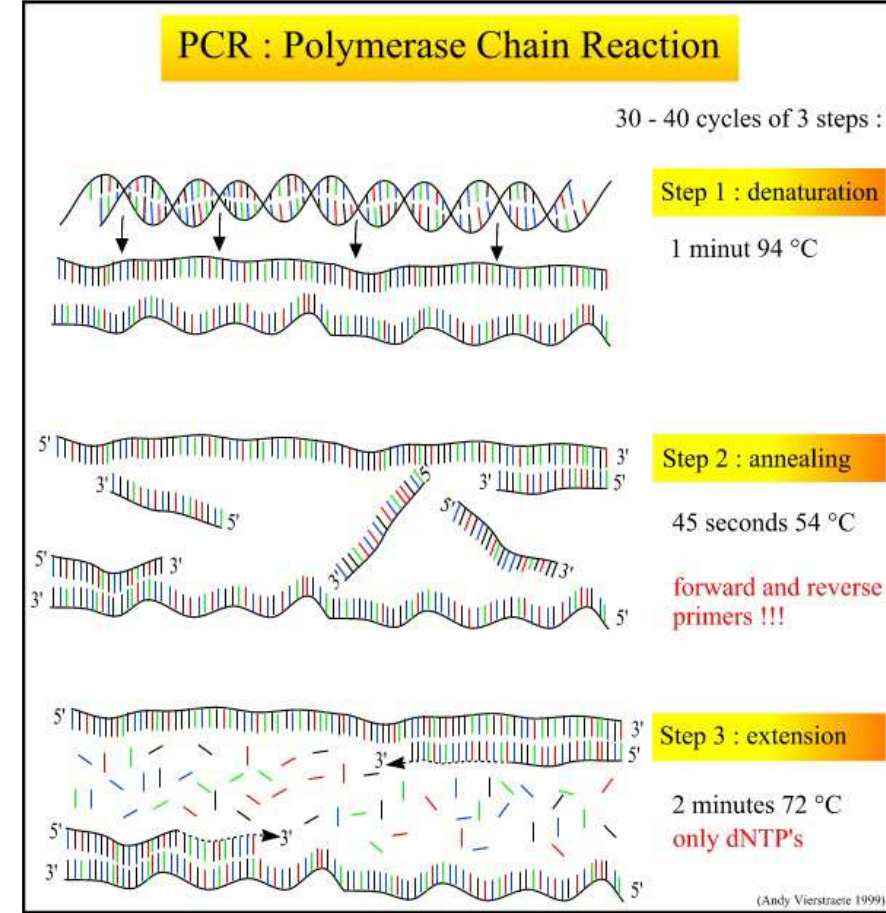
Table 5: Results of testing clinical remainder samples from patients with a suspicion of candidemia

Patient code <i>C. auris</i> Study	Location of T2 Blood Draw	Previous candidemia	Previous colonization	Time Blood Culture Result	Blood Culture Results	T2 <i>C. auris</i> Results
ID001	Arterial catheter	No	No	5 days	Negative	Negative
ID002	Venous catheter	No	No	5 days	Negative	Negative
ID003	Venous catheter	No	No	83 hours	<i>C. albicans</i>	Negative
ID004	Arterial catheter	No	<i>C. glabrata</i>	5 days	Negative	Negative
ID008	Arterial catheter	<i>C. auris</i>	<i>C. auris</i>	56 hours	<i>C. auris</i>	<i>C. auris</i>
ID009	Arterial catheter	<i>C. auris</i>	<i>C. auris</i>	5 days	Negative	Negative
ID010	Venous catheter	<i>C. auris</i>	<i>C. auris</i>	5 days	Negative	Negative
ID011	Arterial catheter	<i>C. glabrata</i>	<i>C. auris</i> , <i>C. parapsilo-</i>	33 hours	<i>C. auris</i>	<i>C. auris</i>
ID012	Arterial catheter	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. auris</i> , <i>C. parapsilosis</i>	39 hours	<i>C. auris</i>	Negative
ID013	Venous catheter	No	<i>C. glabrata</i> , <i>C. auris</i>	5 days	Negative	Negative
ID014	Venous catheter	No	<i>C. glabrata</i> , <i>C. auris</i>	17 hours	<i>C. auris</i>	<i>C. auris</i>



# PCR

- Hızlı ve erken tanı, fungal yükün önemi yok
  - Kandideminin erken tanısında kullanılabilir ve cansız mikroorganizmaları da saptayabilir
- Duyarlılık; tam kan > serum  
mantar spesifik kitlerde > multipleks PCR
- **FDA tarafından onaylı test yok**, standardize değil
  - Heterojen hasta grupları ve farklı ticari kitler nedeniyle
- 54 çalışmayı içeren, 4694 hastanın dahil edildiği meta-analizde, 963 kanıtlanmış/olası ve muhtemel İK tanısında PCR'in performansı değerlendirilmiştir\*
  - İK olgularında duyarlılık %95, özgüllük %92 olarak bulunmuştur
- Kandideminin tespitinde duyarlılığı kan kültürüne benzer saptanmış\*\*



\**J Clin Microbiol. 2011; 49(2): 665-70*

\*\**J Clin Microbiol 2002; 40:2483.*

*Clin Infect Dis 2008; 46:890.*

*J Clin Microbiol 2010; 48:811.*

Klinik kullanımda olan gerçek zamanlı multipleks PCR testlerinden biri (LightCycler® SeptiFast), 19 bakterinin yanı sıra 6 mantar türünü (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *Aspergillus fumigatus*) de tespit edebilmektedir ve duyarlılığı %94'tür.



**Table 1** List of commercially available PCR-based assays for detection of fungi

Commercial PCR and manufacturer	Target species detected	Assay method	Target and specimen used	Assay time	References
MagiCplex Sepsis Real eTime Test (Seegne)	- <i>Aspergillus fumigatus</i>	Multiplex real time PCR	Unknown; Whole blood	6 h (including DNA extraction)	Camp et al. [142]
<i>A. fumigatus</i> Bio-Evolution (Bio-Evolution)	- <i>Aspergillus fumigatus</i>	Real time PCR	ITS1 region; BAL	<80 min after DNA extraction	Denis et al. [143]
MycAssay <i>Aspergillus</i> (Mycnostica)	Eighteen <i>Aspergillus</i> species - <i>Aspergillus fumigatus</i> - <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Aspergillus terreus</i> - <i>Aspergillus niger</i>	Real-time PCR	18S rDNA; BAL and Serum	4 h	Guniea et al. [144]
AsperGenius® (PathoNostics)	- <i>Aspergillus fumigatus</i> - <i>Aspergillus terreus</i>	Multiplex real-time PCR	28 S rRNA; BAL, Serum, Plasma, Biopsy tissue	< 3 h	Chong et al. [145]
<i>Aspergillus</i> spp. ELITE MGB® Kit (ELITechGroup)	- <i>Aspergillus niger</i> - <i>Aspergillus nidulans</i> - <i>Aspergillus terreus</i> - <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Aspergillus versicolor</i> - <i>Aspergillus glaucus</i>	Quantitative real-time PCR	18S rDNA; Bronchial secretions, BAL	Not available (NA)	Grancini et al. [146]
MycReal <i>Aspergillus</i> (Ingenetix)	- <i>Aspergillus fumigatus</i> - <i>Aspergillus nidulans</i> - <i>Aspergillus niger</i> - <i>Aspergillus terreus</i>	Real-time PCR	ITS2 region; BAL, Blood, CSF, Tissue	NA	Zeller et al. [147]; Kidd et al. [148]
MycogenIE® <i>Aspergillus</i> Species	<i>Aspergillus</i> spp. including: <i>A. fumigatus</i>	Quadruplex real-time PCR	28 S rRNA; BAL, serum Biopsy	NA	Dannaoui et al. [149]
MagiCplex Sepsis Real eTime Test (Seegne)	- <i>Aspergillus fumigatus</i> - <i>Candida albicans</i> - <i>Candida glabrata</i> - <i>Candida Krusei</i> - <i>Candida parapsilosis</i> - <i>Candida tropicalis</i>	Multiplex real-time PCR	Unknown; Whole blood	6 h	Zboromyrska et al. [150]
FungiPlex <i>Candida</i> (Bruker Daltonics)	<i>Candida albicans</i> - <i>Candida parapsilosis</i> - <i>Candida dubliniensis</i> - <i>Candida tropicalis</i> - <i>Candida glabrata</i> - <i>Candida krusei</i>	Multiplex real-time PCR	Unknown; Whole blood, serum, plasma	<2 h (after DNA extraction)	Fuchs et al. 2019 [151]
FilmArray Blood Culture Identification (BCID) Panel	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i>	Multiplex real-time PCR assay	Unknown; whole blood	1 h	Salimnia et al. [152]
SeptiFast LightCycler (Roche)	- <i>Candida albicans</i> - <i>Candida tropicalis</i> - <i>Candida parapsilosis</i> - <i>Candida Krusei</i> - <i>Candida glabrata</i> - <i>Aspergillus fumigatus</i>	Multiplex Real-time PCR (DNA melt curve analysis)	ITS region; Whole blood	6-7 h	Steinmann et al. [153]
CandID® and AurisID® (OlmDiagnostics)	CandID: - <i>Candida albicans</i> - <i>Candida dubliniensis</i> - <i>Candida glabrata</i> - <i>Candida krusei</i> - <i>Candida parapsilosis</i> - <i>Candida tropicalis</i> AurisID: - <i>Candida auris</i>	Multiplex real-time PCR	Unknown; Plasma (CandID) and Blood (AurisID)	45 min (after DNA extraction)	Camp et al. [142]
T2 <i>Candida</i>	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> , and <i>C. glabrata</i>	PCR along with Magnetic resonance	Unknown; Whole blood	<5 h	Clancy and Nguyen [100]

# İnvazif Kandidiyazda Kültür Dışı Tanı Yöntemleri

**Table 1. Comparison of United States Food and Drug Administration–Approved Non-Culture-Based Diagnostic Tests for *Candida* and *Aspergillus***

Parameter	Serum (1→3)-β-D-Glucan ( <i>Candida</i> ) [58–60]	Serum Mannan/ Antimannan ( <i>Candida</i> ) [61]	Blood T2Candida ( <i>Candida</i> ) [62, 63]	PCR ( <i>Candida</i> ) [64]	Galactomannan ( <i>Aspergillus</i> ) [65]	Serum (1→3)-β-D-Glucan ( <i>Aspergillus</i> ) [66, 67]
Sensitivity	80%	58%	91%	73%	71%	81%
Specificity	80%	93%	98%	95%	89%	78%
PPV/NPV at 2% prevalence (screening <sup>a</sup> )	9% >99%	12.5% 99%	0.5% >99%	16.7% 99%	8% 99%	8% >99%
PPV/NPV at 10% prevalence (screening <sup>a</sup> )	30% 97%	50% 95%	81% 99%	50% 94%	41% 96%	29% 97%
PPV/NPV at 30% prevalence (diagnosis <sup>b</sup> )	<63% 90%	77% 83%	96.4% 96%	74% 81%	72% 87%	62% 91%

Abbreviations: NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value.

<sup>a</sup>Screening: asymptomatic patients without localized signs of infection.

<sup>b</sup>Diagnosis: symptomatic patients with suspected infection.

Prevalans artıka PPV tüm testler için artarken, NPV tüm testler için düşüyor

Tests approved for the diagnosis of invasive candidiasis.

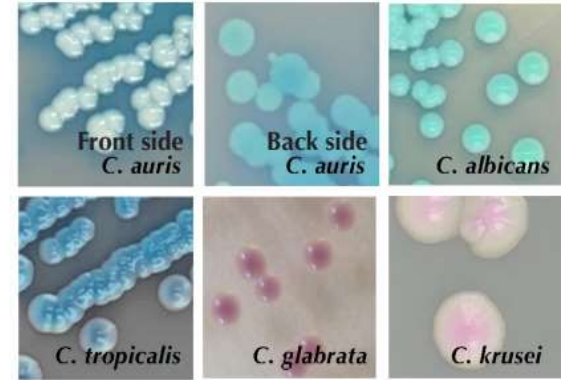
Test	Turnaround Time	Diagnostic Value	Sensitivity	Specificity	Notes
Culture	2-4 days	Positive	21-71%	N/A	Allows susceptibility testing
T2Candida	3-5 h	Positive	91%	99%	Approved for the detection of <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. glabrata</i> in whole blood.
$\beta$ -D-glucan (Fungitell)	1 h	$\geq 80$ ng/L	92%	81%	Can be positive in other fungal infections
$\beta$ -D-glucan + procalcitonin	1 h	$\geq 80$ ng/L <0.2 ng/mL	96%	98%	Can be positive in other fungal infections

# C.auris Tanısı

- *C.auris* tanımlaması ise geleneksel biyokimyasal yöntemlerle oldukça zordur
  - *C.haemulonii*, *C.famata*, *C.sake*, *C.catenulata*, *Rhodotorula glutinis* ve *Saccharomyces cerevisiae* olarak yanlış tanımlanabilir
- *C. auris* ile ilgili türler arasında ayırım yapılmasına yardımcı durumlar:
  - **42°C'e sıcaklığa kadar üreme toleransı** (diğer birçok *Candida* türünden farklı olarak)
  - **Mısır unlu agarda hif veya psödohif oluşturamama** (genel olarak *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* ve *C.parapsilosis* oluşturur)
- **Tuz/dulsitol seçici ortamın** kullanımı *C. auris*'in steril olmayan vücut bölgelerinde taranmasında faydalı olabilir
  - Yüksek tuzluluk oranı - %10 NaCl - ve glikoz yerine dulsitol bazlı bir karbon kaynağı
- Yeni formülize edilmiş **kromojenik besiyerleri** koloni rengine ve görünümüne dayalı olarak hızlı olası tanı konmasında umut verici (CHROMagar™ Candida Plus)
- **MALDI-TOF-MS yöntemi** *C.auris* tanımlaması için en uygun ve kesin yöntemdir

Microorganism	Typical colony appearance
<i>C. albicans</i>	→ green-blue
<i>C. auris</i>	→ light blue with blue halo, blue from the back side of the plate
<i>C. tropicalis</i>	→ metallic blue with pink halo
<i>C. krusei</i>	→ pink and fuzzy
<i>C. glabrata</i>	→ mauve
Bacteria	→ mostly inhibited

## Typical colony appearance



# ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients



Ignacio Martin-Loeches<sup>1,2\*</sup>, Massimo Antonelli<sup>3</sup>, Manuel Cuenca-Estrella<sup>4</sup>, George Dimopoulos<sup>5</sup>, Sharon Einav<sup>6</sup>, Jan J. De Waele<sup>7</sup>, Jose Garnacho-Montero<sup>8,9</sup>, Souha S. Kanj<sup>10</sup>, Flavia R. Machado<sup>11</sup>, Philippe Montravers<sup>12</sup>, Yasser Sakr<sup>13</sup>, Maurizio Sanguinetti<sup>14</sup>, Jean-Francois Timsit<sup>15,16</sup> and Matteo Bassetti<sup>17</sup>

## • Konsensus önerileri:

- İK'dan şüphelendiğinde kan ve diğer vücut sıvılarında **mikroskopik inceleme ve kültür (en iyi uygulama)**
- Konvansiyonel **kültür bazlı testler** önerilir **(en iyi uygulama)**
- İK tanısında konvansiyonel ve kültüre dayalı olmayan tekniklerin **bir arada yürütülmesi** önerilir **(en iyi uygulama)**
- **PCR bazlı testler (zayıf öneri, düşük kanıt düzeyi)**
- Manyetik rezonans tabanlı teknoloji (**T2Candida**) **(zayıf öneri, düşük kanıt düzeyi)**
- **BDG (zayıf öneri, orta kanıt düzeyi)**
- **Mannan antijeni ve antikoru (zayıf öneri, düşük kanıt düzeyi)**
- **CAGTA (zayıf öneri, düşük kanıt düzeyi)**
- Panel PCR bazlı testlerin (+T2Candida) iyi performansa sahip olduğunu kabul ediyor. Ancak standardizasyonu ve geniş ölçekli doğrulamalarının olmayışı yardımcı testler olmadan klinik kullanımını engeller **(zayıf öneri, düşük kanıt düzeyi)**
- Panel, mannan antijen/antikoru, BDG kantifikasyonu ve CAGTA testinin birlikte kullanımının katma değer sağladığını, bu nedenle bu testlerin klinik açıdan faydalı olduğunu kabul ediyor **(zayıf öneri, düşük kanıt düzeyi)**
- Panel, BDG ölçümünün mükemmel bir negatif tahmin değerine sahip olduğunu ve bu nedenle İK'yı dışlamak için kullanılması gerektiği konusunda hemfikir **(zayıf öneri, düşük kanıt düzeyi)**
- Panel İK'yı tanımlamak için mantar biyobelirteçlerinin kantitatif tespitinin büyük ölçekli klinik çalışmalarda daha fazla değerlendirilmesi gerektiğini önermekte **(en iyi uygulama)**

# ECMM/ISHAM 2024 Kandidiyaz Tanısı

- **Fizik muayene** (üriner sistem, mukozal ve yüzeysel kandida inf.)\_**güçlü öneri**
- **Konvansiyonel yöntemler**\_**güçlü öneri**
  - Duyarlılığı düşük olmasına rağmen, en az 40-60 ml (2-3 set)
- **Kontrastlı BT ve MR kronik disemine kandidiyaz tanı ve takibinde öneriliyor**
- **Hiçbir moleküler teknik** **güçlü bir şekilde önerilmiyor**
  - Rutin klinik kullanımı sınırlı, kısıtlı patojen tanımlıyor
  - Moleküler yöntemlerin biyobelirteçlerle kombine kullanımı öneriliyor
- **Tür düzeyinde tanımlama**\_**güçlü öneri**
- **Histopatolojik inceleme**\_**güçlü öneri**
  - Kolonizasyon ve invazyon ayrımı
- **BDG**\_**güçlü öneri** (BOS için orta düzeyde öneri)
  - Olası İK ve kandidemi tanısı için, tek başına önerilmiyor
- **Mannan antijen/antikoru**\_**orta düzeyde öneri** (BOS için zayıf öneri)
- **CAGT antikoru**\_**zayıf öneri**
- **Rutin fundoskopik muayene önerilmiyor**

# Diğer Tanı Yöntemleri

- Yeni PCR testleri, T2 Candida, mikroakışkan çip teknolojisi, yeni nesil dizileme, yeni nesil biyosensörler, nanoteknoloji tabanlı araçlar, yapay zeka tabanlı modeller gibi daha güçlü yaklaşımların ortaya çıkmasıyla birlikte **fungal tanıda yeni yöntemler** gündeme gelecektir
- **Omik teknolojileri** (genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik):
  - Bir türünü tamamını temsil eden büyük miktarda verinin analizi
  - Çeşitli *Candida* türlerinin metabolomik profilleri üzerinde çalışılması şu anda erken bir aşamada, tanı amaçlı (etken tanımlaması + antifungal duyarlılık) kullanım potansiyelleri gelecek için umut vadediyor, çalışmalara ihtiyaç var, oldukça malıyeli
  - *Candida spp.*'nin çeşitli veritabanları mevcut
    - YMBD veya Maya Metabolom Veritabanı, METLIN Metabolit ve Kimyasal Varlık Veritabanı, LMISSD veya LIPID MAPS In-Silico Yapı Veritabanı, vb.
  - Son genomik çalışmalar, invazif kandidiyaz için yeni konak faktörlerini ortaya çıkarmış
    - **CD58, LCE4A ve TAGAP lokuslarındaki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler)** ile kandidemi arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir
    - İki veya daha fazla tehlikeli alelin kombinasyonu, **kandidemi riskinin 19,4 kat artmasına** neden olabilir
- İnvazif kandidiyaz için konak faktörlerinin insan genomu kullanılarak değerlendirilmesi, tanıyı iyileştirebilir ve profilaksiye ihtiyaç duyan hastaları tespit edebilir



# Tanımlama Yöntemlerinde Avantajlar & Dezavantajlar

- **Konvansiyonel yöntemler**

- Altın standart ✓
- Zaman alıcı ✗
- Duyarlılığı düşük ✗

- **Moleküler ve serolojik yöntemler**

- İnvazif olmayan bir yöntem ✓
- Kültürde üretmenin zor olduğu etkenlerde, hızlı sonuç ✓
- Serolojik testlerin başarısı; hasta grubu, immünosüpresyon durumu, hastalığın tutulum yeri ve süresine bağlı olarak değişebilir ✗
- Maliyet yüksek ✗
- PCR yöntemi standardize değil, tür düzeyinde tanımlama ve duyarlılık yok ✗



*\*Take  
home message*

- Kültür dışı yöntemlerinin **doğru kullanımı** büyük bir öneme sahiptir
- Kültüre dayalı geleneksel yöntemlerin kullanımı bugün için de **vazgeçilmezdir**
- Sonuç olarak kandida infeksiyonlarının tanısında kültür dışı tanı yöntemlerin konvansiyonel yöntemler de dahil olmak üzere diğer tanı yöntemleriyle **birlikte** kullanılmaları önerilir