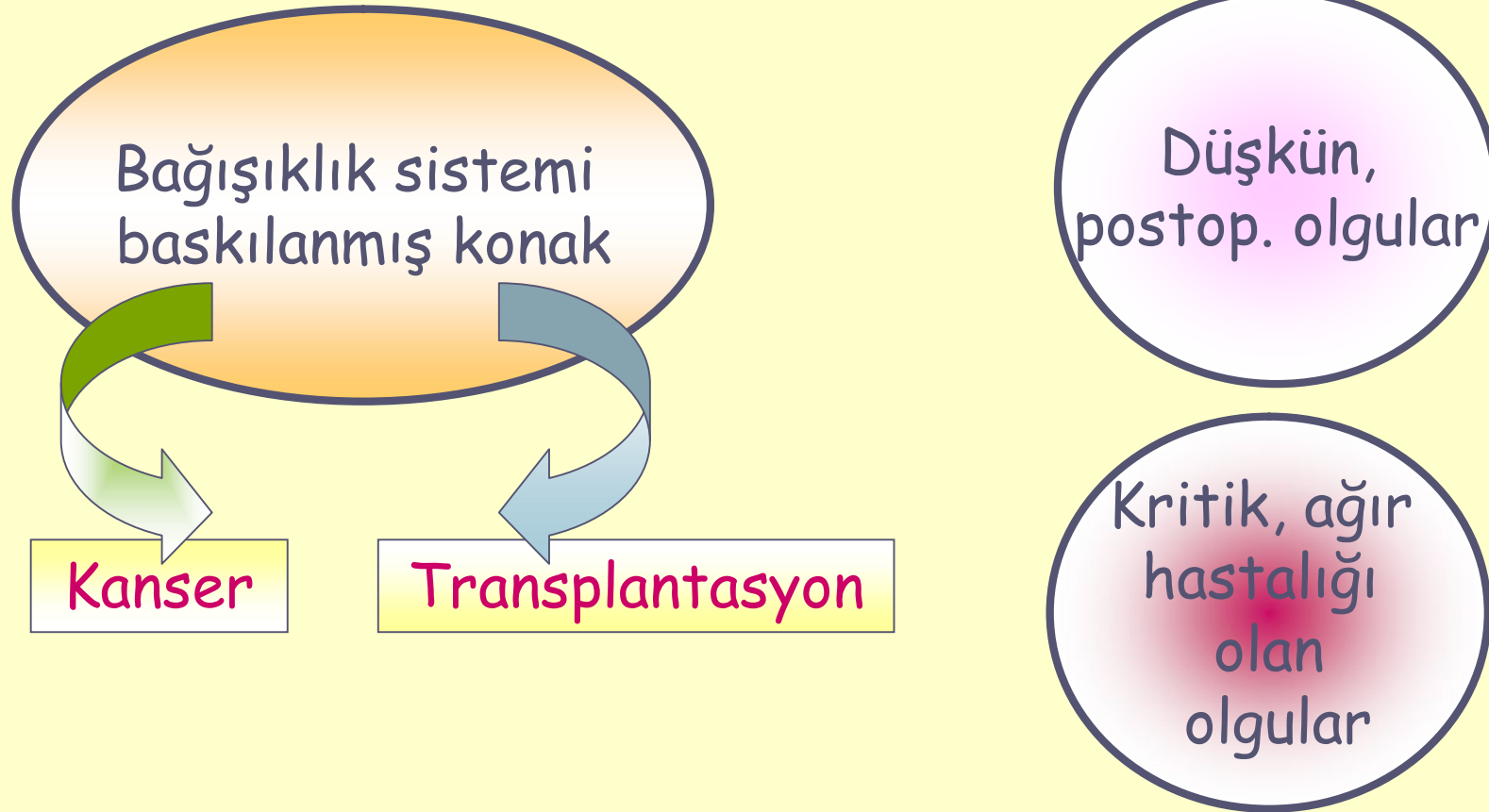


# Fırsatçı mantar enfeksiyonları: KONAK



Bille et al. Curr Opin Infect Dis 2005; 18: 314

# İnvazif mantar enfeksiyonları, çeşitli nedenlerle önem taşır



Olumsuz konak koşulları



Dirençli cins ve suşlar

•Düşük klinik yanıt oranları  
•Yüksek mortalite

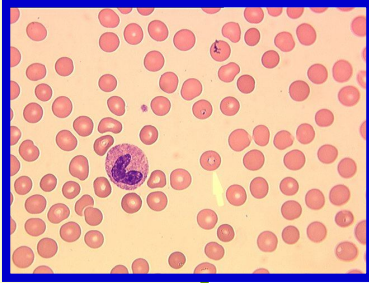


Erken tanıda zorluklar

Antifungal tedaviye suboptimal yanıt

Richardson. JAC 2005; 56(Suppl. S1): i5; Bille et al. Curr Opin Infect Dis 2005; 18: 314

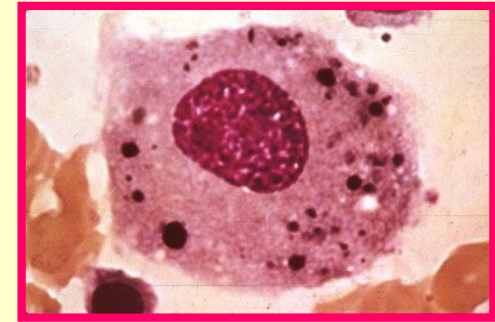
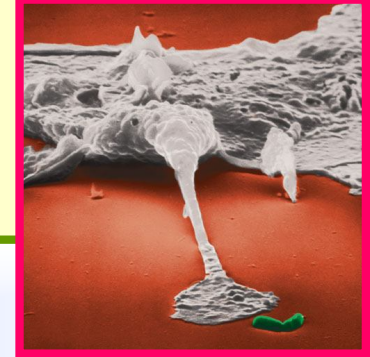
# Fırsatçı mantar enfeksiyonları- İmmünsupresyon



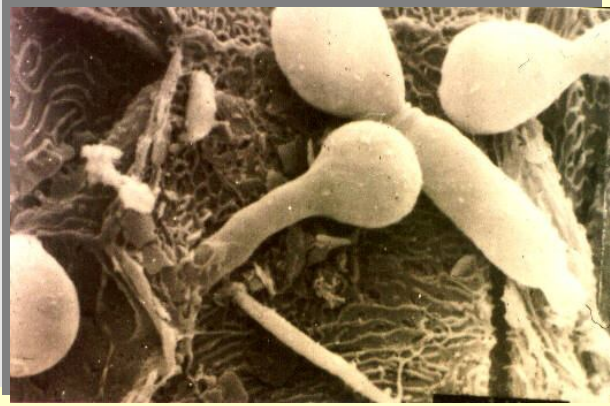
Nötropeni

Nötrofil ve/veya makrofaj  
fonksiyon bozukluğu

Steroid tedavisi

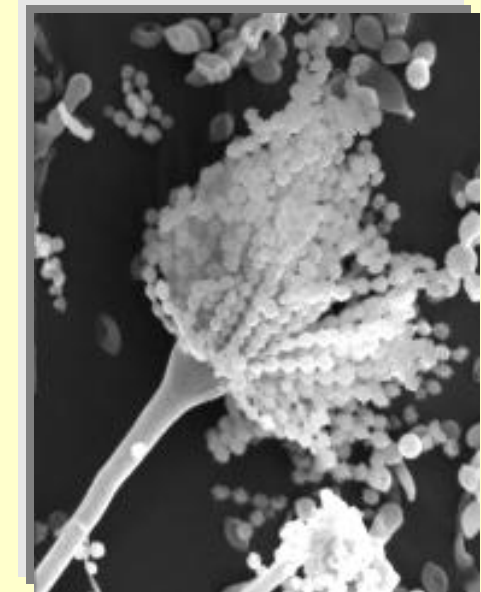


# Fırsatçı İnvazif Mikozlar-Etkenler



☛ CANDIDA

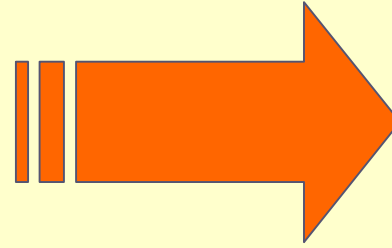
☛ ASPERGILLUS



☛ DİĞER

Zygomycetes  
*C. neoformans*  
*Fusarium*  
*Scedosporium*  
Dematisiyöz  
küfler.....

- Klinik
- Mikrobiyoloji
- Histopatoloji
- Radyoloji

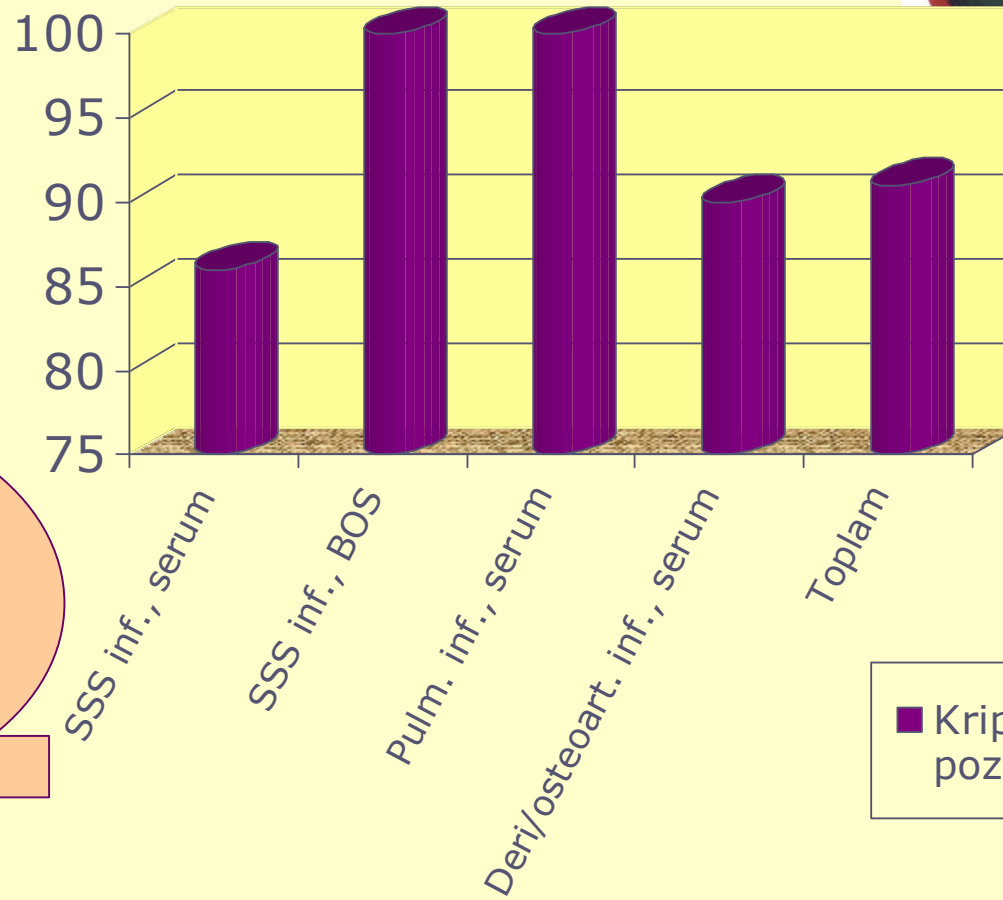


## SORU 1.

İmmünespresif bir hastadan invazif fungal enfeksiyon şüphesi ile alınan ve Mikoloji Laboratuvarına ulaştırılan serum örneğinde, kriptokokkal kapsül antijen testi pozitif olarak saptanıyor. Bu sonuca göre, bu olguda, *Cryptococcus* dışında, aşağıdaki mantarlardan hangisine bağlı gelişen bir enfeksiyon söz konusu olabilir?

- a. *Candida*
- b. *Aspergillus*
- c. *Trichosporon*
- d. *Fusarium*
- e. *Rhizopus*

# *C. neoformans* antijen testi (LA)



**178 nakil olgusu**

145 renal  
20 karaciğer  
10 kalp  
3 akciğer

Husain et al. Emerg Infect Dis 2001; 7: 375



## Demonstration of a Cell Wall Antigen Cross-Reacting with Cryptococcal Polysaccharide in Experimental Disseminated Trichosporonosis

GREGORY P. MELCHER,<sup>1\*</sup> KURT D. REED,<sup>1†</sup> MICHAEL G. RINALDI,<sup>2</sup> JAMES W. LEE,<sup>2</sup>  
PHILLIP A. PIZZO,<sup>3</sup> AND THOMAS J. WALSH<sup>3</sup>

*Infectious Diseases Service, Department of Medicine, Wilford Hall U.S. Air Force Medical Center,  
Lackland Air Force Base, Texas 78236<sup>1</sup>; Department of Pathology, University of Texas  
Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas 78284<sup>2</sup>; and  
Infectious Diseases Section, Pediatric Branch, National  
Cancer Institute, Bethesda, Maryland 20892<sup>3</sup>*

Received 13 June 1990/Accepted 28 September 1990

Patients with disseminated infections caused by *Trichosporon beigelii* have a circulating antigen that cross-reacts with the polysaccharide capsule of *Cryptococcus neoformans*. We studied the localization of this antigen by immunoelectron microscopy in a rabbit model of experimental disseminated trichosporonosis. Deparaffinized lung sections were examined by using a murine monoclonal anti-cryptococcal polysaccharide antibody and colloidal gold particles coated with goat antibody to murine immunoglobulin G. Antigen that cross-reacted with the monoclonal antibody was observed in the *T. beigelii* cell wall and in a fibrillar matrix extending from the cell wall.

# Kan kültüründe Trichosporon üreyen olgularda Cryptococcus kapsül antijen testi pozitifliği

Kan kültürü  
Trichosporon (+) 21 olgu

16'sında (%76)  
Cryptococcus  
antijen testi (+)  
(Titre: 1/4 -1/64)

*Serodirect Eiken Cryptococcus test (Eiken Chemical Co., Ltd., Tokyo) –Latekş aglütinasyon*

Mekha et al. Microbiol Immunol 2007; 51: 633

**Table 3** Trichosporonosis – epidemiology and mortality (1977–1997)

Type of infection [reference]	No. of cases	No. of cases in leukaemia (%) (including BMT)	Mortality (%)
<i>T. pullulans</i> infections			
[16]	1	1 (100)	1 (100)
[7]	4	4 (100)	3 (75)
Subtotal	5	5	4 (80)
<i>T. beigelii</i> infections			
[1]	25	19 (76)	21 (84)
[10]	2	2 (100)	1 (50)
[17]	9	9 (100)	5 (55)
[12]	1	1 (100)	1 (100)
[2]	2	2 (100)	2 (100)
[20]	10	7 (70)	7 (70)
[3]	1	1 (100)	0
[8]	3	3 (100)	2 (66.6)
[11]	19	12 (52.5)	14 (74)
[19]	2	2 (100)	2 (100)
[4]	1	1 (100)	1 (100)
[9]	1	1 (100)	1 (100)
[14]	1	1 (100)	1 (100)
[15]	1	1 (100)	0
[13]	2	2 (100)	1 (50)
(NCI – unpublished)	8	7 (87.5)	7 (87.5)
[5]	1	1 (100)	1 (100)
Subtotal	89	72 (80.8)	57 (64)

## trichosporonosis in cancer of 12 cases including prophylaxis with itraconazol

Several risk factors were significantly associated with *Trichosporon* fungemia: acute leukemia as the underlying disease ( $P<0.02$ ), long-lasting neutropenia ( $P<0.01$ ), prior prophylaxis with quinolone ( $P<0.001$ ), breakthrough fungemia during prophylaxis with itraconazol (41.7 vs 4.3%,  $P<0.0001$ ) and catheter-associated fungemia (41.7 vs 12.7%,  $P<0.001$ ). Attributable mortality was also significantly higher in the group of fungemias caused by *Trichosporon* than in the group with *C. albicans* fungemias ( $P<0.0001$ ).

## Update on the Genus *Trichosporon*

Thomas C. Chagas-Neto, Guilherme M. Chaves and Arnaldo L. Colombo

*Mycopathologia*, Volume 166, Number 3 / September, 2008

**Abstract** *Trichosporon* spp. are widely distributed in nature and can occasionally belong to the human microbiota. For many years, the unique species of the genus, *Trichosporon beigelli*, was only known as an environmental and saprophytic fungus occasionally found as the etiological agent of white piedra. However, case reports of invasive trichosporonosis have been frequently published and the genus is currently considered the second most common agent of yeasts disseminated infections. Based on molecular analysis, the taxon *T. beigelli* was replaced by several species and the taxonomy of the genus was progressively modified. Despite the reported increase of *Trichosporon* infections refractory to conventional antifungal drugs, there are only a few studies investigating in vitro susceptibility of *Trichosporon* spp. to new compounds. Difficulties on different species identification as well as the lack of standardized sensitivity tests in vitro, contribute to the limited information available on epidemiology, diagnosis and therapeutics of trichosporonosis.

## SORU 2.

AML tanısı ile izlenen nütropenik bir olgudan alınan seri serum örneklerinde (1-3)- $\beta$ -D-glukan testi pozitif olarak saptanıyor. Bu durumda, aşağıdaki enfeksiyonlardan hangisi olası değildir?

- a. Kandidoz
- b. Aspergilloz
- c. Pnömosistoz
- d. Zigomikoz
- e. Fuzaryoz

# (1-3)- $\beta$ -D-glukan

## Fungitell™ Assay

For the Rapid Detection of (1→3)- $\beta$ -D-Glucan as an Indicator of Invasive Fungal Infections

Cape Code

"Cut off"

60 pg/ml

**\*\*80 pg/ml**

# Glukan testi: Duyarlılık ve özgüllük

<i>Duyarlılık</i>	%50-100
<i>Özgüllük</i>	%71-100
<i>NPV</i>	%98-100
<i>PPV</i>	%44-67
<i>Zaman</i>	Klinik tanıdan <i>4-10 gün</i> önce (+)

# Glukan testi: Çok merkezli değerlendirme

Ostrosky-Zeichner et al. CID 2005; 41: 654

ENFEKSİYON (n) (KANITLANMIŞ) Toplam n=135	POZİTİFLİK ORANI	
	Cut-off: 60	Cut-off: 80
Kandidoz (107)	% 81.3	% 77.6
Aspergilloz (10)	% 80	% 80
Fuzaryoz (3)	3/3	0/3
Zigomikoz (3)	0	0
Kriptokokkoz (12)	3/12	2/12

Tek serum  
örneği

163  
IFI olgusu  
170  
sağlıklı kontrol

Altta yatan  
hastalık /risk  
faktörü: Çeşitli  
IFI tanısı:  
EORTC/MSG kriterleri

%	Duyarlılık	Özgüllük	PPV	NPV
Cut-off: 60	69.9	87.1	83.8	75.1
Cut-off: 80	64.4	92.4	89	73



**TABLE -M1** Cell Wall Composition and Taxonomic Classification of Representative Medically Important Fungi

Principal Cell Wall Polymers	Taxonomic Group	Examples
Chitin-chitosan	Zygomycetes	<i>Rhizopus arrhizus</i>
Chitin-glucan	Ascomycetes (mycelial) Basidiomycetes (mycelial) Fungi Imperfecti	<i>Pseudallescheria boydii</i> <i>Schizophyllum commune</i> <i>Phialophora verrucosa</i>
Glucanmannan	Ascomycetes (yeasts) Fungi Imperfecti (yeasts)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Candida albicans</i>
Chitin-mannan	Basidiomycetes (yeasts)	<i>Filobasidiella neoformans</i>

Glukan testi, zigomikoz ve kriptokokkoz tanısı için güvenilir değil

## SORU 3.

Nötropenik ateş nedeniyle izlenen bir allojeneik KİT olgusunun tek balgam kültüründe  $10^2$  cfu/ml *Aspergillus* üremesi tesbit ediliyor. Bu olguda, bu sonucun laboratuvarından bildirilmesi ve hasta izlemi için en uygun yaklaşım aşağıdakilerden hangisidir?

- Üreme, kontaminasyon olarak kabul edilir, sonuç rapor edilmez.*
- Üreme sonucu *Aspergillus* olarak rapor edilir, aynı olgudan bir örnek daha istenir.*
- Üreme sonucu, *Aspergillus* kolonizasyonu olarak rapor edilir, aynı olgudan bir örnek daha istenir.*
- Üreme sonucu *Aspergillus* enfeksiyonu olarak rapor edilir.*

# Örneğe göre kültürün duyarlılığı (invazif aspergilloz)

Örnek	Duyarlılık (%)
Balgam	15-69
BAL, fırça	21-77

Albelda et al. Am J Med 1984, 76: 1027; Horvath et al. Am J Med 1996, 100: 171; Jantunen et al. Bone Marrow Transpl 2000, 25: 867

# Uygun Örnek Seçimi

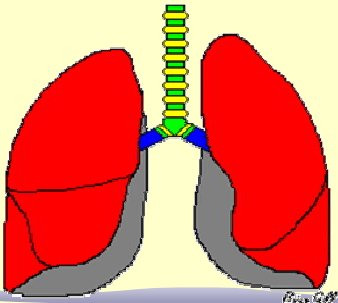
Bir küf mantarına bağlı alt solunum yolu enfeksiyonu şüphesinde uygun örnek?

Kontaminasyon? Kolonizasyon? Enfeksiyon?

Kontaminasyon-kolonizasyon-enfeksiyon ayırımını yapabilecek bir eşik koloni sayısı değeri yok!

## İzolasyon şansı

Doku > BAL > DTA > Balgam



≥2 örnekte aynı küf türünün üremesi...

# Kültürde Aspergillus ürediğinde...?

24 merkez,  
A.B.D.

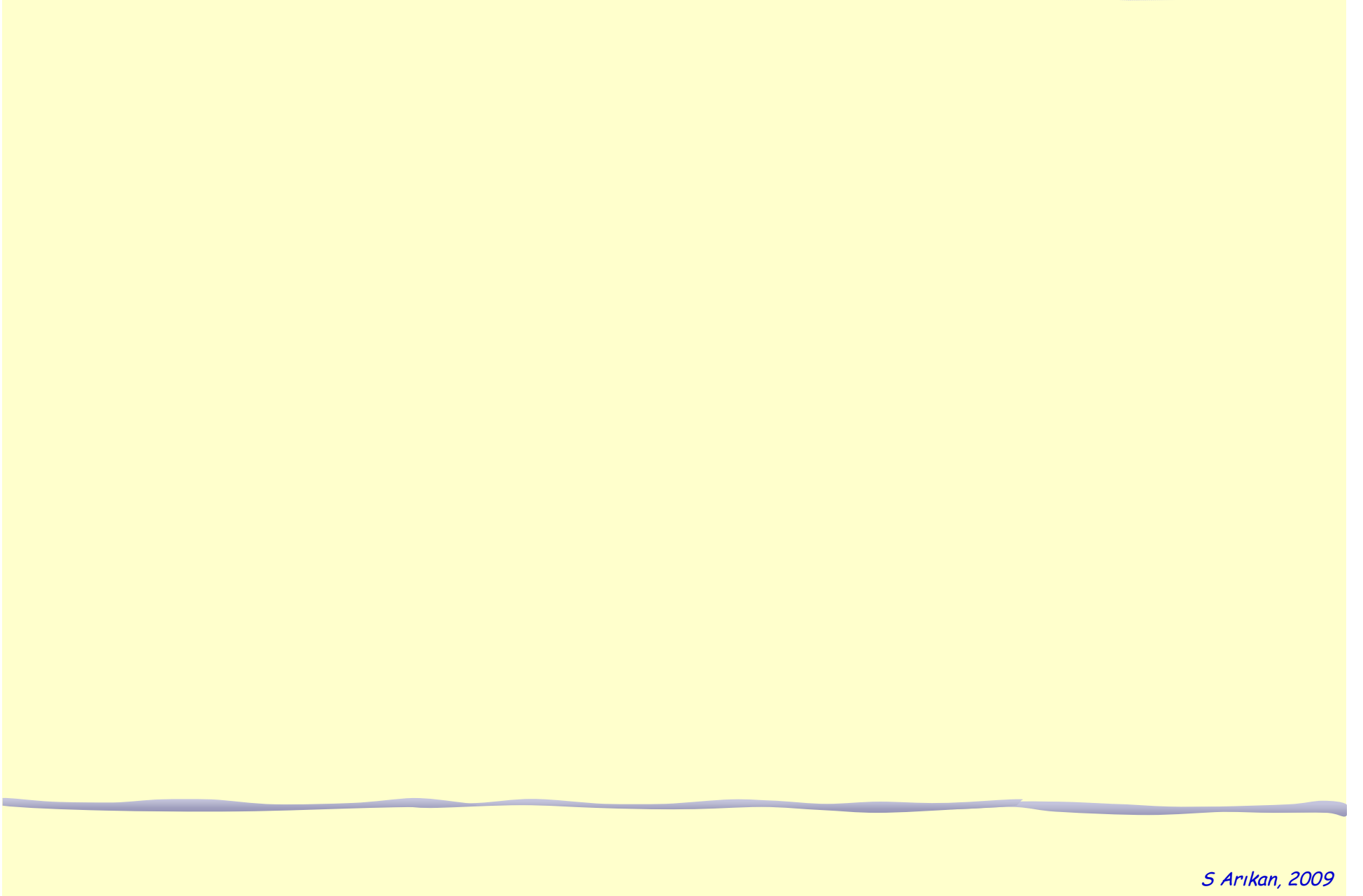
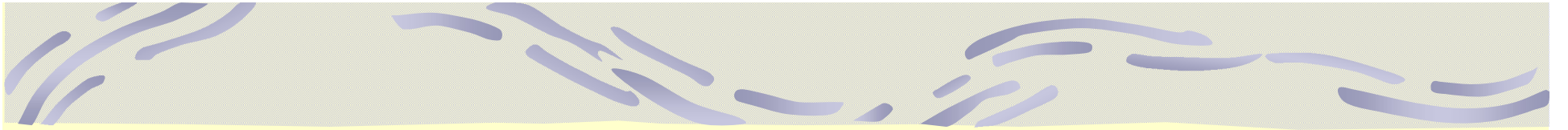
1209 olgudan  
1477 pozitif  
kültür

Üreme saptanan  
örneklerin çoğu  
(%72.9) balgam  
(%49.6) veya BAL  
(%23.3)

Üreme saptanan 1209 olgudan **245**'inde  
(%20.3) klinik hastalık var:

KLİNİK HASTALIK	n	(%)
<b>İnvaziv aspergilloz</b>	<b>148</b>	<b>12</b>
<i>Kanıtlanmış</i>	90	61
<i>Yüksek olasılıklı</i>	49	33
<i>Düşük olasılıklı</i>	9	6
Kronik nekrotizan aspergilloz	19	2
Aspergillom	43	4
ABPA	35	3

Yüksek riskli olgularda (allojeneik KİT, hematolojik kanser, nötropeni) kültürde üreme olması olguların %50-65'inde IA ile ilişkili. Diğer olgularda oranlar daha düşük. Kontaminasyon olan örnekler ekarte edildiğinde oranlar daha da yükseliyor. (Yüksek risklilerde: %70-80).



## SORU 4.

İnvazif aspergillozlu bir olguda, aspergilloza yol açan *Aspergillus* suşunun türü, galaktomannan antijen testinin (EIA) duyarlılığını etkiler mi?

a. *Evet*

b. *Hayır*

# Galaktomannan (GM) testi

- Lateks aglütinasyon (15 ng/ml)
- ELISA (0.5-1 ng/ml)

## ELISA

Duyarlılık: %29-100

Özgüllük: %81-98

## FDA verileri

Duyarlılık %81, Özgüllük %89

PA-EIA, Platelia Aspergillus, Bio-Rad



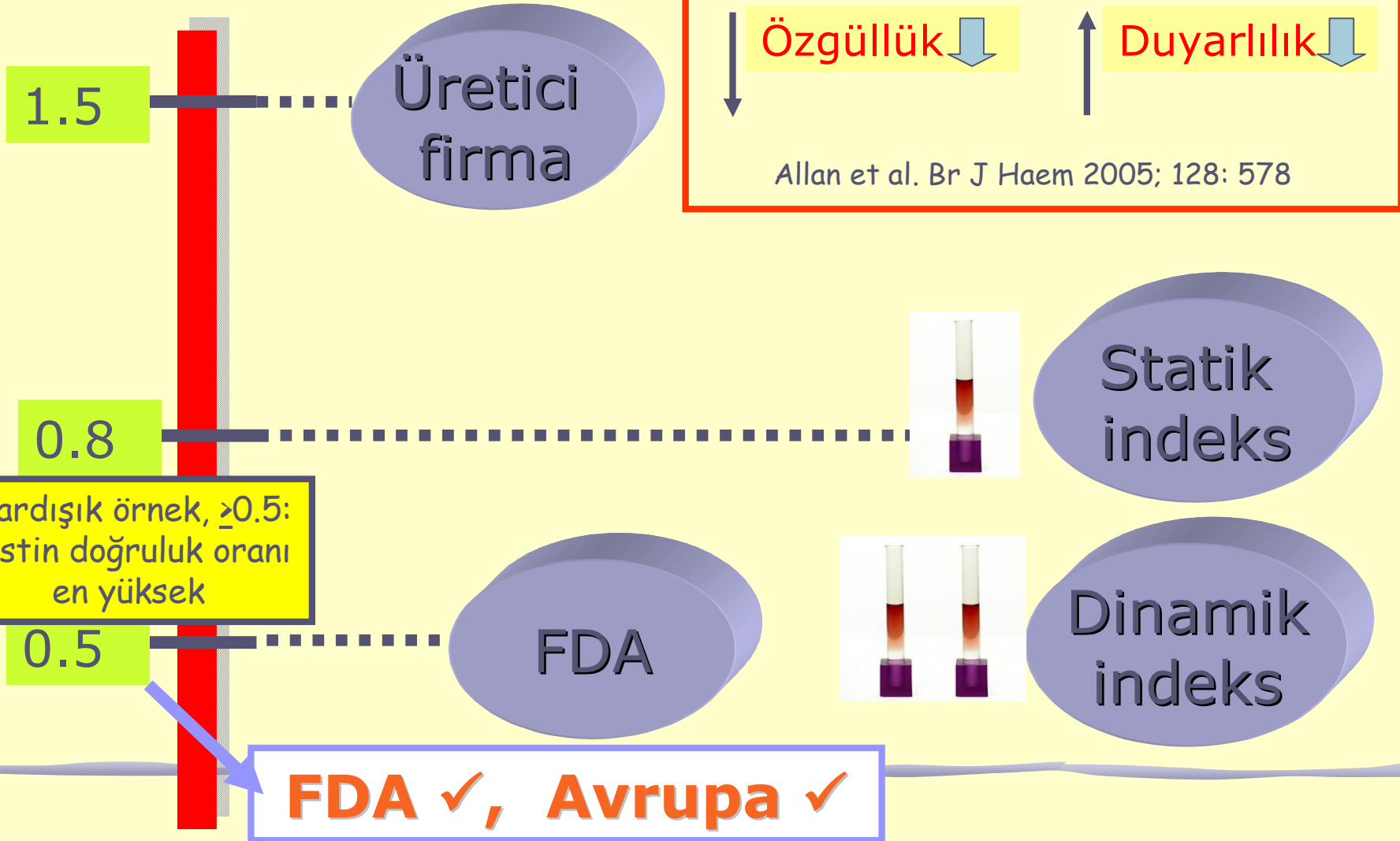
# GM testi: Antijeneminin ELISA ile saptanabilme zamanı

		Antijen pozitifliği (%)	
Bulgular	Hasta (n)	ÖNCE	SONRA
İlk klinik belirti / bulgu	23	65.2	34.8
İlk akciğer grafisi bulgusu	28	71.5	28.5
İlk ateş yükselmesi	27	44.4	55.6
İlk pozitif kültür	19	100	0

Verweij et al. JCM 1995; 33: 3150

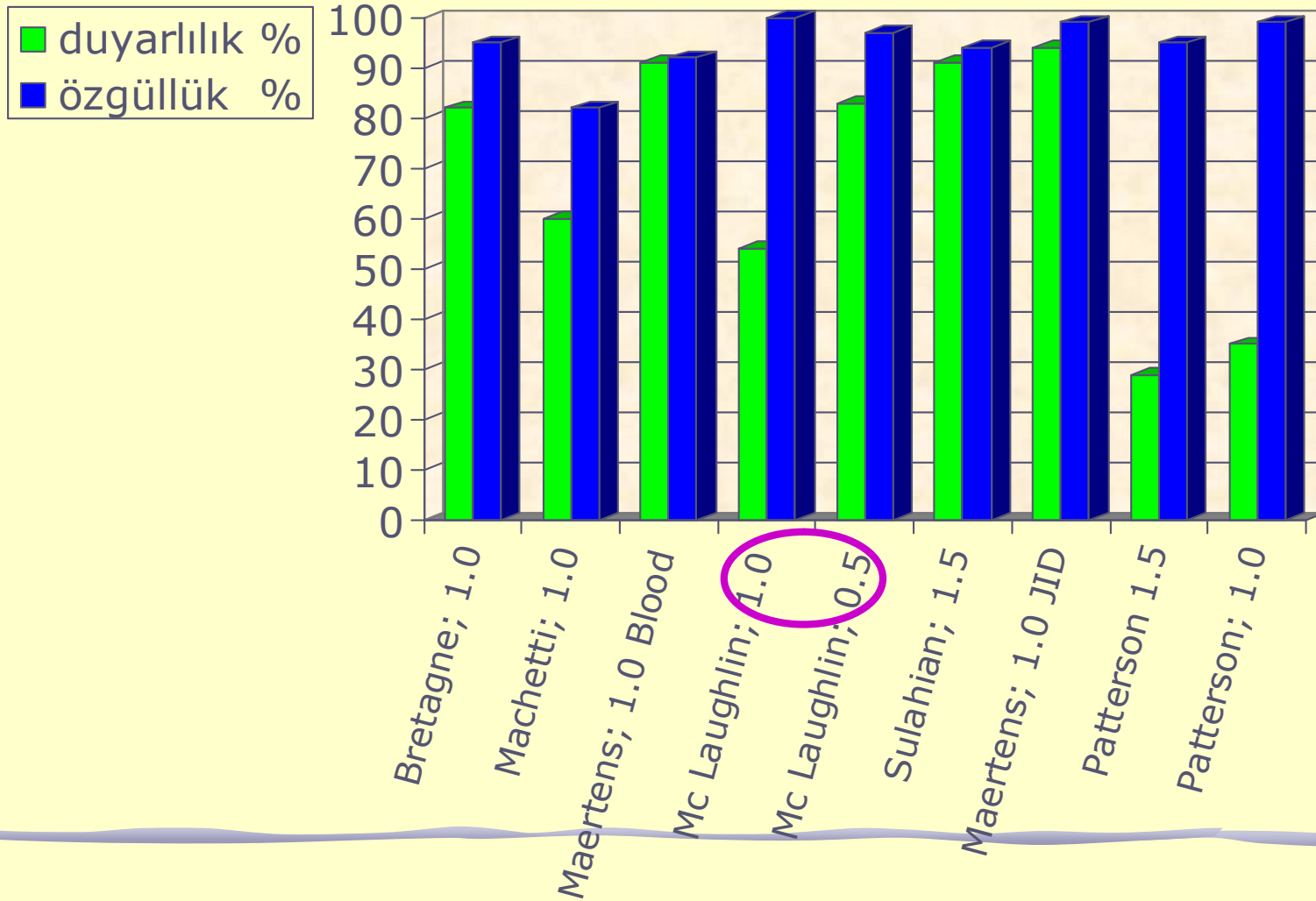
# GM: "cut-off" indeks deęerinin geętięi evreler...

Maertens et al. JCM 1999, 37: 3223; Blood 2001, 97: 1604; Br J Haem 2004, 126: 852, Maertens et al. CID 2007;44:1329



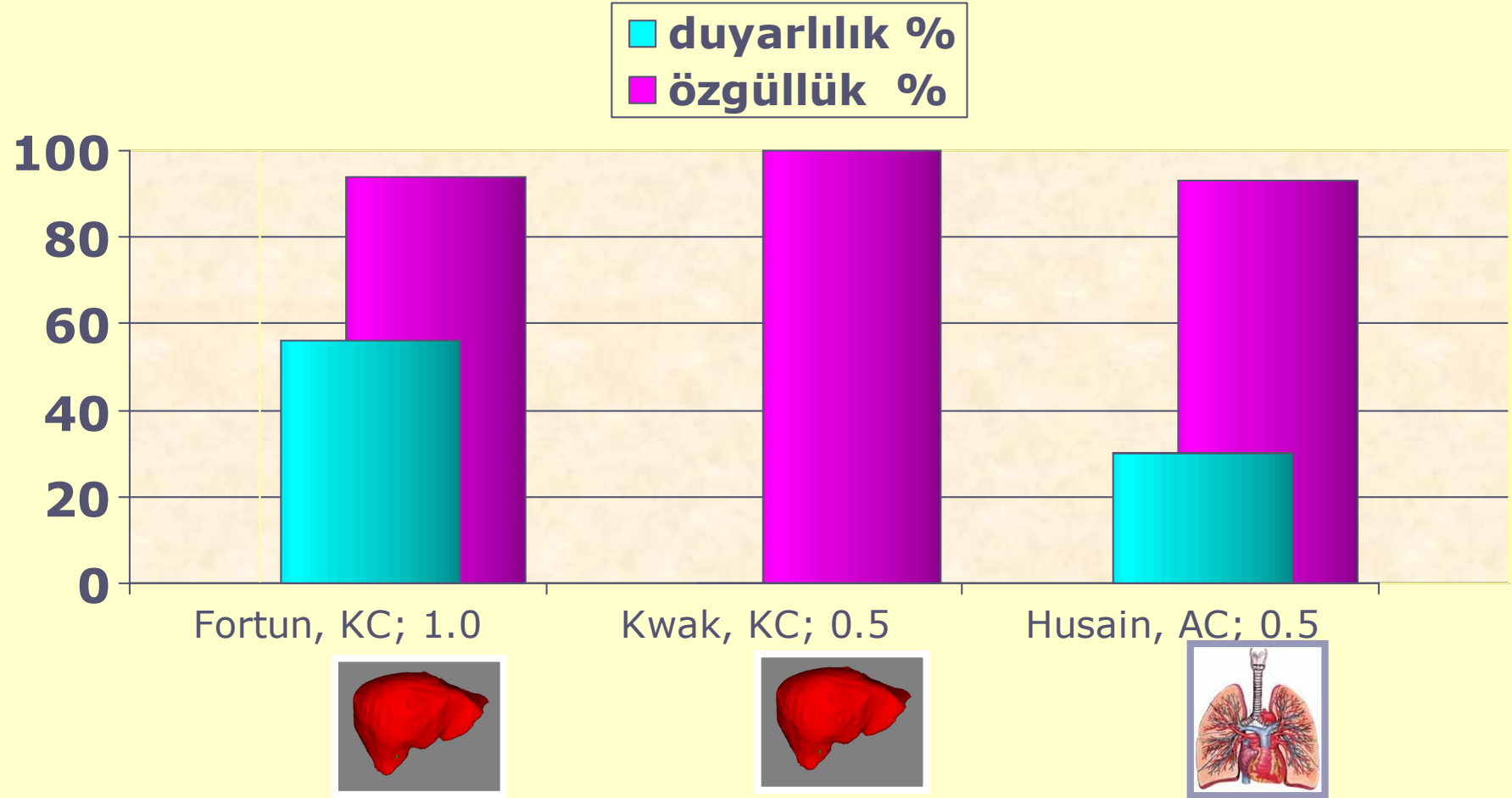
# GM-duyarlılık ve özgüllük

Hematolojik malignansi ve/veya kök hücre transplant olguları



# GM-duyarlılık ve özgüllük

## Solid organ transplant olguları



Fortun et al. Transplantation 2001, 71: 145; Kwak et al. JCM 2004, 42: 435;  
Husain et al. Am J Transplant 2004, 4: 796

S Arıkan, 2009

# ...GM testi: Meta-analiz

27 çalışma  
~4000 olgu

EORTC-MSG  
veya benzeri  
tanı  
kriterleri ile

**KANITLANMIŞ ASPERGİLOZ**

DUYARLILIK: %71  
ÖZGÜLLÜK: %89

GM  
zaten  
bir tanı  
kriteri...  
("bias")

**"Cut-off"**

5 çalışma: 0.5  
13 çalışma: 1.0  
11 çalışma: 1.5

**KANITLANMIŞ YÜKSEK OLASILIKLI  
ASPERGİLOZ**

DUYARLILIK: %61  
ÖZGÜLLÜK: %93

**Testin doğruluk oranı:  
Orta düzeyde**

Test, **hematolojik malignansi veya HSCT**  
olgularında, **solid organ transplant**  
olgularına göre daha yararlı

enf. oranı düşük,  
test performansının  
düşük olması zaten  
beklenir...

Yüksek "cut-off" → doğruluk oranı artıyor

← beklenen bir  
sonuç

# GM ve $\beta$ -glukanın IFI tanısında kullanımı: Prospektif değerlendirme

En az 2  
örnekte  
pozitiflik

TABLE 3. Performances of GM enzyme immunoassay and BG test for patients infected with different organisms (per sample)

Test and organism	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%) <sup>a</sup>	NPV (%) <sup>a</sup>
<b>GM enzyme immunoassay</b>				
<i>A. fumigatus</i> (n = 69)	13	90	90	66
Non- <i>fumigatus</i> <i>Aspergillus</i> species (n = 39)	49		95	86
Other mold (n = 77)	6		83	62
<b>BG test</b>				
<i>A. fumigatus</i> (n = 69)	61	75	75	79
Non- <i>fumigatus</i> <i>Aspergillus</i> species (n = 39)	64		64	88
Other mold (n = 76)	47		72	72

<sup>a</sup> PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

Hastalar antifungal tdv. alıyor.

# Galaktomannan indeksi ile IA'de klinik sonuç arasındaki ilişki

27 çalışma sonucu  
Kanıtlanmış / olası  
IA olguları (n=257)



**GM indeksi, IA da klinik sonucun tahmininde yararlı bir belirteç**

# Galactomannan Serves as a Surrogate Endpoint for Outcome of Pulmonary Invasive Aspergillosis in Neutropenic Hematology Patients

Johan Maertens, MD<sup>1</sup>, Kristel Buvé, MD<sup>1</sup>, Koen Theunissen, MD<sup>2</sup>, Wouter Meersseman, MD<sup>3</sup>, Eric Verbeken, MD PhD<sup>4</sup>, Gregor Verhoef, MD PhD<sup>1</sup>, Johan Van Eldere, MD PhD<sup>5</sup>, and Katrien Lagrou, PharmD PhD<sup>5</sup>

Cancer

January 15, 2009

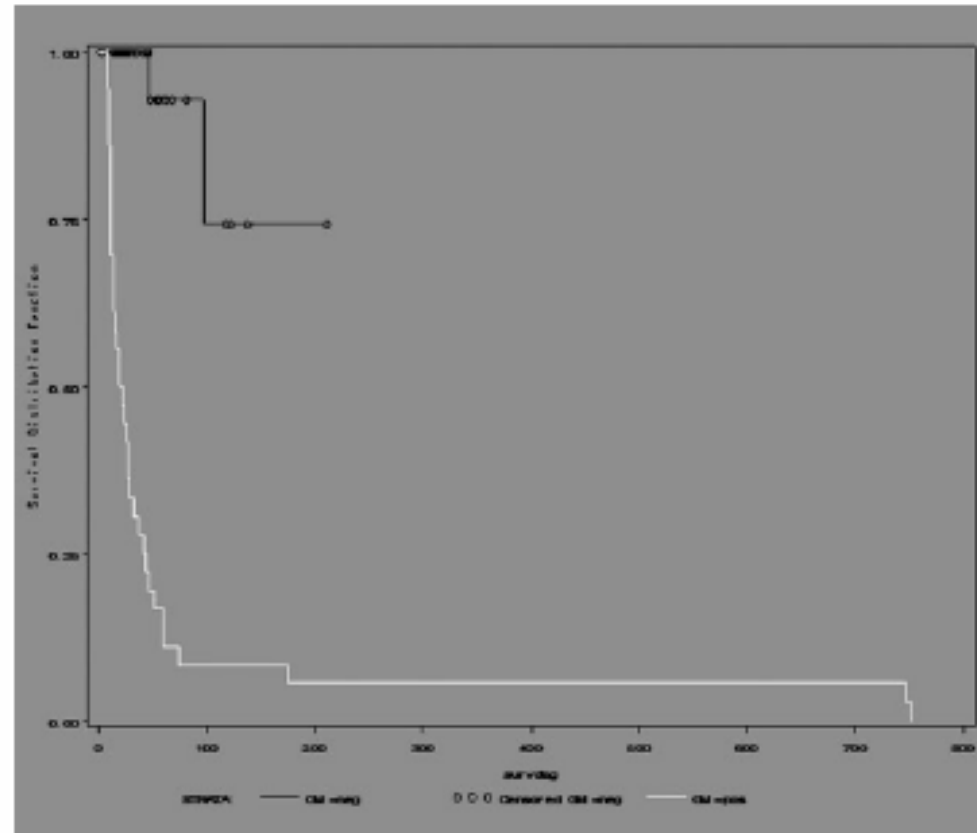


GM (+)



GM (-)

50-40355-4 30-4450-7440-0 45504-05 45504-05



**FIGURE 1.** [Redacted] of 70 neutropenic patients with invasive aspergillosis is shown according to serum galactomannan index (GM) kinetics.



## SORU 5.

İnvazif kandidozu olan bir olguda Candida'nın kan kültüründen izole edilme olasılığı yaklaşık ne oranlardadır?

- a. % 90-100
- b. % 50-70
- c. % 5-25

# Kan kültürü -I

***"Lack of utility of the lysis-centrifugation blood culture method for detection of fungemia in immunocompromised cancer patients"***

Yalancı pozitiflik ve kontaminasyon oranı yüksek  
(“Isolator” system)

*Creger et al. JCM 1998; 36: 290*

***"A comparative study of blood culture conventional method vs. a modified lysis / centrifugation technique for the diagnosis of fungemias"***

İki yöntemle saptanan izolasyon oranı aynı ancak modifiye lizis sentrifügasyon yöntemiyle üreme daha çabuk

*Santiago et al. Rev Iberoam Micol 2004; 21:198*

## Kan kültürü -II

### **"Optimal use of Myco/F lytic and standard BACTEC blood culture bottles for detection of yeast and mycobacteria"**

Myco/F litik kültür sistemi maya izolasyon oranını artırmıyor.

Sadece *C. glabrata* için izolasyon süresini kısaltıyor, diğer türlerde sürede de fark yaratmıyor.

*Kirby et al. Arch Pathol Lab Med 2009;133:93*

### **"Detection of bacterial and yeast species with the Bactec 9120 automated system with routine use of aerobic, anaerobic, and fungal media"**

Kanda maya üremesini inhibe edebilecek dirençli/multipl bakteriyal üremelerin yüksek oranda söz konusu olabileceği YBÜ ve Hematoloji olgularında, fungal besiyeri içeren kan kültür sisteminin kullanılması avantajlı olabilir.

*Chiarini et al. JCM 2008; 46: 4029*

# Kan kültürü -III

## **Otopsi çalışmaları:**

**Kan kültürlerinin kandidemili olgulardaki duyarlılığı ortalama ~%50; en uygun koşullarda bile %70'lerin üzerine çıkamamakta**

*Ostrosky-Zeichner et al. Crit Care Med 2006; 34: 857*

*Sims et al. Arch Med Res 2005; 36: 660*

*Berenguer et al. DMID 1993; 17: 103*

**Otopsi çalışmaları: Tutulan organ sayısı pozitiflik oranını etkiliyor. Bir çalışmada (lisis sentrifügasyon yöntemiyle):...**

**Genel ortalama: %43**

**Dissemine kandidoz: %58**

**Tek organ: %28**

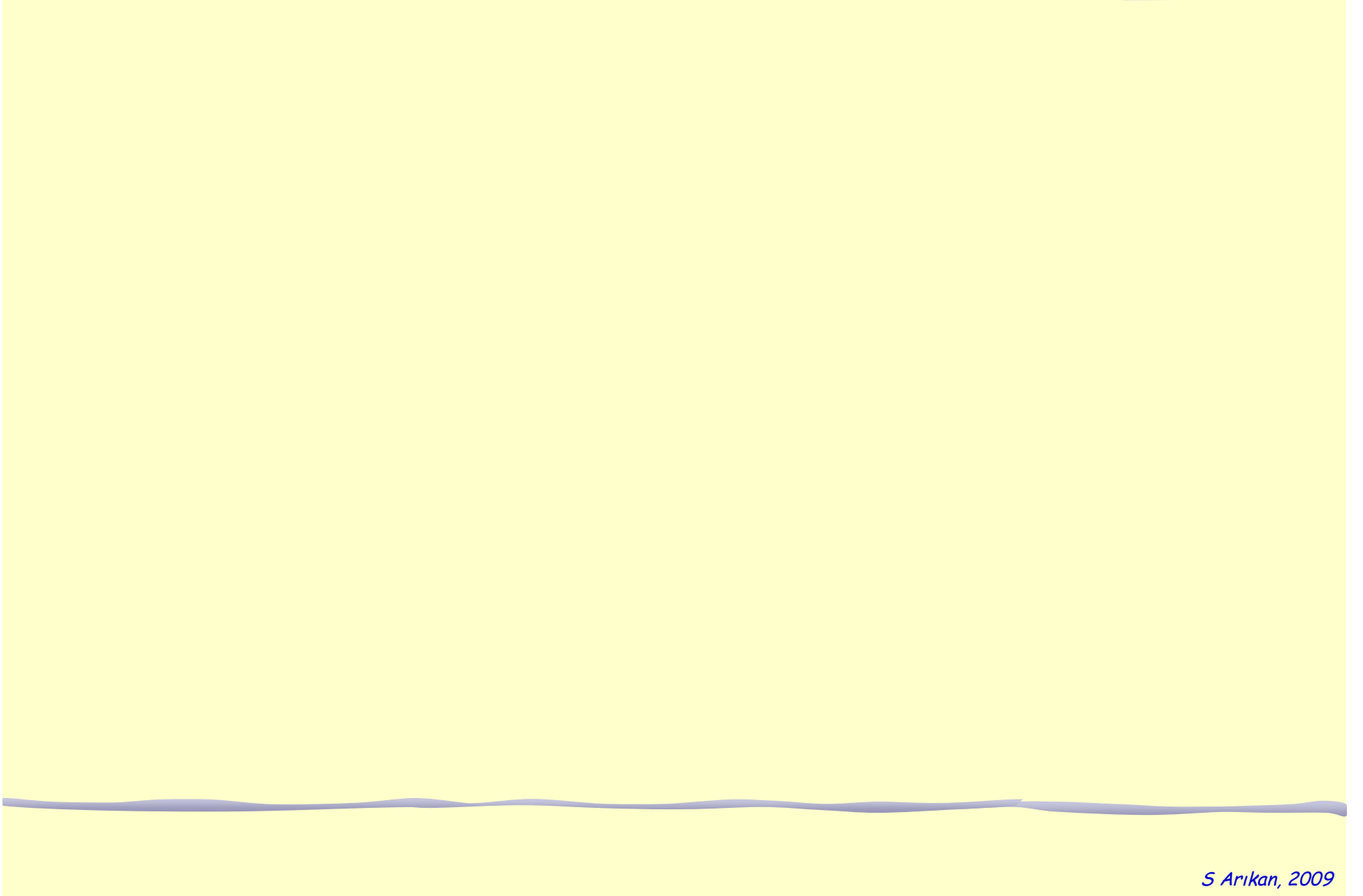
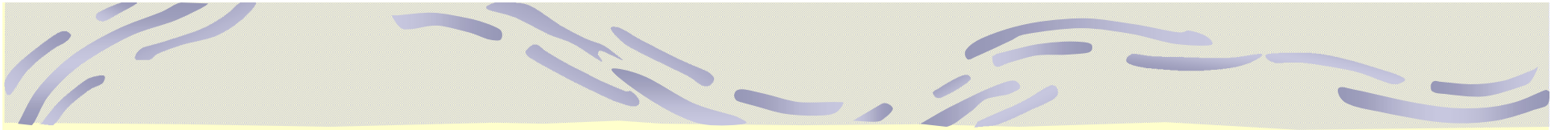
**>3 organ: %78 kan kültürü pozitifliği...**

*Berenguer et al. DMID 1993; 17: 103*



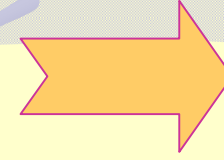
Bugünün bilinenlerine göre...

SONUÇ olarak...



Konvansiyonel tanı:  
zorluklar...

Uygun, steril  
klinik örnek

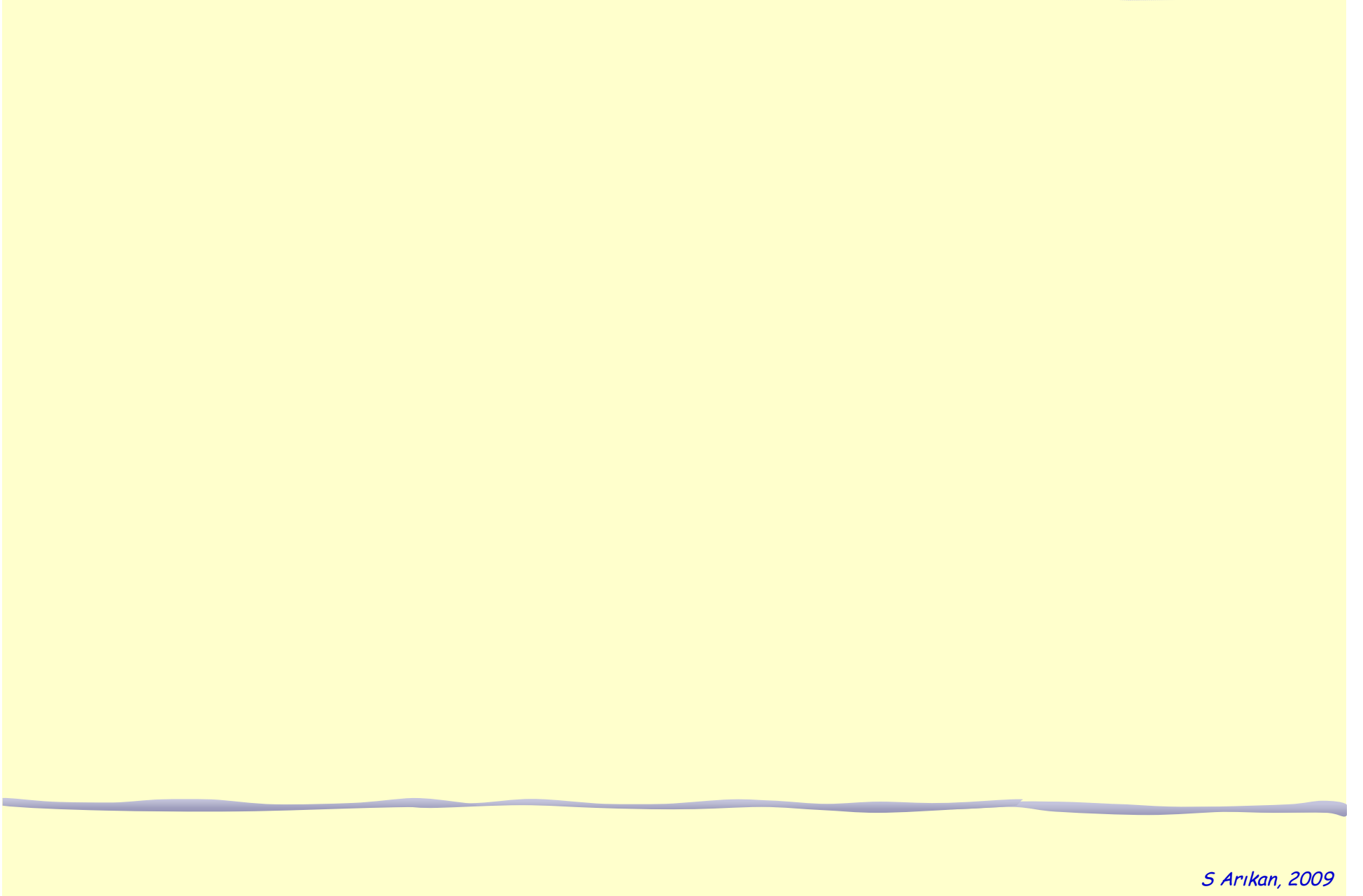
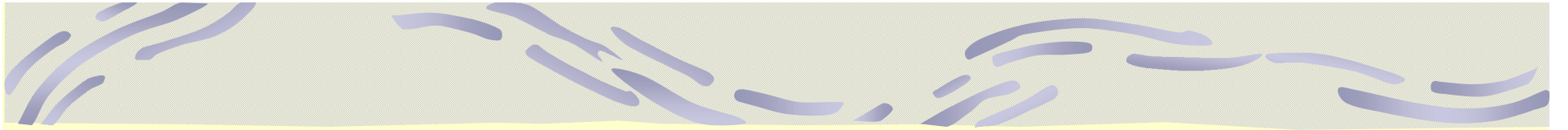


	DİREK MİKROSKOPI	KÜLTÜR
<u>ERKEN TANI</u>	 ( <u>Olası</u> tanı)	 (küfler)
DUYARLILIK		
ÖZGÜLLÜK		 /  (küfler)
KESİN TANI (ALTIN STANDART)		

# Serolojik Testler

Etken	Tesbit edilen antijen / antikor / enzim / metabolit	Klinik Örnek
<i>C. neoformans</i>	Kapsül polisakkarit	BOS, serum
<i>Aspergillus</i>	Galaktomannan (GM)	Serum (BAL) (BOS, idrar??)
<i>Candida</i>	Mannan, anti-mannan	Serum, BOS
<i>Candida</i>	Enolaz	Serum
<i>Candida</i>	Enolaz ve diğer intrasitoplazmik antijenlere karşı oluşan antikor	Serum
<i>Candida</i>	D-arabinitol	Serum
<i>Zygomycetes</i> (ve <i>C. neoformans</i> ) hariç diğer mantarlar	(1,3)- $\beta$ -D-glukan (G testi)	Plazma/serum





## Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis 2009 Febr; 9(2): 89-96*

*Mengoli C, Cruciani M, Barnes RA, Loeffler J, Donnelly JP.*

A systematic review and meta-analysis was done on the use of PCR tests for the diagnosis of invasive aspergillosis. Data from more than 10 000 blood, serum, or plasma samples obtained from 1618 patients at risk for invasive aspergillosis were retrieved from 16 studies. Overall, the mean diagnostic odds ratios (DORs) of PCR for proven and probable cases were similar whether two consecutive positive samples were required to define positivity (DOR 15·97 [95% CI 6·83–37·34]) or a single positive PCR test was required (DOR 16·41 [95% CI 6·43–41·88]). Sensitivity and specificity of PCR for two consecutive positive samples were 0·75 (95% CI 0·54–0·88) and 0·87 (95% CI 0·78–0·93), respectively, and if only a single positive sample was required, these values were 0·88 (95% CI 0·75–0·94) and 0·75 (95% CI 0·63–0·84), respectively. Whereas specificity based on a single positive test was significantly lower ( $p=0\cdot027$ ) than two positive tests, the sensitivity and DOR did not differ significantly. A single PCR-negative result is thus sufficient to exclude a diagnosis of proven or probable invasive aspergillosis. However, two positive tests are required to confirm the diagnosis because the specificity is higher than that attained from a single positive test. Populations at risk varied and there was a lack of homogeneity of the PCR methods used. Efforts are underway to devise a standard for *Aspergillus* sp PCR for screening, which will help enable formal validation of PCR and estimate its use in patients most likely to benefit.

Kültür, invazif mantar infeksiyonlarının tanısında altın standart olma özelliğini korumaktadır. Ancak, erken tanıya katkısı sınırlıdır, duyarlılık ve özgüllüğü istenilen düzeylerde değildir. Yeni serolojik testler, konvansiyonel yöntemlerle birlikte kullanıldığında, erken tanıya yardımcı olabilir.