



Fungal İnfeksiyonlar

Tanıda Hızlı ve Duyarlı Yöntemler

Bariş Otlu



Fungal Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- **Cryptogam'dan Patojene:** Candida'nın Klinik Kimlik Kazanması
- 19. yüzyılın ortalarında Candida, **patojen bir mikroorganizma olarak değil**, botanik sınıflandırma içinde bir **"cryptogam"** olarak kabul edilmiştir.



Fredrik Theodor Berg
1840



Charles-Phillipe Robin
1853

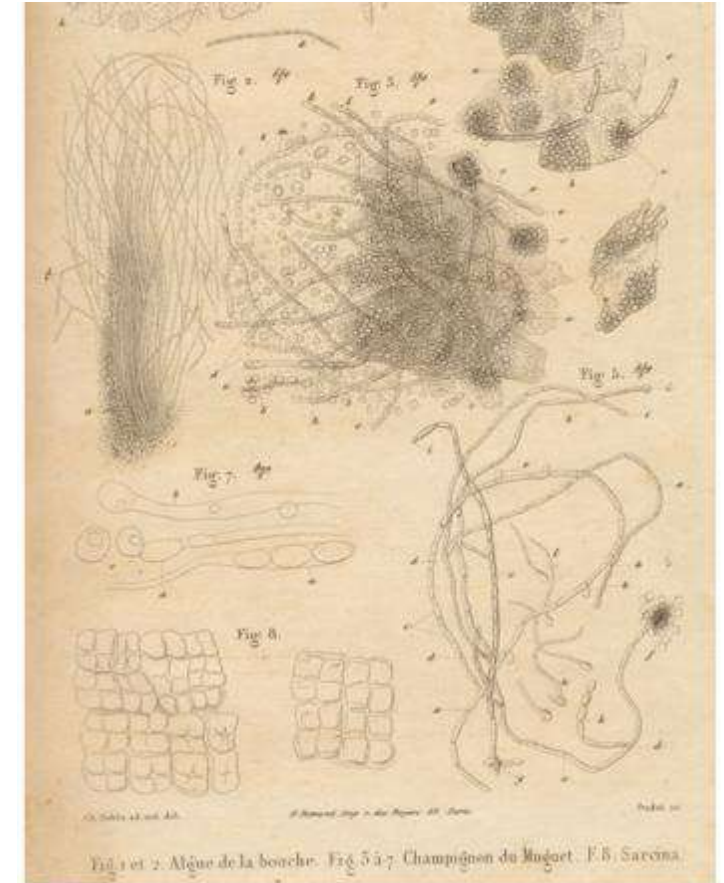


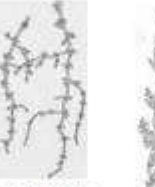
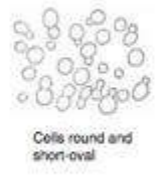
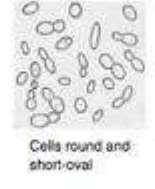
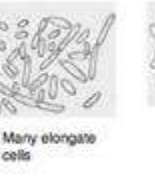
Figure 3. The first printed illustrations of *Candida (Oidium) albicans*: the thrush fungus (*champignon du muguet*). Plate I from

Fungal Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- 1950 'li yıllar fungal infeksiyonların tanısında **kültür ve biyokimyasal yöntemlerin** yükselişi.

Book Reviews

Table 5. 1952: Differentiation of *C. albicans* from similar clinical isolates — results of Lodder and Kreger-van Rij [154]

	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Fermentation					
Galactose	+	-	-	+	+
Maltose	+	-	-	-	+
Sucrose	-	+	-	-	+
Aerobic utilization					
Galactose	+	+	-	+	+
Maltose	+	+	-	+	+
Ethanol	-	+	?	-	-
Appearance of filaments (on slide cultures)	 Pseudohyphae and hyphae; ball-like clusters of blastoconidia; usually also chlamydospores	 Pseudohyphae	 Pseudohyphae	 Pseudohyphae	 Pseudohyphae (hyphae also formed)
Appearance of budding cells (growth for 3 days in malt extract)	 Cells round and short-oval	 Cells round and short-oval	 Many elongate cells	 Round to oval or elongate	 Most cells round or short-oval

- 1960 'lı yıllarda klinik mikolojide hızlı tanı; *C. albicans* ve diğerleri.

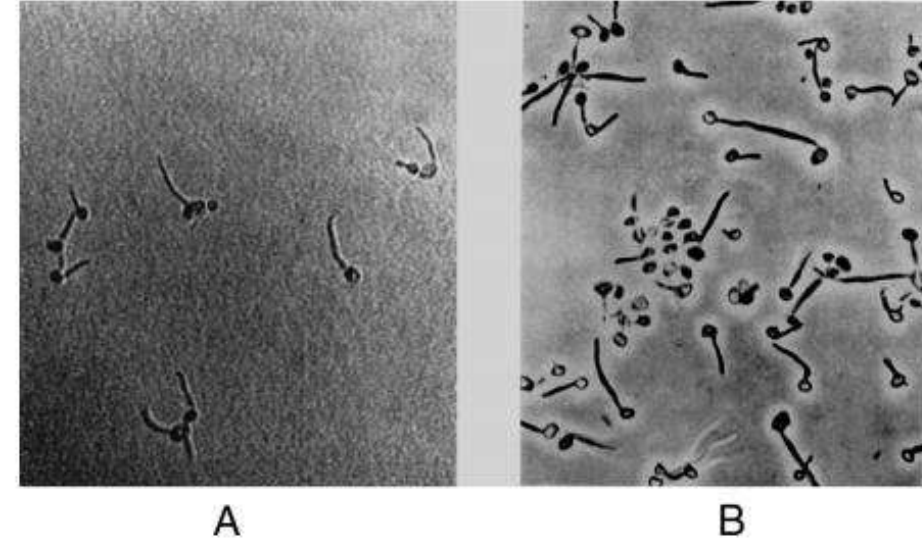


Figure 8. (a) Probably the earliest published photomicrograph of germ tube formation by *Candida albicans* (after incubation for 2 h in serum at 37 °C); from a 1960 paper of Taschdjian and her colleagues [264] in *American Medical Association Journal of Diseases of Children* 99: 212. Copyright © (1960) American Medical Association. All Rights Reserved. (b) Germ tubes of *Candida albicans*, formed from individual yeast-like cells, incubated in bovine serum for 3 h at 37 °C. Photomicrograph published by Mackenzie [158] in 1962. Photomicrographs of germ tubes of *C. albicans* had been included in Donald Mackenzie's PhD thesis [157] in 1958

Fungal Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- 1970 'li yıllardan hızlı tanı arayışları artıyor.

Mycopathologia et Mycologia applicata, vol. 51, 2-3, pag. 143-146, 1973

RAPID DIAGNOSIS OF PULMONARY MYCOSIS BY COUNTERELECTROPHORESIS

by

JUAN C. GALUSSIO., JULIO L. FRIDMAN., RICARDO NEGRONI

Laboratorio de Micología. Hospital Santojanni and Centro de Micología. Facultad de Medicina. Buenos Aires. Argentina.

ABSTRACT

Detection of precipitins in sera from pulmonary mycoses by the counterimmunoelectrophoresis technic is reported. This method is based on the application of a constant current of high potency on the **Outcherlony technic** with the result of a greater concentration of the reagents in the precipitation area and a greater speed of the reaction which can be read after one hour. We have registered positive results in all of 73 sera from patients mycologically proved of S. A. blastomycosis, coccidioidomycoses, histoplasmosis and aspergillosis. No cross reactions have been observed.

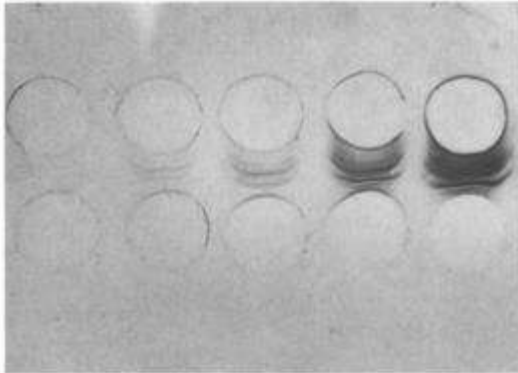


Fig. 1. Immunodiffusion test for Aspergillosis patient no 5, by the counterelectrophoresis technique.

Blastomikoz
Koksidioidomikoz
Histoplazmoz
Aspergilloz

- 1990 'lı yıllara kadar bir sonuç yok.

LABORATORY MEDICINE • VOL. 17, NO. 10, OCTOBER 1986

Rapid Methods for the Diagnosis of Fungal Infections

B. Laurel Elder, PhD, and Glenn D. Roberts, PhD

Commonly Available Identification Systems

Rapid, accurate identification of fungal agents has become essential for the laboratory, particularly in those serving the increasingly frequent compromised patient. Rapid diagnosis can currently be achieved by using direct fungal smears whenever appropriate, by taking advantage of new fungal isolation systems, and by judicious selection of rapid identification tests for organism identification. In addition, knowledge of the fungi seen most frequently in each particular laboratory setting will allow the microbiologist to intensify efforts at identification for those organisms that are deemed most important or that occur most commonly.

Many commercially available yeast identification systems have been available to the microbiologist for a number of years. Most of these systems offer convenience to the laboratory by providing a panel of tests (primarily carbohydrate assimilations) that can be rapidly inoculated at one time. However, the majority of these systems continue to require 48 to 72 hours of incubation before a final identification is available, removing them from the category of "rapid tests." Several companies, however, have recently introduced identification systems that can be read in four to 24 hours, and may be useful as rapid identification systems. These systems have the advantage of identifying a wider spectrum of organisms than the individual tests previously discussed;



Tanıda Geleneksel Yöntemlerin Yeri ve Sınırları

- Nakil hastalarında fungal enfeksiyon şüphesi oluştuğunda, ilk başvurulanan geleneksel tanı yöntemleri genellikle mikrobiyolojik kültür, biyokimyasal testler ve mikroskopik incelemedir.

İnvaziv kandidiyaziste otomatik kan kültürleri ne hızlıdır ne de duyarlı; **%50-70** ve ≥ 72 saat

Dissemine kandidiyazisin **%50'den** fazlası, kan kültürü **hiç pozitif** olmadan ölümle sonuçlanmaktadır (otopsi verileri)

İnvaziv pulmoner aspergilloziste, balgam/BAL kültürleri hastaların **%30-50'inde** negatiftir (otopsi verileri)

Mukormikozda; etken dokuya yerleşir, fungemi yapmaz ve geç ekimde üremez. Olguların **>%50'** negatif



Klinik Mikrobiyolojik Yeni Yöntemler - Tanıda Devrim

- Son zamanlarda;
klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sessiz bir devrim oluyor.



- Yeni yöntemler;
 - daha hızlı
 - daha doğru
 - daha duyarlı
 - daha etkili
 - daha geniş yelpazede tanı
 - daha kolay, otomatize
 - direkt örnekten çalışabilecek sistemler

Klinik Mikrobiyolojik Yeni Yöntemler - Tanıda Devrim

- Son 20 yılda; yeni moleküler tanı platformları, yeni nesil dizileme sistemleri, kütle spektrometreleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında yerini almıştır.



Klinik Mikrobiyolojik Yeni Yöntemler - Tanıda Devrim

- **Nobel Ödüllü** onlarca buluş ve hızla gelişen klinik mikrobiyolojik tanı araçları.

Katot ışınları



Francis Aston

DNA polimeraz



Arthur Kornberg

Dizileme teknikleri



Frederick Sanger

RNA polimeraz



Roger D. Kornberg

PCR



Kary Mullis

CRISPR



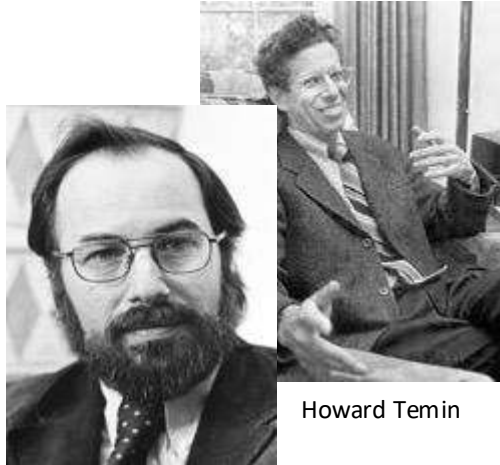
Emmanuelle Charpentier, Jennifer Doudna

Retsriksiyon endonükleaz



Werner Arber

Revers transkriptaz



David Baltimore

Howard Temin

ESI



John B. Fenn

ELISA



Rosalyn Sussman Yalow

MALDI



Koichi Tanaka

Klinik Mikrobiyolojik Yeni Yöntemler - Tanıda Devrim

- Klinik mikrobiyoloji farklı alanlarda yeniden tanımlanıyor
- Transplantasyon enfeksiyonları için Gelişen Mikrobiyolojik Tanı: Bir Paradigma Değişiminin Zirvesinde

American Journal of Transplantation 2009; 9: 249–250
Wiley Periodicals Inc.

Editorial

© 2009 The Authors
Journal compilation © 2009 The American Society of
Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons
doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02437.x

Transplantation Microbiology: An Evolving Pillar of Transplant Care

Review



Emerging Microbiology Diagnostics for Transplant Infections: On the Cusp of a Paradigm Shift

Marwan M. Azar, MD,¹ David C. Gaston, MD, PhD,¹ Camille N. Kotton, MD,² and Maricar F. Malinis, MD^{1,3}

Abstract. In light of the heightened risk for infection associated with solid organ and hematopoietic stem cell transplantation, rapid and accurate microbiology diagnostics are essential to the practice of transplant clinicians, including infectious diseases specialists. In the last decade, diagnostic microbiology has seen a shift toward culture-independent techniques including single-target and multiplexed molecular testing, mass-spectrometry, and magnetic resonance-based methods which have together greatly expanded the array of pathogens identified, increased processing speed and throughput, allowed for detection of resistance determinants, and ultimately improved the outcomes of infected transplant recipients. More recently, a newer generation of diagnostics with immense potential has emerged, including multiplexed molecular panels directly applicable to blood and blood culture specimens, next-generation metagenomics, and gas chromatography mass spectrometry. Though these methods have some recognized drawbacks, many have already demonstrated improved sensitivity and a positive impact on clinical outcomes in transplant and immunocompromised patients.

(*Transplantation* 2020;104: 1358–1384).

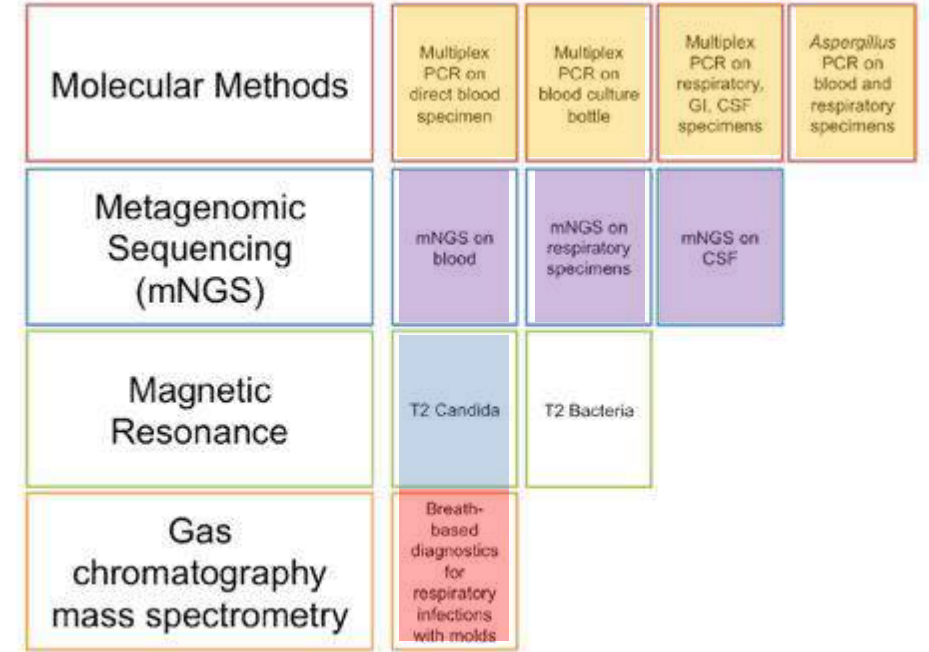


FIGURE 1. Overview of emerging diagnostics for transplant infectious diseases. CSF, cerebrospinal fluid; GI, gastrointestinal; PCR, polymerase chain reaction.

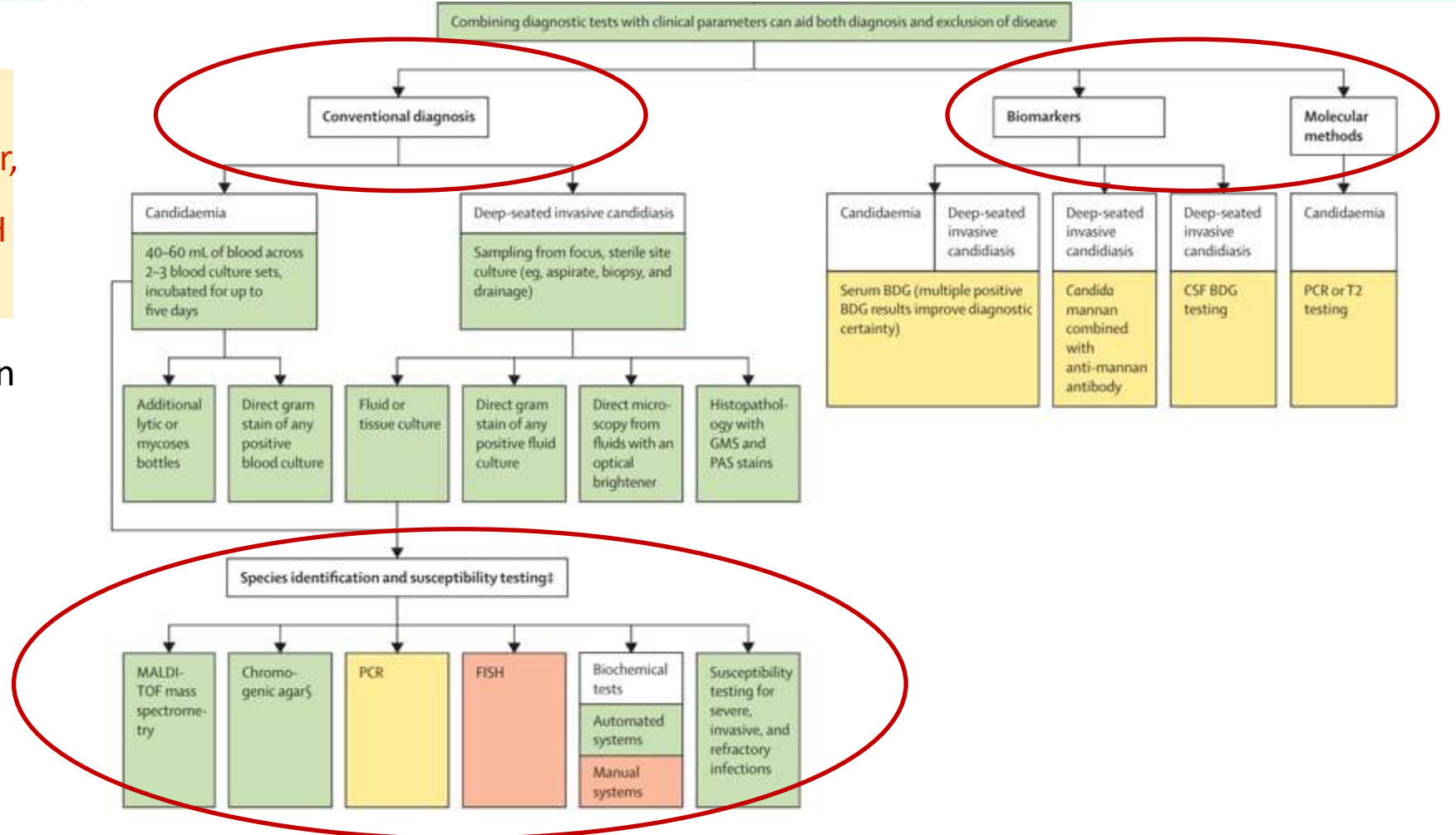
Bu teknolojik dönüşüm, invaziv fungal enfeksiyonlarda 'g
tanı sorununu gerçekten çözebildi mi?

Kılavuzlar ne diyor?

- Güncel kılavuzlar (EORTC/MSGERC, AST-IDCOP, EMM/ISHAM/ASM) invaziv mantar tanısında geleneksel yöntemlerin özellikle yüksek riskli SOT alıcılarında yetersiz kaldığını vurgulamaktadır.

- Kılavuzlara göre;

galaktomannan, β -D-glukan, PCR / T2 gibi moleküler testler, MALDI- TOF sistemleri ve FISH temelli testler, erken tanı ve zamanında tedavi kararları için vazgeçilmez hale gelmiştir.



Biyobelirteçler Galaktomannan ve Beta-D-glukan Testleri

- Galaktomannan ve β -D-glukan, 1990'lardan itibaren geliştirilen invaziv mantar enfeksiyonlarının tanısında **kültür dışı** biyobelirteçler olarak klinik kullanıma girdi
- Özellikle **aspergilloz ve kandidiyaziste** erken tanıyı hızlandıran ancak hiçbir zaman kültür ve histopatolojinin yerini tamamen alamayan testlerdir.

Test	Hedef	Duyarlılık	Özgüllük	Kör Nokta
Galaktomannan (GM)	<i>Aspergillus</i>	Serum %60–80, BAL %80–90	%85–95	Profilaksi/tedavide yalancı negatif
β -D-glukan (BDG)	Pan-fungal	%70–90	%75–85	<i>Cryptococcus</i> , <i>Mucorales</i>



Biyobelirteçler Galaktomannan ve Beta-D-glukan Testler

- Serolojik tanı, CLIA tabanlı otomatize sistemlerin

tek örnek çalışmaya olanak sağlamasıyla, invaziv mantar enfeksiyonlarında hız, duyarlılık ve laboratuvar güvenilirliği açısından belirgin bir dönüşüm geçirmiştir.



Biyobelirteçler Galaktomannan ve Beta-D-glukan Testler

- CLIA tabanlı GM ve BDG testleri,

SOT alıcılarında tek örnek çalışma avantajıyla tanıya ulaşma süresini kısaltarak klinik karar sürecini hızlandırmaktadır.



SOT alıcılarında invaziv aspergilloz tanısında;
- serum örneklerinde %65–80
- BAL örneklerinde ise %80–90 duyarlılık



SOT alıcılarında invaziv fungal enfeksiyon tanısında;
- %70–85 duyarlılık
- %75–90 özgüllük



GM + BDG kombinasyonu, SOT alıcıları gibi yüksek riskli hasta gruplarında, tanısal duyarlılığı yaklaşık %10–20 oranında artırmaktadır.

Moleküler Tanı Testleri ve Kütle Spektrometrisine Dayalı Yöntemler

- Moleküler tanı testleri ve MALDI-TOF MS, özellikle SOT alıcılarında invaziv mantar enfeksiyonlarında, **kültürden bağımsız** veya **kültür sonrası hızlı ve yüksek doğrulukta** etken tanımlaması sağlayarak serolojik ve konvansiyonel yöntemlere alternatif olarak araştırılmaktadır
 - Pozitif kan kültüründen direkt tespit yapan yöntemler
 - Pozitif kültür plağından çalışanlar
 - Direkt klinik örnekten (kültürden bağımsız) yöntemler (kan, BAL, BOS vb.)



Hibridizasyon Temelli Yöntemler

- 1970'li yıllardan itibaren geliştirilmeye başlandı, nükleik asit özgüllüğünü tanıya taşıyarak, kültürden bağımsız etken saptamanın temelini oluşturmuştur.

MOLECULAR HYBRIDIZATION OF RADIOACTIVE DNA TO THE DNA OF CYTOLOGICAL PREPARATIONS

BY MARY LOU PARDUE AND JOSEPH G. GALL

KLINE BIOLOGY TOWER, YALE UNIVERSITY

Communicated by Norman H. Giles, August 13, 1969

Abstract.—A method is presented for detecting the cellular location of specific DNA fractions. The technique involves the hybridization of a radioactive test DNA in solution to the stationary DNA of a cytological preparation. Sites of DNA binding are then detected by autoradiography. Experiments with DNA of the toad *Xenopus* are described.

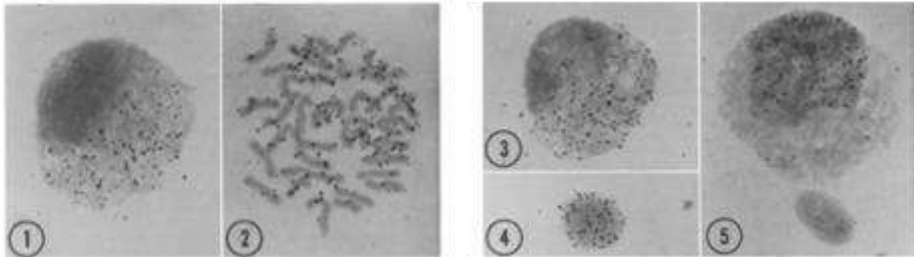
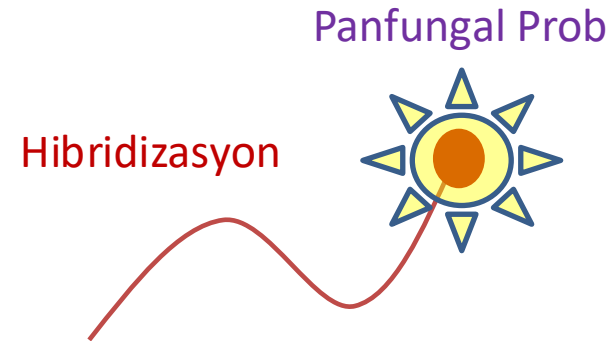


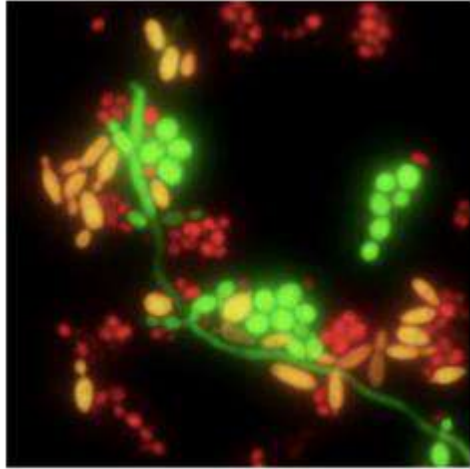
FIG. 1-4.—Autoradiographs of nuclei from the ovary of the toad *Xenopus* after cytological hybridization with radioactive *Xenopus* DNA which lacked the ribosomal cistrons. The DNA of these squash preparations was denatured *in situ*. The slide was then incubated with a solution of radioactive test DNA from which the rDNA had been removed by separation on a CsCl density gradient. The specific activity of the test DNA was 130,000 cpm/ μ g. The slides were stained with Giemsa.



Hibridizasyon Temelli Yöntemler

- Yeast Traffic Light® PNA FISH®

Pozitif kan kültürlerinden *Candida* türlerini doğrudan ve hızlı tanımlamak için tasarlanmış bir PNA-FISH (peptid nükleik asit floresan in situ hibridizasyon) kitidir.



Yeast Traffic Light® PNA FISH® Rapid Identification of Five *Candida* Species Directly from Positive Blood Cultures

Yeast Traffic Light PNA FISH provides rapid identification of up to five *Candida* species including *C. albicans* and/or *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* and *C. glabrata* and/or *C. krusei* directly from yeast-positive blood cultures in just 90 minutes. The test enables

microbiology labs to report identification results 2-5 days' sooner than with conventional methods.



valuation of PNA-FISH Yeast Traffic Light for Rapid Identification f Yeast Directly from Positive Blood Cultures and Assessment of linical Impact

R. H. Stone, R. L. Gorton, K. Barker, P. Ramnarain, C. C. Kibbler
partment of Microbiology, Royal Free Hospital, London, United Kingdom

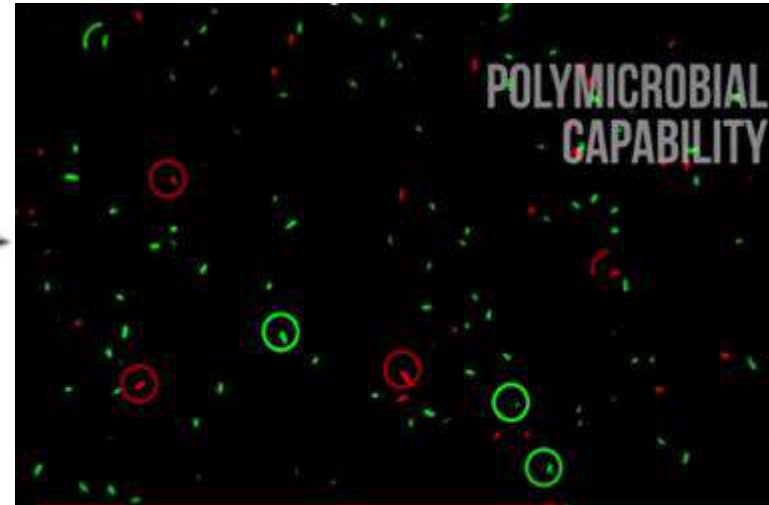
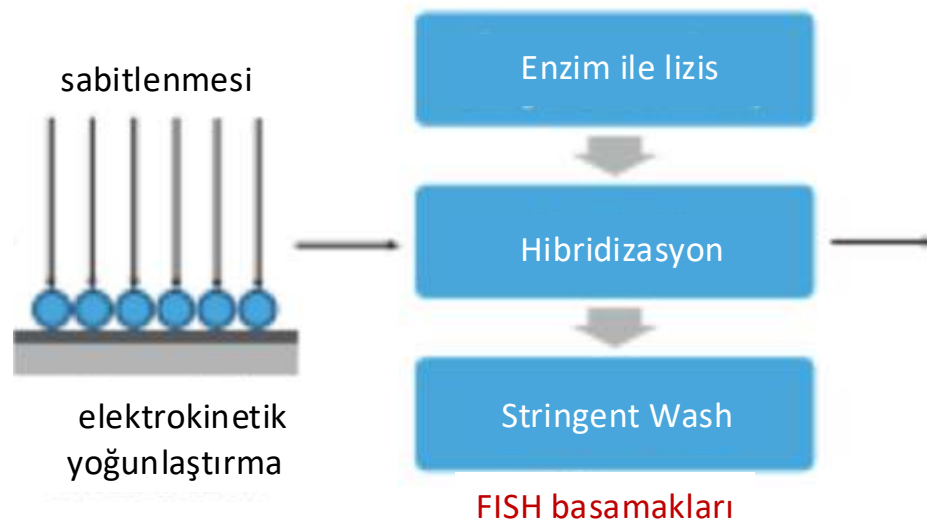
ie PNA-FISH Yeast Traffic Light assay was performed on 54 clinical isolates of yeasts inoculated into blood culture bottles. The say showed high sensitivity (*Candida albicans*/*C. parapsilosis*, 100%; *C. glabrata*/*C. krusei*, 92.3%; *C. tropicalis*, 100%) and ecificity (*C. albicans*/*C. parapsilosis*, 100%; *C. glabrata*/*C. krusei*, 94.8%; *C. tropicalis*, 100%). Case note review estimated a ange in therapy in 29% of cases had the PNA-FISH result been available to the clinician.

FDA onaylı

hedeflediği *Candida* türlerini %96 doğrulukla tanımladığı
gösterilmiştir.

Hibridizasyon Temelli Yöntemler

- **Accelerate PhenoTest™ BC**; **pozitif kan kültürü şişelerden** hızlı tanımlama için **FISH** ve fenotipik duyarlılık için zaman atlamalı mikroskop kullanan bir sistemdir.



Sınırlı Kapasite

C. albicans

duyarlılık %100, özgüllük %99.3

C. glabrata

duyarlılık %80, özgüllük %97.9

Amplifikasyon temelli sistemler

- Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı testler,

Tek bir cinse/türe özgü PCR (*Aspergillus fumigatus* PCR, Candida türleri paneli PCR), Pan-fungal PCR

The Nobel Prize in Chemistry 1993

The Royal Swedish Academy of Sciences awards this year's Nobel Prize in Chemistry to



Kary B. Mullis
USA, for his invention of the
polymerase chain reaction (PCR)
method

tanısal moleküler
mikrobiyoloji

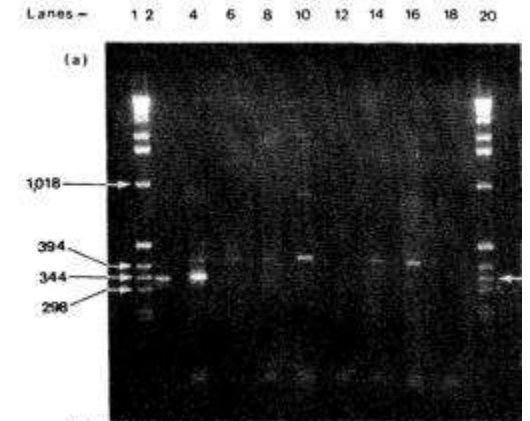


Detection of *Pneumocystis carinii* with DNA amplification

A. E. WAKEFIELD F. J. PIXLEY S. BANERJI K. SINCLAIR
R. F. MILLER E. R. MOXON J. M. HOPKIN

Oligonucleotide primers and probes were used in the polymerase chain reaction to amplify *Pneumocystis carinii* specific DNA sequences from alveolar lavage samples from 47 diagnostic bronchoscopies. No *P. carinii* DNA was found in lavage from 10 immunocompetent patients; only low levels were found in 3 of 13 samples from immunosuppressed individuals without *P. carinii* pneumonia (PCP), and the highest levels, readily demonstrated by simple ethidium bromide staining, were found in all of 16 samples from immunosuppressed patients with PCP confirmed by means of standard silver staining and in 4 from patients with clinical PCP but negative silver staining. DNA amplification provides a highly sensitive and specific technique for the identification of *P. carinii* that should be valuable in epidemiological studies on this parasitic infection and in diagnosis.

Lancet 1990; 336: 451-53.



Amplifikasyon temelli sistemler

- **Aspergillus PCR; direkt örnekten**

iki ardışık pozitif kan Aspergillus PCR sonucunun invaziv aspergillozis için

özgüllüğünün %85-95, duyarlılığın ise %70-80 aralığında değiştiği gösterilmiştir.



Home » Working Groups » **Fungal PCR Initiative**

Fungal PCR Initiative

Mission Statement

The EAPCRI changed its name to the Fungal PCR initiative to allow it to start evaluating and standardize PCR testing of *Candida*, *Pneumocystis*, Mucorales species and fungal infection specifically within tissue, while also progressing on the existing work of the *Aspergillus* group. The overall structure of each specific PCR working group remains a partnership between clinical and laboratory working parties, each supported by the statistical working party, with the overall direction still maintained by the steering committee. It is hoped that Working Group will succeed in its aims and ambitions.

- FPCRI Symposium „The role of PCR for the laboratory diagnosis of invasive fungal diseases“ at ISHAM 2025 Iguaçu Falls-Brazil May 20-24, 2025 (with the active participation of the FPCRI members L. White, A. Alanio, L. Millon, R. Gorton).
- FPCRI Session at TIMM 2025 Bilbao, Spain 19 – 22 September 2025.

Amplifikasyon temelli sistemler

- Direkt örnekten PCR tabanlı testler,

standardize oldukça, EORTC tanı kriterlerine “mikolojik delil” olarak dahil edilmeye başlanmıştır.

- 2020 EORTC-MSGERC güncellemesinde *Aspergillus* PCR testleri uygun standardizasyonla yapılmışsa probable tanı kategorisinde kullanılabileceği belirtilmiştir

Table 2. Probable Invasive Pulmonary Mold Diseases

CSF: ≥ 1.0
<i>Aspergillus</i> PCR
Any 1 of the following:
Plasma, serum, or whole blood 2 or more consecutive PCR tests positive
BAL fluid 2 or more duplicate PCR tests positive
At least 1 PCR test positive in plasma, serum, or whole blood and 1 PCR test positive in BAL fluid
<i>Aspergillus</i> species recovered by culture from sputum, BAL, bronchial brush, or aspirate

- Kan/serum/plazmada ardışık ≥ 2 PCR pozitifliği
- Aynı BAL'da ≥ 2 tekrar örneğin PCR pozitifliği
- Kan + BAL kombinasyonunda en az birer PCR pozitifliği

Amplifikasyon temelli sistemler

- **Direkt Kandan Candida PCR**; literatür derlemelerde ve meta analizlerde duyarlılık **59–100%** arası, özgüllük **92–96%** bandında gibi geniş aralıklar veriyor
- Standardizasyon eksikliği ve klinik performans verisinin heterojenliği yüzünden kılavuzlar net öneri üretmekte zorlanıyor.

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2011, p. 665–670
0095-1137/11/\$12.00 doi:10.1128/JCM.01602-10
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 49, No. 2

PCR Diagnosis of Invasive Candidiasis: Systematic Review and Meta-Analysis[†]

Tomer Avni,^{1*} Leonard Leibovici,¹ and Mical Paul²

Medicine E¹ and Unit of Infectious Diseases,² Rabin Medical Center, Beilinson Hospital and Sackler Faculty of Medicine, Tel-Aviv University, Tel Aviv, Israel

Received 9 August 2010/Returned for modification 15 September 2010/Accepted 17 November 2010

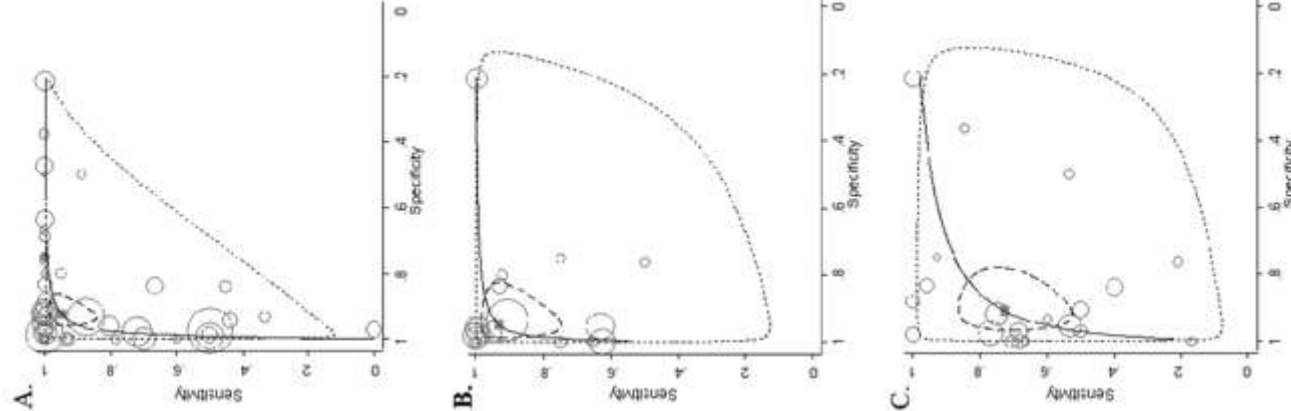
SOT alıcılarında **Candida PCR** “tek başına tanı koydurucu test” olmaktan çok;

- yüksek risk + klinik şüphe olan hastada **kültüre ek**
- mümkünse **biyobelirteçlerle birlikte**
- **Kılavuzların temkinli kalmasının sebebi de bu heterojenlik.**

Candidemia (TP I)

kanıtlanmış–olası IC

kanıtlanmış – olası- **mümkün IC**



Amplifikasyon temelli sistemler

- T2Candida® Biosystem, direkt kandan tanı sağlayan, örnek hazırlama–amplifikasyon–okuma adımlarını tek platformda
- invaziv kandidemi tanısı FDA 2016 / doğrudan kandan Candida türlerini 3–5 saatte saptayan ilk FDA-onaylı panel 2024
- Kan kültür sistemlerinde 3 kat daha duyarlı ve en az 2 gün daha hızlı.

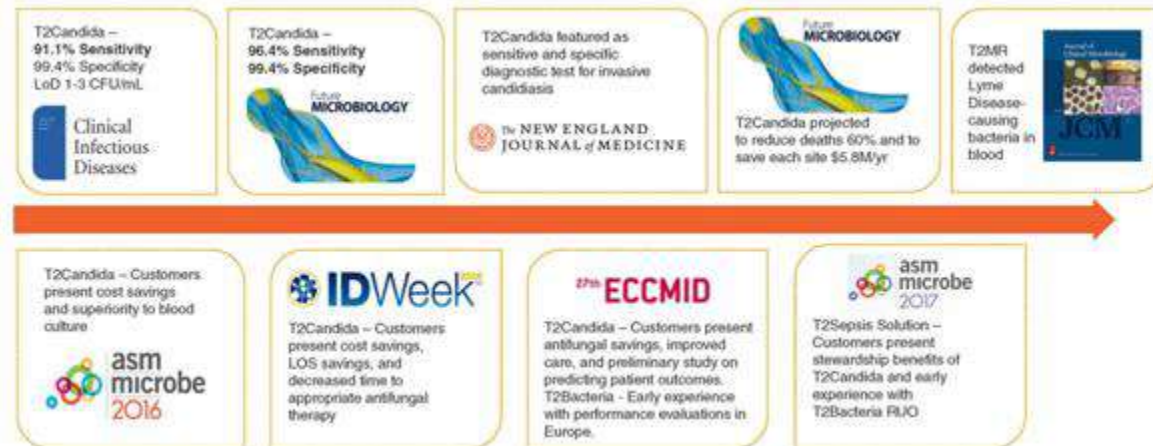


Direkt kandan

C. albicans/tropicalis,

C. Parapsilosis

C. glabrata/krusei



Amplifikasyon temelli sistemler

- *T2 Candida Panel- magnetic resonance*

1 yıl takip, 5100 hastada tanı, yaklaşık 6 milyon dolar daha az harcama

RESEARCH ARTICLE

For reprint orders, please contact: reprints@futuremedicine.com

The economic impact of rapid *Candida* species identification by T2Candida among high-risk patients

Sara Pinar Bilir^{*†}, Cheryl P Ferrufino[†], Michael A Pfaller^{2,3} & Julie Munakata[†]

ABSTRACT Introduction: This study estimates the cost-effectiveness and hospital budget impact of rapid candidemia identification using T2Candida, a novel diagnostic panel with same-day species-specific results. **Materials & Methods:** A 1-year decision-tree model estimates hospital costs (2013 US\$) and effects (candidemia-related deaths) for faster diagnostics versus blood culture (BC), accounting for disease prevalence, distribution of *Candida* species, test characteristics (sensitivity/specificity/time to result), antifungal medication and differential length-of-stay and mortality by appropriate treatment timing. **Results:** The model estimates a hospital with 5100 annual high-risk patients could possibly save \$5,858,448 with T2Candida versus BC, a 47.6% decrease in candidemia diagnosis and treatment budget (\$1149/patient tested), while averting 60.6% of candidemia-related mortality. **Conclusion:** Hospitals may observe lower candidemia-related inpatient costs and mortality with rapid *Candida* diagnosis.



- 1 yıllık decision-tree (karar ağacı) modeli
- Hipotetik bir hastane senaryosu (yıllık 5100 yüksek riskli hasta)
- Literatürden alınmış verilerle simülasyon

T2Candida kullanımının kandidemiye bağlı mortaliteyi
%60 oranında azaltabileceği öngörülmüştür

Amplifikasyon temelli sistemler

- *T2 Candida Panel*
- T2Candida Panelinin Klinik Kullanımı: 2000'den Fazla Olgunun Gerçek Hayat Analizi

Mycopathologia (2025) 190:71
<https://doi.org/10.1007/s11046-025-00979-x>

ORIGINAL ARTICLE

Clinical Utility of the T2Candida Panel: A Real-World Analysis of More Than 2000 Cases

Felix Lötsch · Lukas Bouvier-Azula · Wolfgang Barousch · Iris Camp · Peter Starzengruber · Athanasios Makristathis · Birgit Willinger

- 42 BC(+) kandidemi olgusunun 16'sı T2Candida(-) → duyarlılık ≈ %62
- T2Candida pozitif 80 olgunun 64'ü kan kültürü negatif
- T2 pozitif / Kan kültürü negatif olan 64 olgunun klinik dağılımı
 - Kesin kandidemi: 28
 - Olası kandidemi: 11
 - Şüpheli kandidemi: 15
 - Kandidemi ile uyumsuz: 10

Table 2 Diagnostic performance of the T2Candida panel with the single closest pair of blood cultures ±1 day as reference

Combined species	Single pair of blood culture		Total
	Positive	Negative	
T2 (all episodes)			
Positive	16	64	80
Negative/invalid	10	1728	1738
Total	26	1792	1818
Sensitivity	0.62 (95% CI 0.41–0.80)		
Specificity	0.96 (95% CI 0.95–0.97)		
PPV	0.20 (95% CI 0.12–0.30)		
NPV	0.99 (95% CI 0.99–1.00)		
Agreement	0.96 (95% CI 0.95–0.97)		

Zaman Kazancı:

T2 : 3.9 saat

Kan kültürü: 22.7–42.0 saat

28-gün sağkalım:

T2(+) grubu %68

Sadece BC(+) grubu %65

Amplifikasyon temelli sistemler

- T2Candida®, solid organ transplant alıcılarında sınırlı sayıda çalışma ve kongre bildirilerinde değerlendirilmiş.
- Özellikle hızlı negatif sonuçlarıyla antifungal stewardship amacıyla kullanılmıştır

Yayın	Tasarım / merkez	Popülasyon	N	Ana bulgu (slaytlık)
McCarty ve ark., ATC 2018 (C344)	Retrospektif gözlem, tek merkez	SOT (böbrek/karaciğer/akciğer/kalp)	66 T2 testi	
Hussain ve ark., OFID 2018 (IDWeek/Poster)	Retrospektif, çok hastaneli sistem	Transplant (Tx) vs non-Tx (Tx alt kırılımı verilmemiş)	1272 (Tx=110)	
Chaudhry ve ark., OFID 2019 (Poster 247)	Retrospektif; stewardship odaklı	Tx vs non-Tx (T2-/BC-kohortu)	472 (Tx=93)	
Falces-Romero ve ark., 2018	Vaka raporu	Pediyatrik multivisceral transplant + kandidemi	1	
Fortún ve ark., 2018	Vaka raporu	Karaciğer transplant; kandidemi olmadan derin invaziv kandidiyazis şüphesi	1	

Amplifikasyon temelli sistemler

- Sendromik ve Panel Testler, PCR temelli tanı sistemlerinin geldiği en son nokta

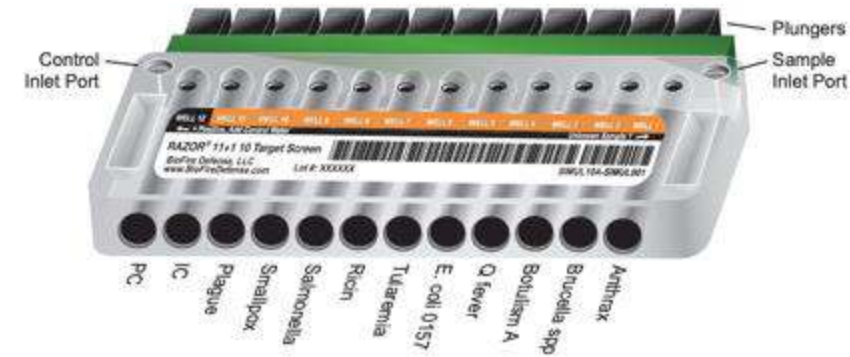


GRAM-NEGATIVE BACTERIA
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex
<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Enterobacteriales</i>
• <i>Enterobacter cloacae</i> complex
• <i>Escherichia coli</i>
• <i>Klebsiella aerogenes</i>
• <i>Klebsiella oxytoca</i>
• <i>Klebsiella pneumoniae</i> group
• <i>Proteus</i> spp.
• <i>Salmonella</i> spp.
• <i>Serratia marcescens</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

YEAST
<i>Candida albicans</i>
<i>Candida auris</i>
<i>Candida glabrata</i>
<i>Candida krusei</i>
<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Candida tropicalis</i>
<i>Cryptococcus</i> (<i>C. neoformans</i> / <i>C. gatii</i>)

GRAM-POSITIVE BACTERIA
<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Staphylococcus</i> spp.
• <i>Staphylococcus aureus</i>
• <i>Staphylococcus epidermidis</i>
• <i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Streptococcus</i> spp.
• <i>Streptococcus agalactiae</i>
• <i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>

ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES
<i>Carbapenemase</i>
BMP
KPC
OXA-48-like
NDM
YIM
<i>Colistin Resistance</i>
mcr-T
ESBL
CTX-M
<i>Methicillin Resistance</i>
mecA/C
mecA/C and MREJ (MRSA)
<i>Vancomycin Resistance</i>
vanA/B



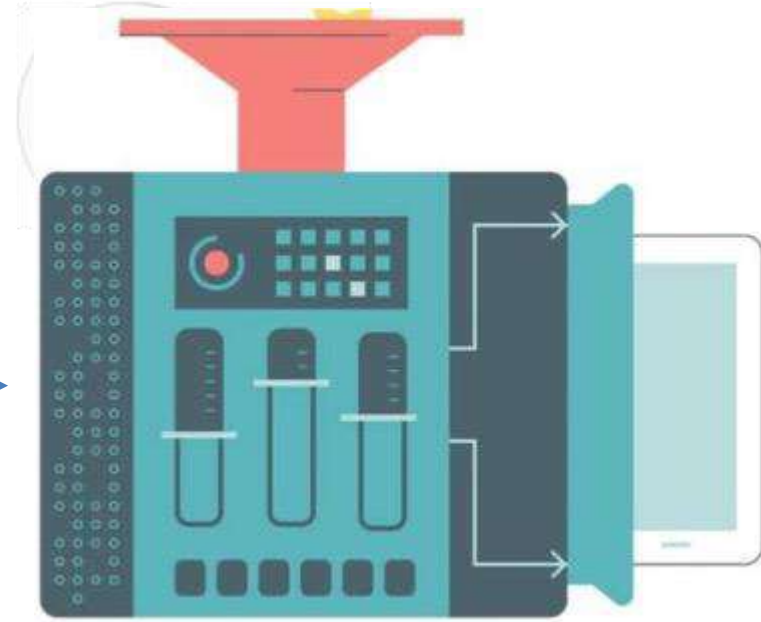
Amplifikasyon temelli sistemler

- **Sendromik testler / cihazlar;** aynı anda birden çok hedefin tespit edildiği genellikle PCR temelli tam otomatize sistemlerdir.
PCR temelli tanı için gereken tüm adımlar tek cihazda, ek müdahale gerektirmez

ALL-IN-ONE



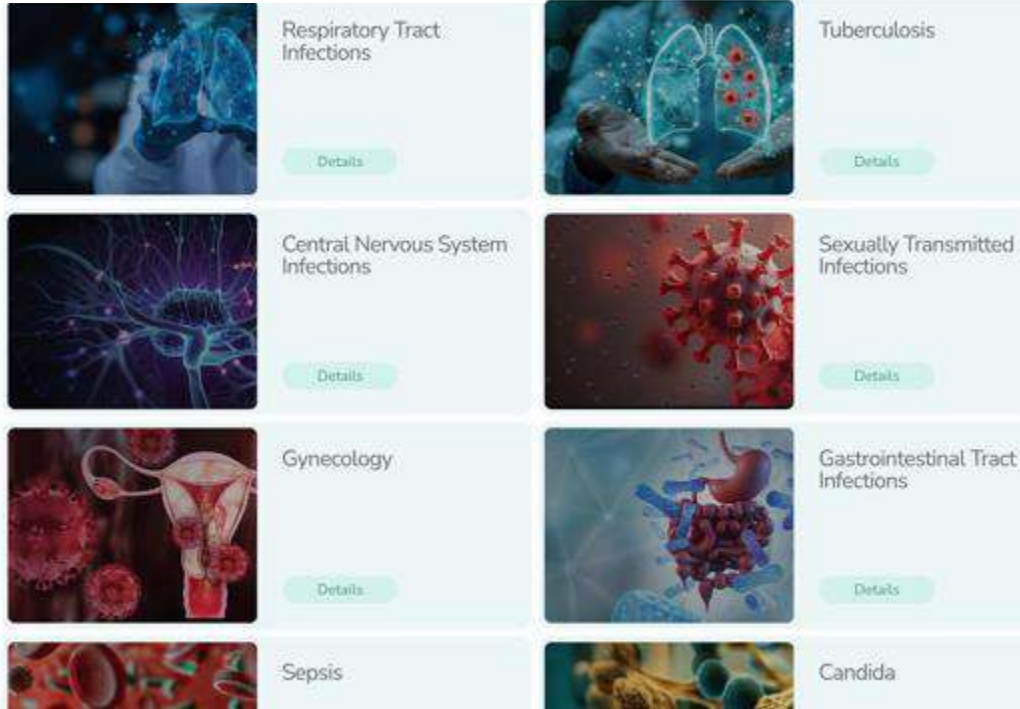
Örnek



Amplifikasyon temelli sistemler

- Sendromik Tanı Testleri – **Multipleks Panel Testler**
- Panel testler teknik olarak çoklu hedef içeren multipleks PCR testlerdir

bi^oeksen
MOLECULAR DIAGNOSTICS



Amplifikasyon temelli sistemler

- Sendromik Tanı Testleri – Multipleks Panel Testler

Platform	Mantar hedefi olanlar	Hangi mantarlar?	Klinik örnek / kullanım
BioFire FilmArray	BCID2 ve ME (Meningitis/Encephalitis)	BCID2: <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. auris</i> + <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> nME: <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	BCID2: Pozitif kan kültürü şişesi (Gram/klinikle birlikte yorum) \nME: BOS
QIAstat-Dx	Meningitis/Encephalitis (ME) Panel	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> (ikisini ayırmadan raporlar)	BOS
ePlex (GenMark)	BCID-FP (Fungal Pathogen) Panel	<i>C. albicans</i> , <i>C. auris</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. kefyr</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> , <i>Fusarium</i> ve <i>Rhodotorula</i>	Pozitif kan kültürü şişesi

Amplifikasyon temelli sistemler

- Sendromik Tanı Testleri – Multipleks Panel Testler
- Fungiplex Candida PCR (Bruker) , invaziv fungal enfeksiyonlarda kültürün geciktiği veya negatif kaldığı durumlarda direkt kandan erken ve hedefe yönelik tedaviye olanak sağlar.



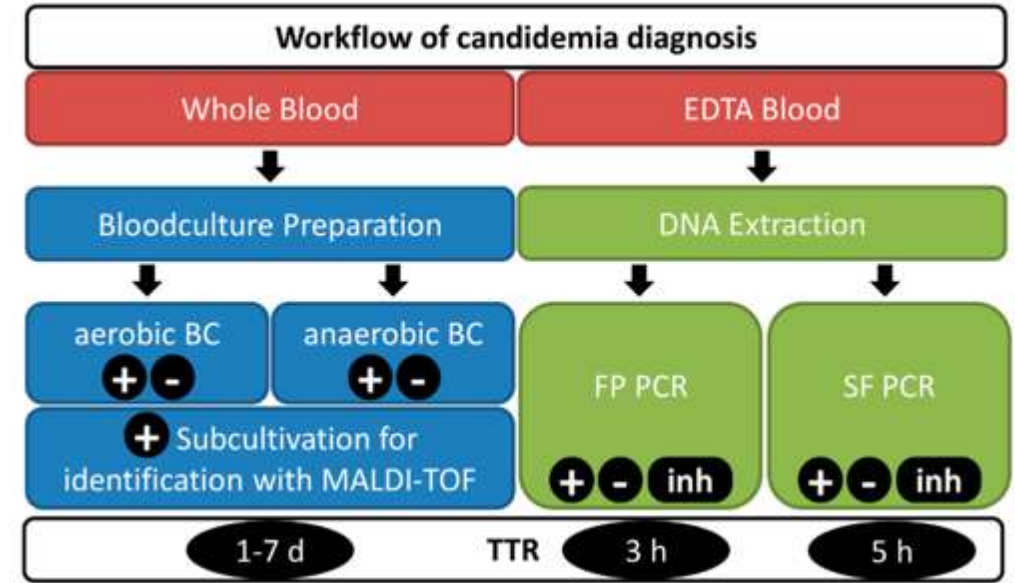
Communication

Diagnostic Performance of a Novel Multiplex PCR Assay for Candidemia among ICU Patients

Stefan Fuchs, Cornelia Lass-Flörl[†] and Wilfried Posch^{*†}

Institute of Hygiene and Medical Microbiology, Medical University of Innsbruck, 6020 Innsbruck, Austria

* Correspondence: wilfried.posch@i-med.ac.at; Tel.: +43-512-9003-70706; Fax: +43-5129-003-73700



Yüksek riskli hasta gruplarında (ICU, immünsüprese) erken tanı avantajı:

Duyarlılık: %100 → 8 gerçek kandidemi olgusu → PCR 8/8 pozitif

Özgüllük: %94 → 50 kültür-negatif örnek → PCR 3 tanesinde pozitif

Amplifikasyon temelli sistemler

- Sendromik Tanı Testleri – Multipleks Panel Testler
- Fungiplex Candida PCR (Bruker) , invaziv fungal enfeksiyonlarda kültürün geciktiği veya negatif kaldığı durumlarda direkt kandan erken ve hedefe yönelik tedaviye olanak sağlar.



Article

Performance of Multiplex PCR and β -1,3-D-Glucan Testing for the Diagnosis of Candidemia

Özlem Koc ¹, Harald H. Kessler ², Martin Hoenigl ³, Johannes Wagener ^{4,5}, Sebastian Suerbaum ¹, Sören Schubert ^{1,*} and Karl Dichtl ^{1,2,*}

Kan kültürü pozitif 103 Kandidemi olgusunun serum örneklerini değerlendirdi.

PCR Duyarlılık: 33 %

PCR Özgüllük : 93 %

BDG Duyarlılık: 58 %

BDG Özgüllük : 89 %

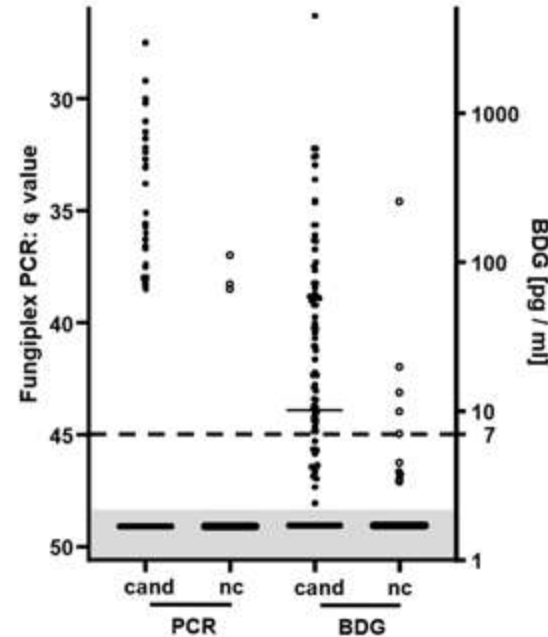


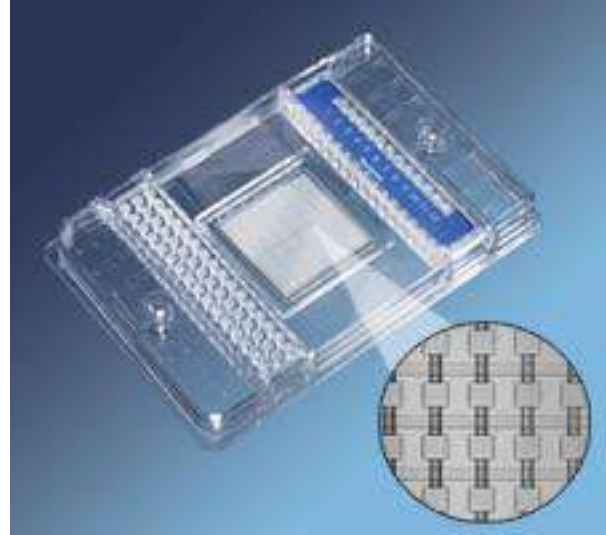
Figure 1. Plot of analytical measuring results of sera of candidemia patients (cand; full circles) and negative controls (nc; empty circles). The dotted line indicates the cut-off of both assays. For samples, which were tested positive in more than one PCR, only one result was considered for this graph. BDG concentrations below the limit of detection and negative PCR results are plotted (not to scale) in the grey shaded area.

Amplifikasyon temelli sistemler

- Dijital PCR; Sayılamayı say, ölçülenemeyeni ölç, ölçülemeyen ölçülebilir yap. *Galileo Galilei*



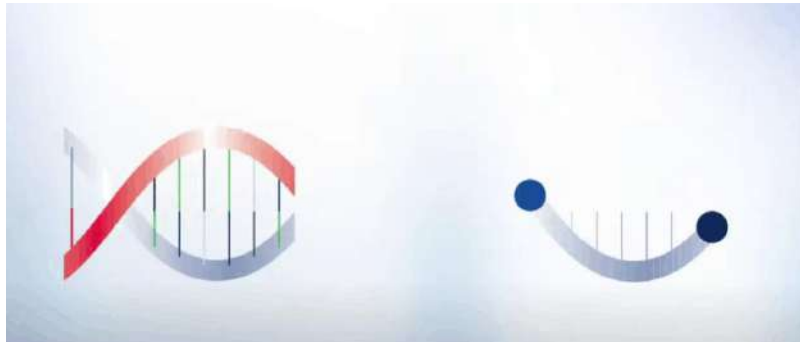
Plate temelli sistemler / dPCR



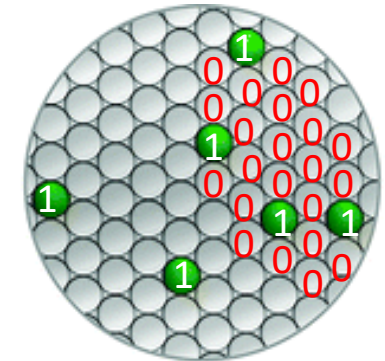
Damlacık temelli sistemler / ddPCR



EvaGreen



FAM, HEX, VIC



1, 0

Amplifikasyon temelli sistemler

- Dijital PCR;

RainSure
SCIENTIFIC

Sepsis pathogenic microorganism detection

A New Progress In Sepsis Diagnosis

21 pathogenic bacteria and fungi in 4 hours
from 2 mL whole blood sample without
blood culture
15 hours faster than culture+RT-PCR

[Read More >](#)



Sepsis Pathogenic Microorganism Detection Kit (Digital PCR)

- LoD 3-5 copies/uL
- Lab on a chip; no sample transfer, no cross contamination
- Highly automated; prevents laboratory-acquired infection
- Sample in results out in less than 5 hours

Bacteroides fragilis
Staphylococcus epidermidis
Enterococcus faecium
Streptococcus pneumoniae
Acinetobacter baumannii
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Staphylococcus aureus
Klebsiella pneumoniae
Pseudomonas aeruginosa
Escherichia coli
Staphylococcus capitis
Stenotrophomonas maltophilia
Candida tropicalis
Candida krusei
Cryptococcus neoformans
Serratia marcescens
Candida parapsilosis
Candida glabrata
Haemophilus influenzae
Candida albicans

Amplifikasyon temelli sistemler

- Dijital PCR;
- invaziv pulmoner aspergilloz (IPA) şüphesiyle izlenen 158 hastada, BALF ve plazma örneklerinden
- Tanısal performans, EORTC/MSG kriterlerine göre sınıflandırılmış IPA ve non-IPA olgularında karşılaştırılmıştır.



Clinical evaluation of droplet digital PCR in suspected invasive pulmonary aspergillosis

Yang Liu^{a,1}, Qiuping Tang^{a,1}, Sishi Tang^{a,1}, Hengjian Huang^b, Lanxi Kou^b, Yi Zhou^a, Hongxia Ruan^a, Yu Yuan^a, Chao He^{a,*}, Binwu Ying^{a,*}

^a Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, PR China

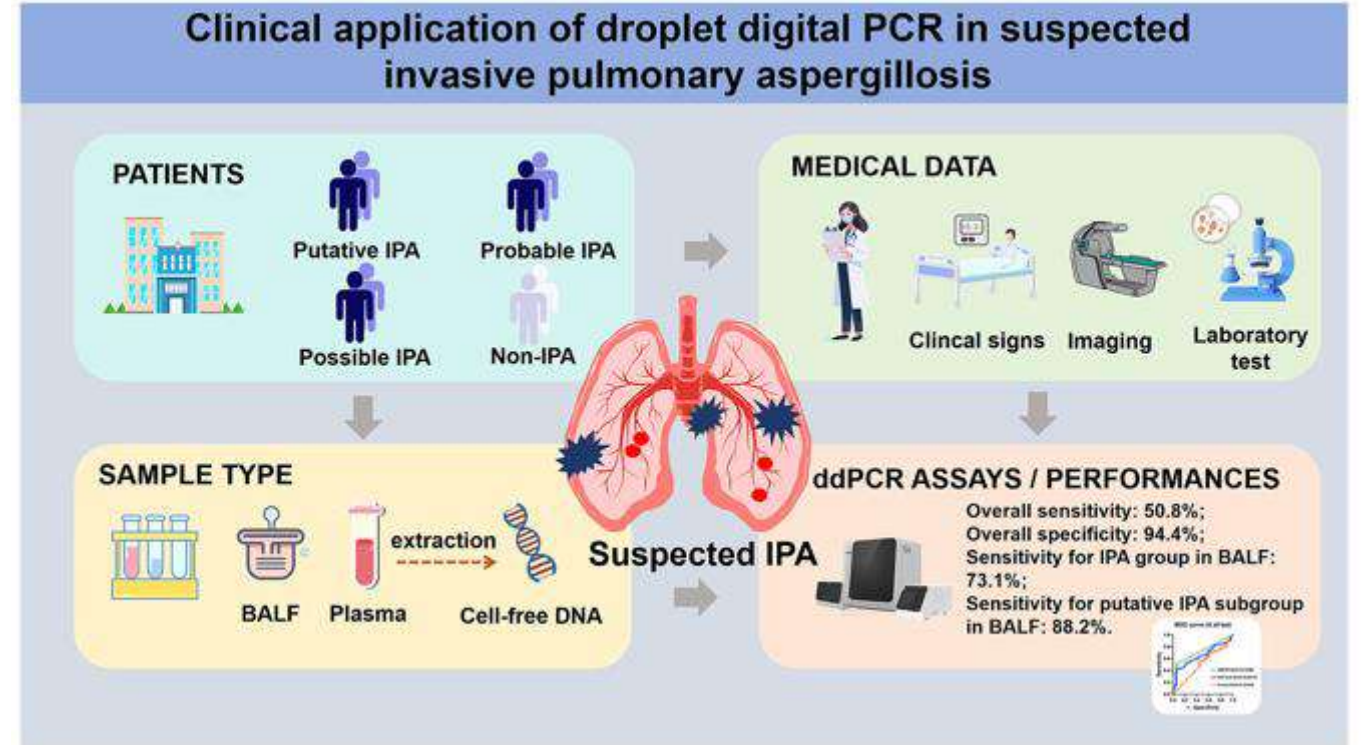
^b West China Precision Medicine Industrial Technology Institute, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, PR China

BALF

- Duyarlılık: %73.1
- Putative IPA'da duyarlılık: %88.2

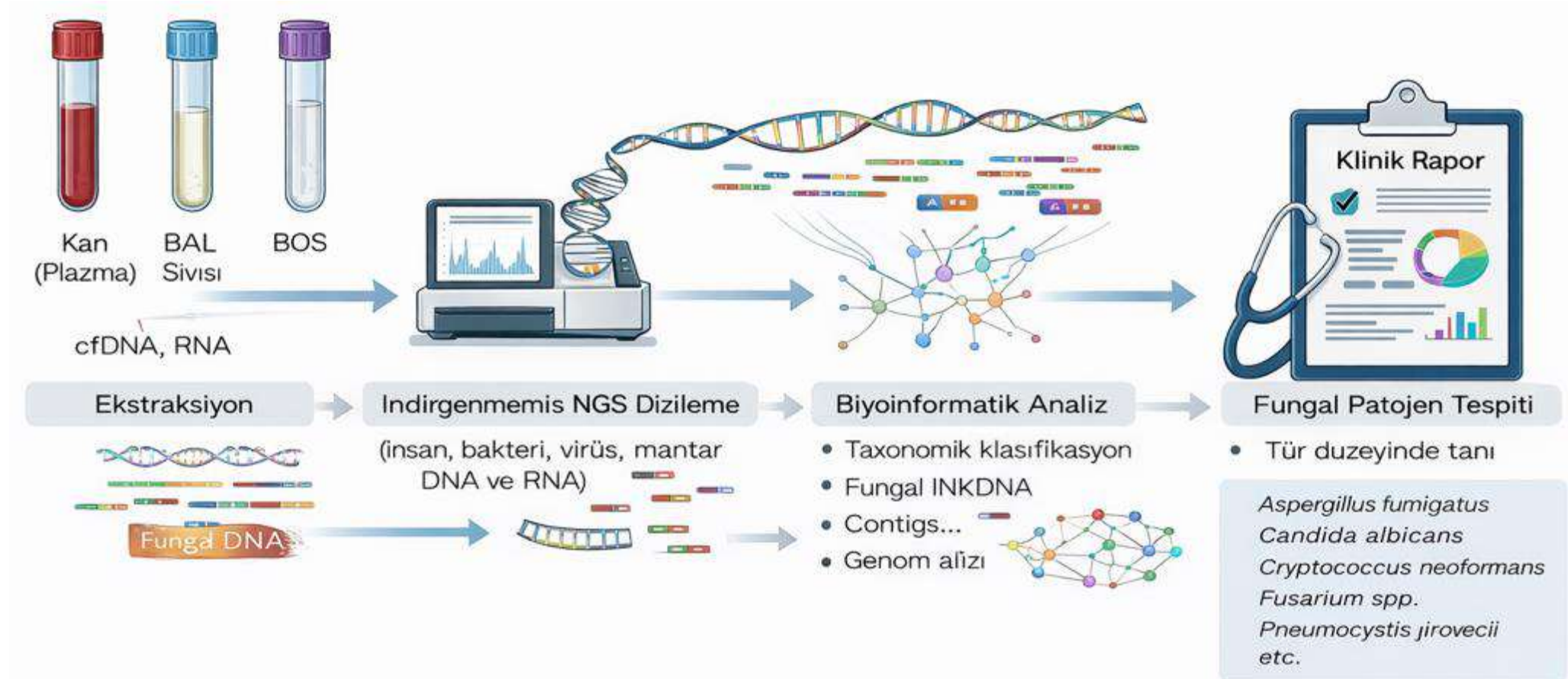
Plazma

- Duyarlılık: %23.6
- Putative IPA'da duyarlılık: %37.5



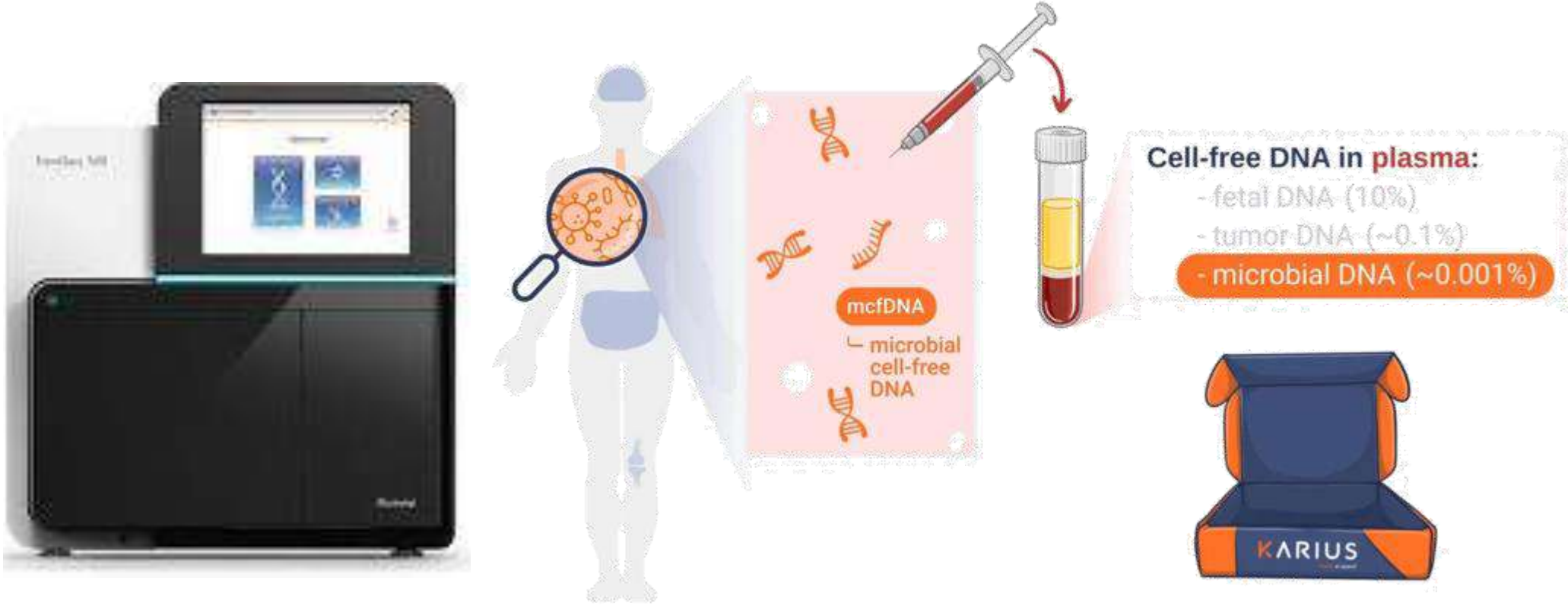
Dizi Analizi Temelli Sistemler

- Yeni Nesil Dizileme Sistemleri
- Son yıllarda yeni nesil dizileme teknolojileri, enfeksiyon etkenlerinin kültür bağımsız tespiti için umut vadeden araçlar olarak öne çıkmıştır.
- Solid organ nakli yapılan hastalarda; - metagenomik NGS (mNGS) , - hedefe yönelik (targeted) NGS, - mcfDNA NGS



Dizi Analizi Temelli Sistemler

- Yeni Nesil Dizileme Sistemleri;
- **Karius** kandan hücre dışı mikrobiyal DNA'yı metagenomik NGS ile analiz ederek kültürden bağımsız patojen tanısı sağlayan bir testtir.



Dizi Analizi Temelli Sistemler

- Yeni Nesil Dizileme Sistemleri
- Kılavuzlar invaziv mantar tanısında NGS'e kapıyı açtı;

mcfDNA-NGS özellikle non-Aspergillus küflerde bu boşluğu doldurabilecek potansiyele sahip.

Clinical Infectious Diseases
MAJOR ARTICLE



Liquid Biopsy for Invasive Mold Infections in Hematopoietic Cell Transplant Recipients With Pneumonia Through Next-Generation Sequencing of Microbial Cell-Free DNA in Plasma

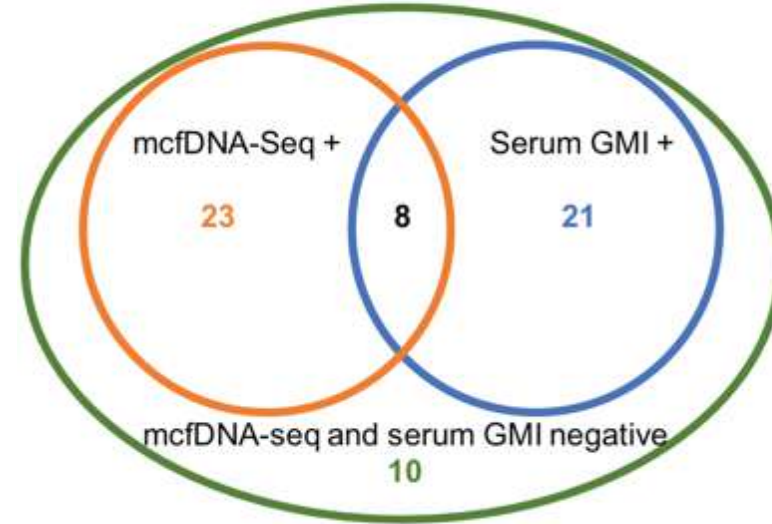
Joshua A. Hill,^{1,2,9} Sudeb C. Dalai,^{3,4} David K. Hoog,⁵ Asim A. Ahmed,⁶ Carine Ho,⁷ Desiree Holleman,⁸ Lily Blair,³ Joyce Maalout,¹ Jacob Keane-Candib,¹ Terry Stevens-Ayers,¹ Michael Boeckh,^{1,2} Timothy A. Blauwkamp,⁷ and Cynthia E. Fisher^{1,2}

¹Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, USA; ²University of Washington, Seattle, Washington, USA; ³Karixa, Inc., Redwood City, California, USA; and ⁴Stanford University School of Medicine, Stanford, California, USA

Plazmadan mikrobiyal hücresiz DNA dizileme (mcfDNA-Seq)

- Kandan, invaziv işlem olmadan
- >400 mantar türünü kapsayan geniş panel
- Tür düzeyinde tanımlama

Composite non-invasive diagnostic yield for P/P pulmonary IMI by serum GMI and mcfDNA-Seq



Combined 84% sensitivity

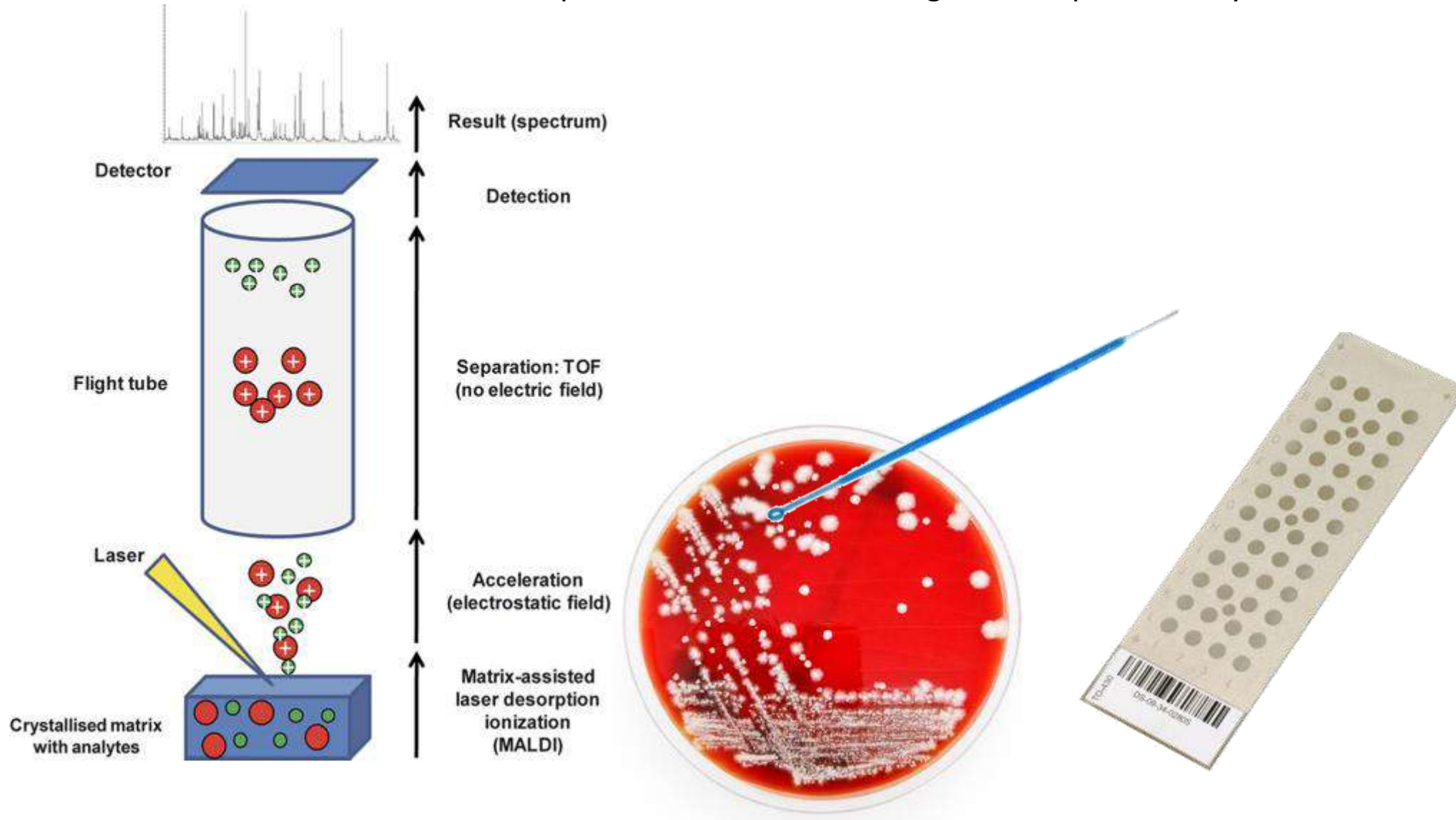
Kütle Spektrometrik Yöntemler MALDI – TOF

- 1943 Alfred Nier; kütle spektrometresi alanında öncüydü.
- Kendi tasarımı olan bir kütle spektrometresini kullanarak uranyum^{235} ve uranyum^{238} farkını gösterdi.
- Oppenheimer'in isteği üzerine uranyum^{235} üretti.



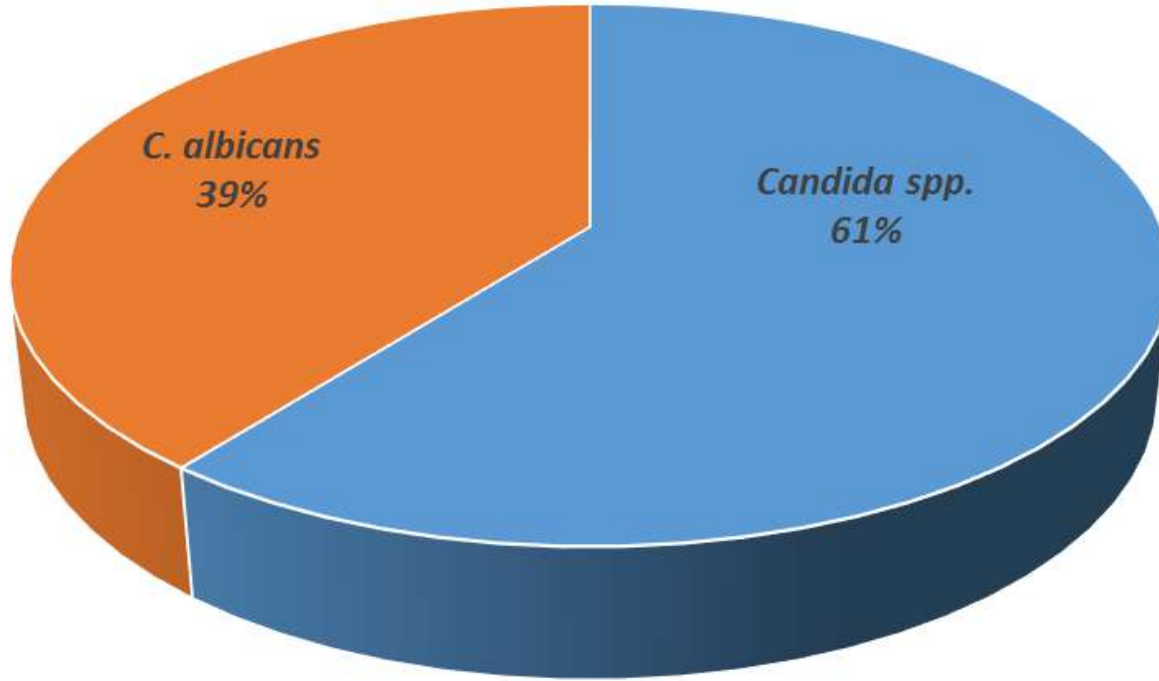
Kütle Spektrometrik Yöntemler

- **MALDI-TOF** matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry



Kütle Spektrometrik Yöntemler

- MALDI-TOF matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry



Etkenlerin dağılımı; 01.01.2015-29.11.2016

FDA approves rapid diagnostic test for *Candida auris*

Filed Under: Antimicrobial Stewardship; Fungal Infection; Diagnostics
Chris Dall | News Reporter | CIDRAP News | Apr 23, 2018

[Share](#) [Tweet](#) [LinkedIn](#) [Email](#) [Print & PDF](#)

The US Food and Drug Administration (FDA) has authorized the first rapid test to identify the emerging multidrug-resistant fungal pathogen *Candida auris*.

On Apr 20 the FDA announced that it was permitting the Bruker MALDI Biotyper CA System to be marketed for the identification of *C. auris*, which first appeared in the United States in 2016 and to date has been detected in 287 US patients, with 257 cases confirmed, according to the Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

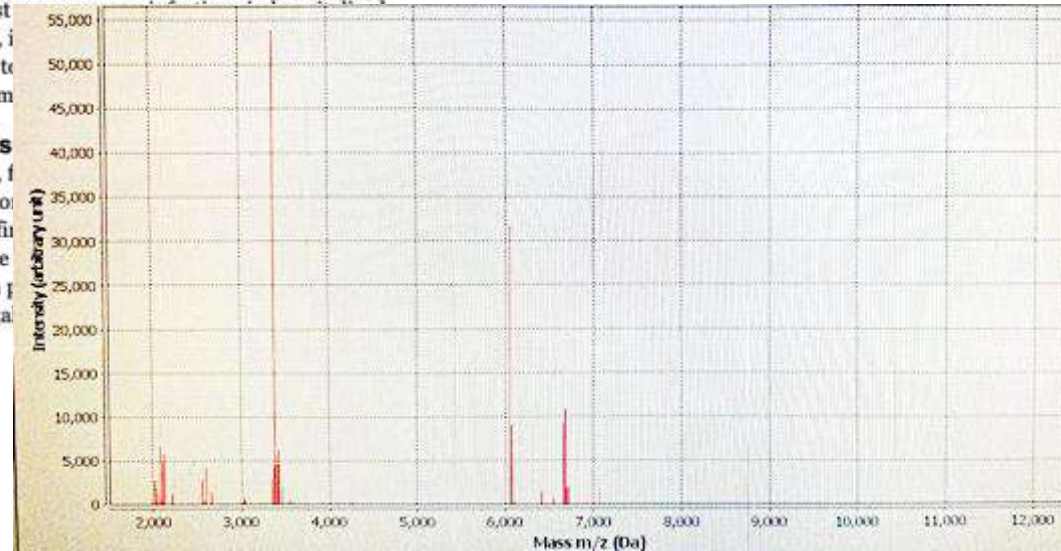


Dean Calma, IAEA / Flickr cc

The yeast patients, i difficult to managem

Results

The test, f desorption protein fi reference TOF can p usually ta



Kütle Spektrometrik Yöntemler

- Doğrudan Örnekten MALDI-TOF ile Tanı: Kan Kültürü, BAL Sıvısı ve Doku Örnekleri
- MALDI-TOF'un gelişmiş uygulamaları sayesinde, **pozitif kan kültürü şişesinden doğrudan** tür tanımlaması yapmak mümkün hale gelmiştir.

Mycopathologia (2025) 190:78

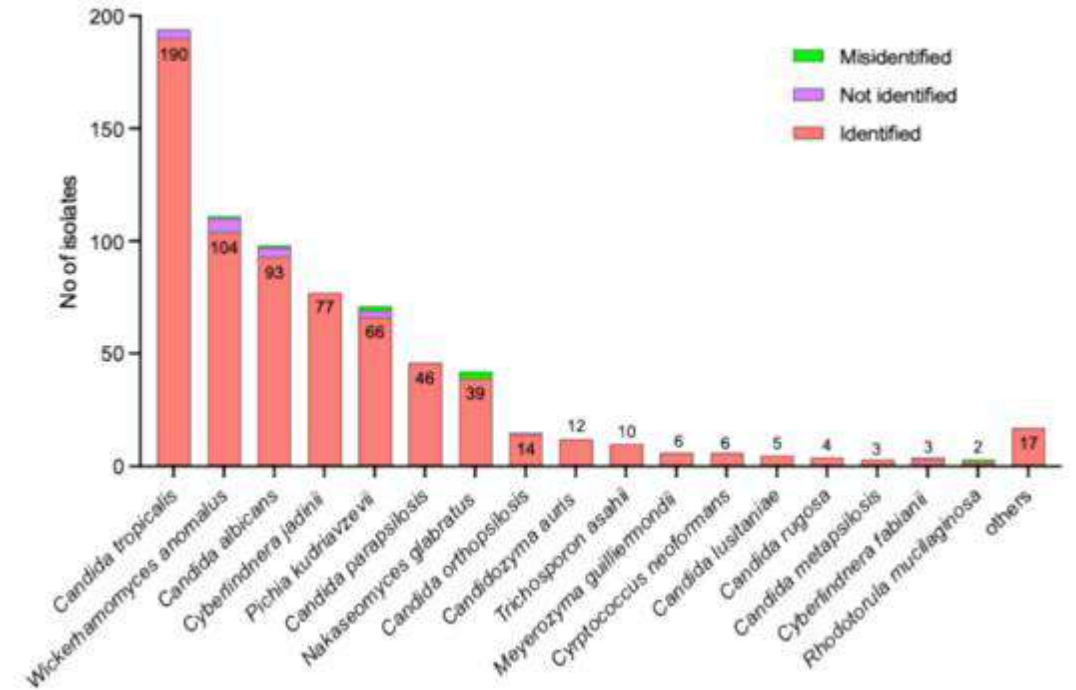
<https://doi.org/10.1007/s11046-025-00987-x>

ORIGINAL ARTICLE



Direct Identification of Yeasts from Blood Cultures and Body Fluids Using MALDI-TOF MS with Concurrent Antifungal Susceptibility Testing

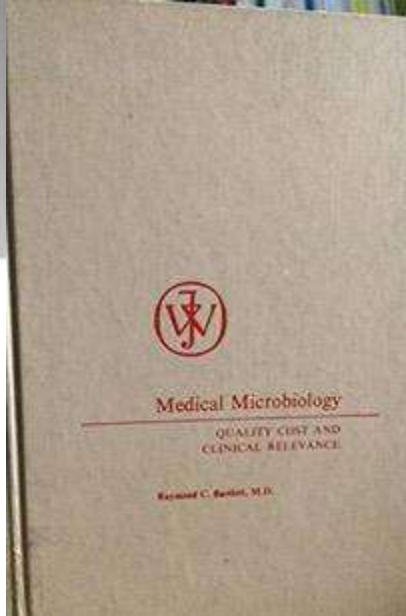
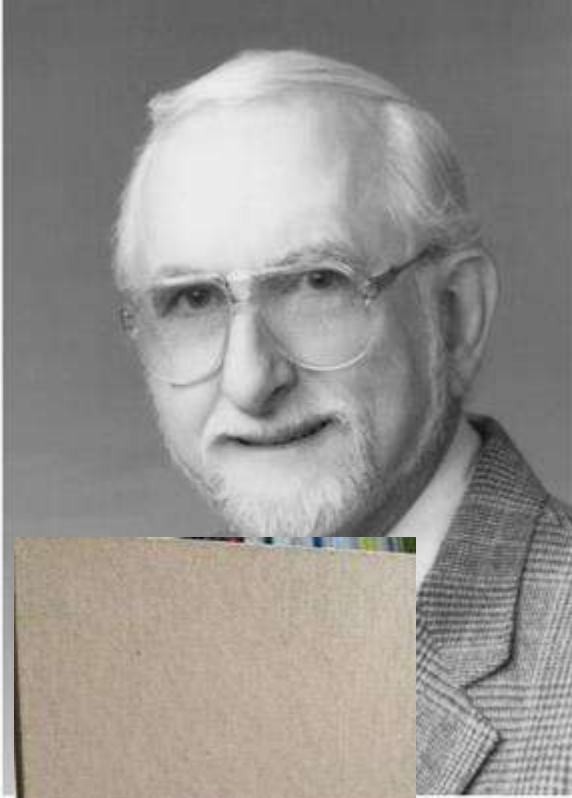
Arpita Khamrai · Snigdha Reddy · Saikat Paul · Ankita Saroya · Shruti Verma · Diksha Bhangot · Shivaprakash M. Rudramurthy · Harsimran Kaur · Neelam Taneja · Anup K. Ghosh



Fungal İnfeksiyonların Yönetimi



Dr. Raymond Bartlett, 1974



"teknik olarak uygulanabilir olanla klinik olarak önemli olan dikkatli bir şekilde bütünleştirilmedir"

"yapabiliyor olman mutlaka yapman gerektiği anlamına gelmez"
atasözünü mikrobiyoloji laboratuvarına uyarlayan büyük bir
öngörüye sahipti.

Medical microbiology:

Quality, cost and clinical relevance