sorumluluğu: tanısal yönetim ve direnç durumunda

Dr Beyza Ener

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

09.05.2018

Akılcı Antifungal Kullanımı Neden Gerekli ?

- Antifungal ilaçların maliyeti yüksek
- Antifungal ilaçların toksik etkileri fazla
- Antifungal direnç
    - *C. glabrata* = ekinokandin direnci, azol direnci
    - *C. auris* = MDR
    - *A. fumigatus* = azol direnci
    - Nadir ve kriptik suşlar

Akılcı Antifungal Kullanımını Neden Yapamıyoruz?

- Özgül olmayan klinik bulgular
  - Risk faktörlerine dayalı tanı
  - Gecikme mortaliteyi arttırıyor
  - Gereğinden fazla antifungal kullanımı
- Etiyolojiye dayalı tanı
  - Duyarlılık ve özgüllük sorunu
  - Gecikmeye sebep olabilir
  - Deneyimli uzman sorunu
    - Sonuçların yorumunu iyi yapması ve doğru raporlama
- Lokal epidemiyolojik veriler eksik
  - Kandidemi insidansı
  - Kandidemilerde tür dağılımı
  - Kandidemilerde antifungal duyarlılık

İnvazif Fungal Enfeksiyonların Tanı ve Yönetimi ile İlgili Kılavuzlar

- Clinical Laboratory Standards Institute **(CLSI M54-A)**
- American Society for Microbiology **(ASM)**
- Infectious Diseases Society of America **(IDSA)**
- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases **(ESCMID)**
- European Conference on Infection in Leukaemia **(ECIL)**

- Direkt Mikroskobik İnceleme
  - Avantajları
    - Erken fikir oluşturur
    - Olası üreme ile uyum oluşturur
  - Dezavantajları
    - Duyarlılık kültürden düşüktür
    - Tanımlama yapamaz
- Kültür
  - Esas inceleme yolu = Altın Standart
    - Kesin tanımlama sağlıyor
    - Antifungal duyarlılık ile ilgili bilgi
  - Dezavantajları
    - Erken sonuçlanmaz (ort=48-72 saat)
    - Duyarlılık ve özgüllükle ilgili sıkıntılar
    - Eşik koloni değeri yoktur

Esas İnceleme

Fungal Enfeksiyonlar İçin Uygun Örnekler

- Sürüntü örnekleri uygun değildir
  - Sadece *Candida* mukoza enfeksiyonlarında alınabilir
  - Çift ekivyonla alınmalıdır
- **Kan, kemik iliği ve steril vücut sıvıları**
  - Alınırken kontaminasyon önlenmeli
  - Uygun miktarda alınmalı
  - Oda ısısında saklanmalı
  - Steril vücut sıvıları 2ml'nin üzerinde olmalıdır
- **Aspirasyon örnekleri**
  - Paranazal sinüs aspirasyon materyali
  - Nazal sürüntü örnekleri kullanılmamalıdır
- **Solunum yolu örnekleri (Balgam, BAL, TAS gibi)**
  - Sabah ilk balgam tercih edilir
  - BAL örneklerinin miktarı 5-10ml olmalıdır
  - Ağzı kapalı steril kaplara alınması gerekiyor
  - En fazla iki saat oda sıcaklığında tutulabilir
  - En fazla 24 saat buzdolabı sıcaklığında tutulabilir
- İdrar
  - Üriner sonda varlığı?
  - *Candida* türleri geçici olarak kolonize veya kontaminant olarak bulunabilir
  - Sistemik enfeksiyonlarda mantarların çoğu böbreği tutar
  - En fazla iki saat oda sıcaklığında tutulabilir
  - En fazla 24 saat buzdolabı sıcaklığında tutulabilir
- **Biyopsi örnekleri**
  - Nazal, sizonazal, deri, karaciğer, MSS……..vs
  - Steril cerrahi koşullarda alınmalı
  - Kesinlikle formol gibi fiksatif konulmamalı
  - Gazlı bez içinde gönderilmemeli
  - Steril bir kap içine alınır
  - Kurumasını önlemek için steril serum fizyolojik eklenebilir

Direkt Mikroskobik İnceleme

- Gram boyalı inceleme
- Lam-lamel arası taze inceleme
  - %10-30 KOH ve/veya Kalkoflor beyazı
- Florasan boyalı inceleme (DFAT veya IFAT)
- Histopatolojik inceleme (HE, PAS, GMS)

- Ön rapor ile kliniğe bilgi verilebilir
  - Yalancı hif ve blastosporlar
  - Septalı gerçek hif (Hiyalen veya esmer)
  - Septasız gerçek hif

Antifungal proflaksi ve tedavi ile bu yapıların bozulabileceği unutulmamalıdır

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

Microscopic examinations

Population	Intention	Intervention	SoR	QoE	Comment	Ref.
Any	To identify fungal elements in histological sections and stains	Histological examination Gomori's methenamine silver stain Periodic acid–Schiff	A	III	Histopathology is an essential investigation Inability to definitively distinguish other filamentous fungi GMS: removes cellular background; more sensitive to hyphal elements PAS: advantage of counter stain to check cellular detail	[61,80,369,370]
Any	To identify fungal elements in histological sections and stains	Fluorescent dyes: Calcofluor white™, Uvitex 2B, Blancophor™	A	II	Not specific to *Aspergillus* but high sensitivity and the micromorphology may provide information on the fungal class (e.g. *Aspergillus*: typically dichotomous and septate, Mucorales: pauci-septate and 90° angle branching, yeast: budding) Rapid turnaround time Broad applicability May be applied to frozen sections, paraffin-embedded tissue	[371–375]
Any	To identify fungal elements in histological sections and stains	Immunohistochemistry Monoclonal antibody WF-AF-1 or EB-A1 *In situ* hybridization	B	II	Have the potential to provide genus- and species-specific data Commercially available monoclonal antibodies WF-AF-1 is specific for *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus niger* Time consuming and not broadly available	[371–375]
Any	To identify fungal elements in fresh clinical specimens (e.g. BAL)	Application of fluorescent dyes Calcofluor white™ or Uvitex 2B or Blancophor™	A	II	Essential investigation Not specific for *Aspergillus* species High sensitivity Rapid turn-around time Broad applicability No species identification but the micromorphology may provide information on the fungal class (e.g. *Aspergillus*: typically dichotomous and septate, Mucorales: pauci-septate and 90° angle branching, yeast: budding)	[61,80,376]

Ullmann AJ et al. Clinical Microbiology and Infection (2018), https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.002

DOKU
(Klinik bulguların olduğu yerden)

✓ Fiksatif içinde

Histopatolojik inceleme

✗ Fiksatif içinde

✗ Gazlı bez

✓ Steril serum fizyolojik

- Kültür
- Fresh mikroskobik inceleme

(%10 KOH ve/veya kalkoflor beyazı)

Direkt Mikroskobik İnceleme (Taze İnceleme)

Ön rapor = Septalı 45 derece açı ile dallanan düzenli gerçek hifler

Direkt Mikroskobik İnceleme (Taze İnceleme)

Ön rapor = Septasız düzensiz iri hifler

Kan Kültürü-1

- *Candida* türleri ve benzer mayalar
- *Fusarium* ve *Scedosporium* türleri
- Dimorfik mantarlar

- Modern otomatik kan kültür sistemleri
- Lizis-sentrifügasyon sistemleri

- *Aspergillus* türleri
- *Mucorales* takımı

- Her gün alınmalı
- 30 dk ara ile 3 (2-4)
- Erişkinde 40-60ml/gün
- Çocukta
  - 2-4 ml <2kg
  - 6ml 2-12kg
  - 20ml 12-36kg

Kan Kültürü-2

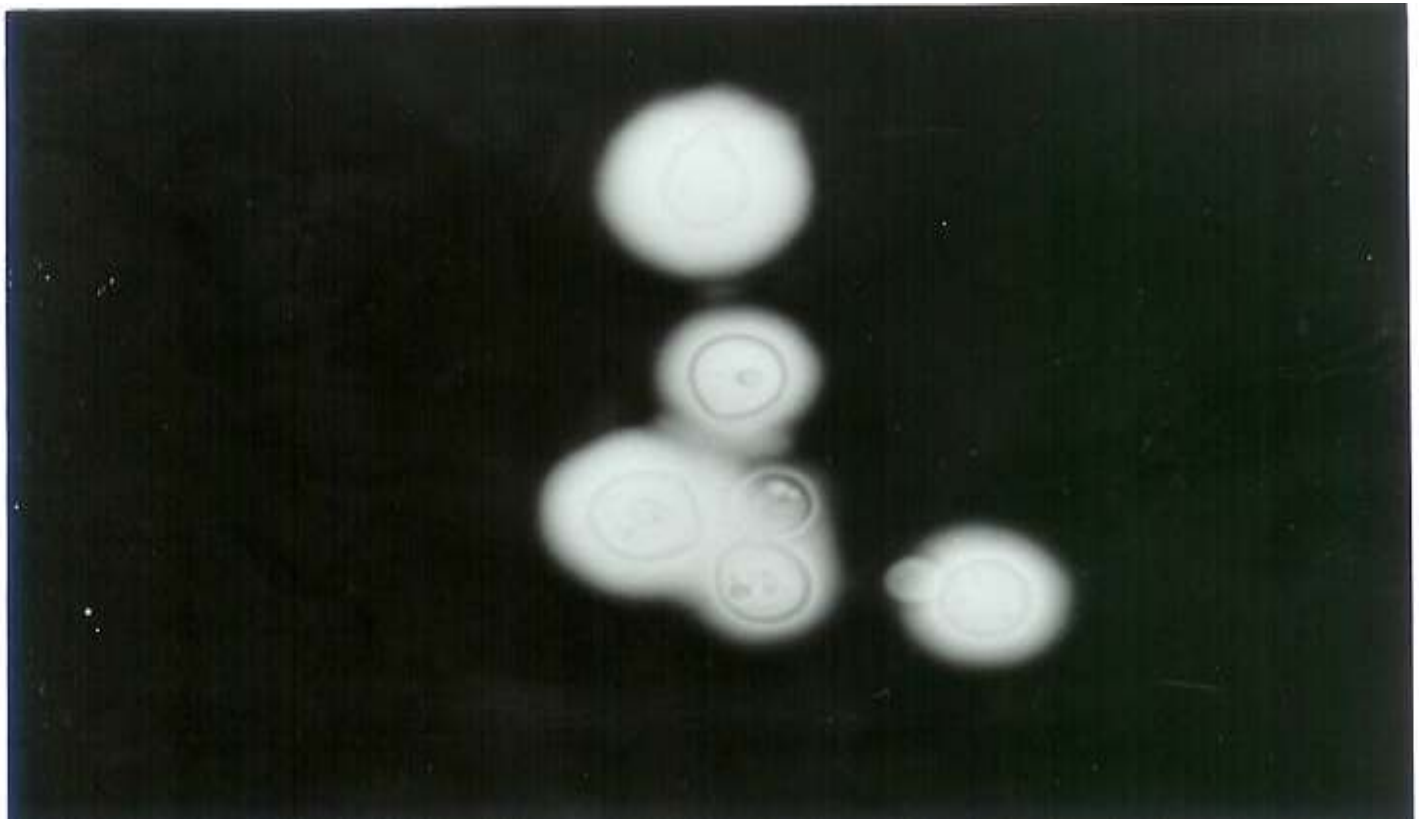
- Kandidemi ve akut dissemine kandidozda
  - %50-75
- Kronik dissemine kandidoz ve diğer invazif kandidozlarda duyarlılık daha da az
- *Fusarium* ve *Scedosporium* enfeksiyonlarında
  - %50-60

- Standart şişeler
- Fungal şişeler
  - Üreme süresini kısaltabiliyorlar
  - *C. glabrata* için kullanılan sisteme göre farklılık olabilir
  - Fungal şişe yerine iki aerobik şişe kullanılması

Steril vücut sıvıları=BOS

- Direkt mikroskobik inceleme
  - *Cryptococcus* menenjitinde: Çini mürekkebi ile değerlendirme %60 duyarlı
  - *Candida* menenjitinde: Gram ile değerlendirme %40 duyarlı
- BOS kültür duyarlılığı
  - *Cryptococcus* menenjitinde: %98
  - *Candida* menenjitinde: %80
  - SSS aspergilloz veya kandidozunda yararsız

Direkt Mikroskobik İnceleme
Çini Mürekkebi ile İnceleme



Ön rapor = Kapsüllü maya hücreleri

Solunum Yolu Örneklerindeki *Candida* Üremelerinin Değerlendirilmesi

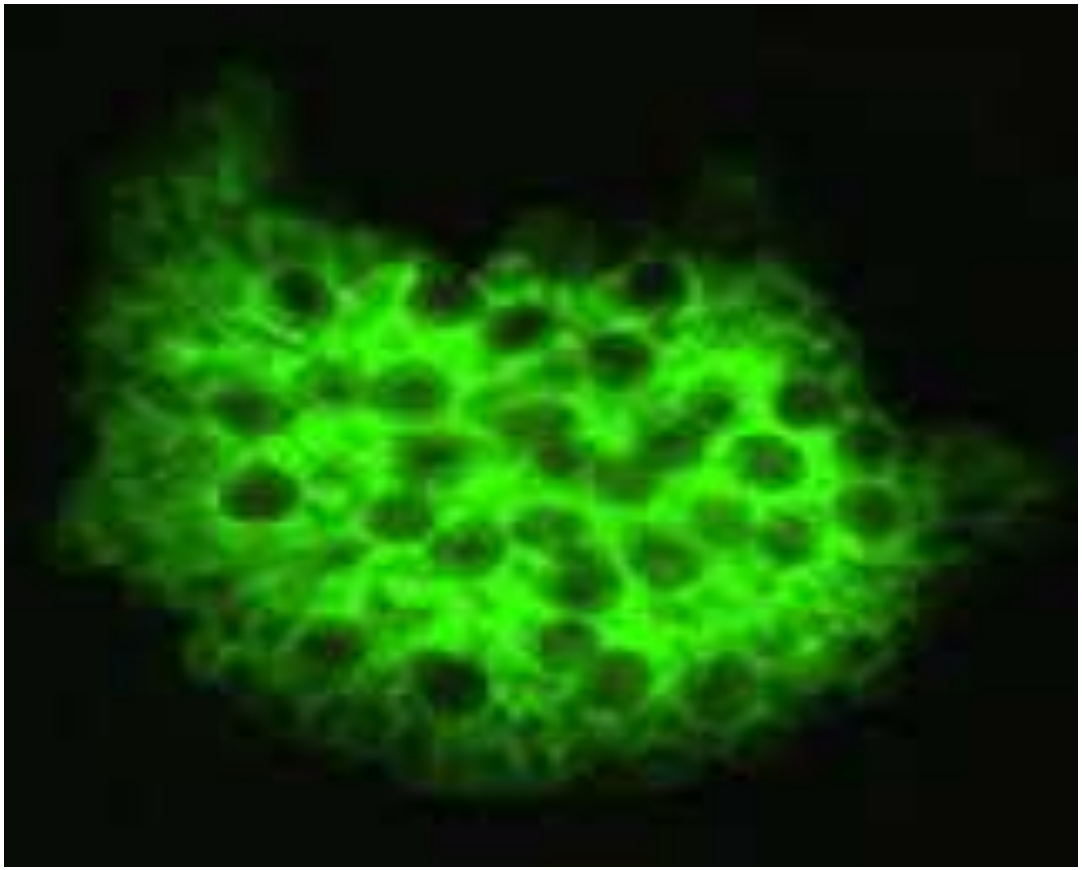
- *Candida* türlerinin üremesi anlamlı kabul edilmez
  - Solunum yolu örneklerinde *Candida* türleri izole edilen hastaların akciğer biyopsisi ve akciğer otopsi örneklerinde enfeksiyon bulgusu yok
  - Yüksek riskli hastalarda kolonizasyon indeksi ve *Candida* skoru açısında tanımlanarak raporlanmakta

Meersseman W et al. Intensive Care Med ,2009

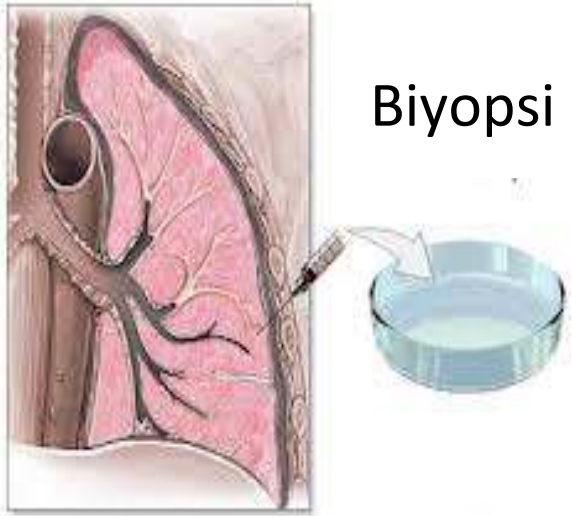
Direkt Mikroskobik İnceleme (Taze İnceleme)

Ön rapor = Maya hücreleri ve yalancı hifler

BAL Direkt Mikroskobik İnceleme
DFA = *Pneumocystis jirovecii*

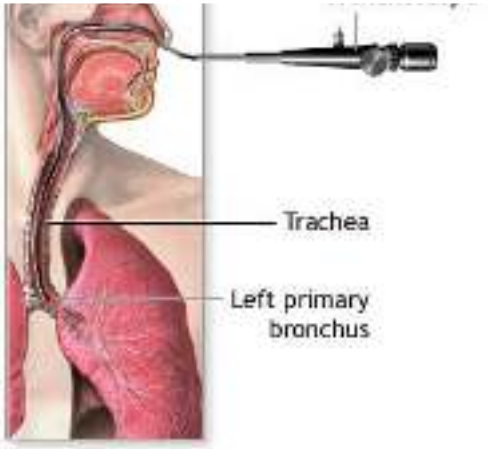


Solunum Yolu Örnekleri



Biyopsi örneği

En değerli örnek



BAL>BL > TAS > Balgam

ISHAM
INTERNATIONAL SOCIETY FOR HUMAN AND ANIMAL MYCOLOGY

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

Original Article

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

Pilar Escribano[1,2,3], Laura Judith Marcos-Zambrano[1,2], Teresa Peláez[1,2,3,4], Patricia Muñoz[1,2,3,4], Belén Padilla[1,2,3], Emilio Bouza[1,2,3,4] and Jesús Guinea[1,2,3,4,*]

- Balgam ve bronş sekresyonu
- Tanıda bronkoalveolar lavaj kadar değerli

Volume dependency for culture of fungi from respiratory secretions and increased sensitivity of *Aspergillus* quantitative PCR

Marcin G. Fraczek,[1,2] Marie B. Kirwan,[1,3] Caroline B. Moore,[1,2,3] Julie Morris,[4] David W. Denning[1,2,3] and Malcolm D. Richardson[1,2,3]

[1]Institute of Inflammation and Repair, Education and Research Centre, Manchester Academic Health Science Centre (MAHSC), University of Manchester, Manchester, UK, [2]Mycology Reference Centre, Education and Research Centre, University Hospital of South Manchester (UHSM), Manchester, UK, [3]National Aspergillosis Centre, University Hospital of South Manchester (UHSM), Manchester, UK and [4]Medical Statistics, Education and Research Centre, University Hospital of South Manchester (UHSM), Manchester, UK

Summary

Diagnosis of aspergillosis is often difficult. We compared fungal yields from respiratory specimens using the Health Protection Agency standard culture method (BSOP57), a higher volume undiluted culture method Mycology Reference Centre Manchester (MRCM) and *Aspergillus* quantitative real time polymerase chain reaction (qPCR). Sputum, bronchial aspirate and bronchoalveolar lavage (BAL) samples (total 23) were collected from aspergillosis patients. One fraction of all samples was cultured using the MRCM method, one BSOP57 and one was used for qPCR. The recovery rate for fungi was significantly higher by MRCM (87%) than by BSOP57 (8.7%) from all 23 specimens. Sputum samples were 44% positive by MRCM compared to no fungi isolated (0%) by BSOP57. Bronchial aspirates were 75% positive by MRCM and 0% by BSOP57. BAL samples were positive in 20% by MRCM and 10% by BSOP57. qPCR was always more sensitive than culture (95.6%) from all samples. In general, over 100 mould colonies (81 *Aspergillus fumigatus*) were grown using the MRCM method compared with only one colony from BSOP57. This study provides a reference point for standardisation of respiratory sample processing in diagnostic laboratories. Culture from higher volume undiluted respiratory specimens has a much higher yield for *Aspergillus* than BSOP57. qPCR is much more sensitive than culture and the current UK method requires revision.

Solunum Yolu Örneklerinin Ekimi

Population	Intention	Intervention	SoR	QoE	Comment	Ref.
Any	To achieve a homogeneous sample of viscous samples such as sputum	Liquefaction using a mucolytic agent, e.g. Pancreatin®, Sputolysin®, or using sonication and 1,4-dithiothreitol	A	III	Essential investigation High-volume sputum culture (entire sample) shown to significantly increase recovery	[81,377]
Any	To achieve optimal recovery of *Aspergillus* from BAL by centrifugation and investigation of the sediment	Centrifugation of BALs or bronchial aspirates	A	III	Essential investigation Isolation of *Aspergillus* dependent on volume cultured	[81]

TANIMLAMA

- *Candida* türleri (virülansları, antifungal duyarlılıkları doku tropizmleri farklı)
  - API ID 32 C
  - Vitek maya tanımlama ?
  - BD maya tanımlama ?
  - MALDİ-TOF Tanımlama
  - Moleküler tanımlama

- *Mucorales* takım düzeyinde tanımlama
- *Fusarium* cins düzeyinde tanımlama
  - ITS tür kompleksi düzeyinde tanımlama yapar
  - Tür tanımı için multilokus sekanslama gerekir

Aspergillus türleri

- Tür kompleksi düzeyinde tanımlama
  - Uzmanlık istiyor
  - *A. fumigatus* tanımlaması için termotolerans testi yapılabilir
- MALDİ-TOF Tanımlama
- Tür düzeyinde tanımlama
  - ITS, β-tubulin ve kalmodulin genlerine bakılmalı
  - Tipik üreme gösterenlerde gerekli değil
- Epidemileri incelerken
  - Mikrosatellit genotipleme veya hücre yüzey proteinleri ile genotipleme

Anti-fungal duyarlılık testleri (*Candida* türleri)

- Duyarlılık testleri
  - Olgu bazında
  - Epidemiyolojik veri

- Kan ve steril dokulardan izole edilen *Candida* suşlar
- Antifungal kullanan hastalardan izole edilen suşlar
- Nadir ya da yeni ortaya çıkmış suşlar
- Duyarlılığı düşük ya da dirençli olarak bilinen suşlar

12 merkez 1996-2017
n= 1887
Hacettepe Üniv. - Mikoloji Laboratuvarı
CLSI referans mikrodilüsyon

Kandidemi - Çok Merkezli

Antifungal Direnç

Hacettepe Üniv, Dokuz Eylül Üniv, Ege Üniv, Erciyes Üniv., Gazi Üniv., İstanbul Üniv. İstanbul Tıp Fak., Marmara Üniv., Ondokuz Mayıs Üniv., Osmangazi Üniv., Sağlık Bilimleri Üniv. Gülhane Tıp Fak., Selçuk Üniv, **Uludağ Üniv.**

FLUKONAZOL %

	S	SDD	R	WT	non-WT	n
C.albicans	99,6	0,4	0,0			809
C.parapsilosis	90,0	2,7	7,3			548
C.glabrata	0,0	99,0	1,0			196
C.tropicalis	100,0	0,0	0,0			196
C.krusei	0,0	0,0	100,0			52
C.kefyr				96,7	3,3	30
C.lusitaniae				95,0	5,0	20
C.guilliermondii				100,0	0,0	16
Diğer						20

Diğer (n=20) : C.dubliniensis (n=5) C.inconspicua/norvegensis (n=6) C.lipolytica (n=1) C.pelliculosa (n=3) C.rugosa (n=2) C.sake (n=1) C.utilis (n=2)

Sevtap Arıkan Akdağlı - Yayınlanmamış Veri

12 merkez 1996-2017
n= 1887
Hacettepe Üniv. - Mikoloji Laboratuvarı
CLSI referans mikrodilüsyon

Kandidemi - Çok Merkezli

Antifungal Direnç

MİKAFUNGİN

	S	SDD	R	WT	non-WT	n
C.albicans	100,0	0,0	0,0			809
C.parapsilosis	99,8	0,2	0,0			548
C.glabrata	100,0	0,0	0,0			196
C.tropicalis	100,0	0,0	0,0			196
C.krusei	100,0	0,0	0,0			52
C.kefyr				100,0	0,0	30
C.lusitaniae	100,0	0,0		100,0	0,0	20
C.guilliermondii	100,0	0,0	0,0			16
Diğer						20

***Mikafungin için elde edilen bu in vitro sonuçlar, üç ekinokandin (anidulafungin, kaspofungin, mikafungin) için de geçerlidir.

Diğer (n=20) : C.dubliniensis (n=5) C.inconspicua/norvegensis (n=6) C.lipolytica (n=1) C.pelliculosa (n=3) C.rugosa (n=2) C.sake (n=1) C.utilis (n=2)

Sevtap Arıkan Akdağlı - Yayınlanmamış Veri

Anti-fungal duyarlılık testleri (*Aspergillus* türleri)

- Rutin olarak son yıllara kadar önerilmiyordu

Azole susceptibility testing: timing, methods, and number colonies

Population	Intention	Intervention	SoR	QoE	Comment	Ref.
Any	Confirm or reject azole resistance in clinical *A. fumigatus* isolates when antifungal treatment is considered	Azole agar screening test followed by reference MIC test where needed	A	III	MIC testing as soon as the strain is isolated and without waiting for species ID	[103,114]
	Detect azole-resistant *A. fumigatus* genotypes in a single culture	Reference MIC testing of multiple colonies (up to five colonies)	B	III	Multiple genotypes, i.e. azole-susceptible and azole-resistant, may be present	[115,487,488]
		Routine azole agar screening (up to five colonies)	B	III	One resistant colony can be identified among four susceptible samples together as recently validated	[118,486]
	Confirm or reject azole resistance by a validated method	MIC test using EUCAST method and EUCAST BPs (S, I, R)	A	III	Applicable to all *Aspergillus* spp. Breakpoints established for most species	[489–491]
		MIC test using CLSI method and CLSI ECVs (wild-type/non-wild-type)	B	III	Breakpoints not established	[491]
	MIC testing of various *Aspergillus* spp.	Etest®	C	III	Confirmation by reference test recommended	[492–496]

Kriptik ve Nadir *Aspergillus* Türlerinde Antifungal Duyarlılık

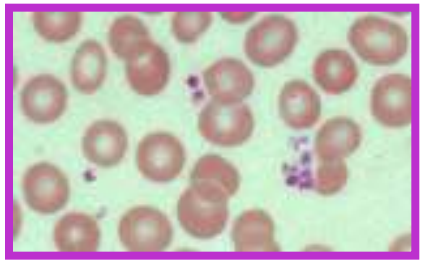
- *A. fumigatus* tür kompleksi
  - *A. lentulus* → Azol monoterapisinden kaçınılmalı
  - *A. udagawae*
  - *Neosartorya pseudofischeri*
- *A. flavus* tür kompleksi
  - *A. alliaceus* → AmB tedavisinden kaçınılmalı
- *A. terreus* tür kompleksi → AmB tedavisinden kaçınılmalı
  - *A. carneus*
  - *A. alabamensis*
- *A. niger* tür kompleksi
  - *A. tubingensis* → Azol monoterapisinden kaçınılmalı
  - *A. luchuensis*
- *A. ustus* tür kompleksi
  - *A. calidoustus* → Tüm azollerden kaçınmalı
- *A. nidulans* tür kompleksi → AmB tedavisinden kaçınılmalı
  - *Emericella nidulans*
  - *E. quadrilineata*

Antifungal duyarlılık testleri

- Referans yöntemler tercih edilmeli
  - CLSI ve EUCAST
- Ticari sistemler
  - Vitek 2 antifungal duyarlılık
  - Sensititre yeast one
  - Agar gradiyent yöntemi (Etest)
- Antifungal duyarlılık testlerini mikoloji eğitimi almış kişilerin yapması ve yorumlaması

Mikroskopik inceleme ve kültür: Duyarlılık neden istenilen düzeylerde değil?

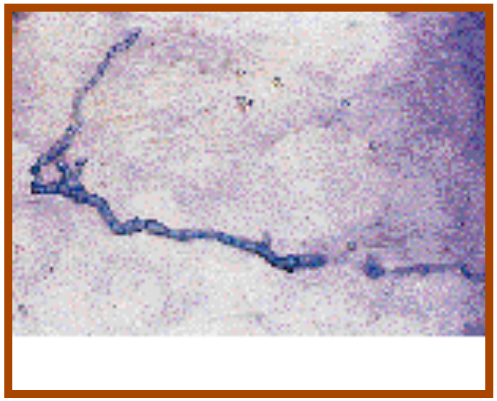
Uygun (steril) örnek alınmasındaki zorluklar



Trombositopeni

Genel durum bozukluğu

Örnekteki mantar miktarının azlığı



Bilgi ve deneyim eksikliği

Biyobelirteçler

- Kapsül antijeni taranması
  - *Cryptococcus* enfeksiyonlarında
- Hücre duvarı antijenleri
  - ß-glukan aranması (pan fungal)
  - Galaktomannan aranması (aspergilloz)
  - Mannan aranması (kandidoz)
- Özgül nükleik asit aranması
  - Spesifik veya panfungal PCR

- Tanı amaçlı kullanma
  - Belirteç serumdan çabuk uzaklaştırılmamalı
- Tarama amaçlı
  - Duyarlılığının yüksek olması
  - Prevelans >%5-10

Cryptococcus neoformans Ag

- Kapsül antijeni
- Serum ve BOS'da
- EORTC/MSG kriterlerinde
- Dissemine, SSS ve pulmoner enfeksiyonlardaki değeri
- HIV ve diğer hastalardaki değeri
- Serum Ag/Kan kültürü (%87/%42)
- BOS Ag= %97
- Hem serum, hem BOS'da kullanılması
- Tedavi izlemin

(1→3)-ß-D-Glukan (BDG)

- Çoğu mantarın hücre duvarında bulunan heterojen bir moleküldür
- Limulus testi (LAL Test) ile ölçülmektedir. (kolorimetrik veya turbidimetrik metot)
  - Fungitell-Glucatell test (80pg/ml)
  - Fungitec-G-Test MK (30pg/ml)
  - Fungitec G-Test (20pg/ml)
  - Wako ß-Glucan (11pg/ml
  - Dynemiker ß-Glucan (95 pg/ml)

(1→3)-ß-D-Glukan (BDG)

- Hematoloji hastalarında ECIL «BII»
- Kandidemi ESCMID «Recommended II»
- İnvazif kandidoz ESCMID «Recommended II»
- Kronik dissemine kandidoz «Recommended II»
- *Aspergillus* enfeksiyonlarında ESCMID «BII»
- *Fusarium* enfeksiyonu ESCMID «BIII»
- Esmer mantarlar ESCMID «CIII»
- Nadir görülen mayalar ESCMID «CIII»

Galaktomannan Testi

- Galaktomannan testi yaklaşık 20 yıldır bilinmekte
- Tedaviye yön veren en önemli biyobelirteç
- Esas olarak İPA açısından proflaksi almayan yüksek riskli hastalarda tarama testi olarak kullanılıyor
- Proflaksi alanlarda ise tanı testi olarak kullanılması öneriliyor
- Art arda gelen iki kan örneğinde optik indeksin >0,5 olması İPA açısından anlamlı kabul ediliyor

Kan Galaktomannan Testi

Galactomannan testing in blood samples

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

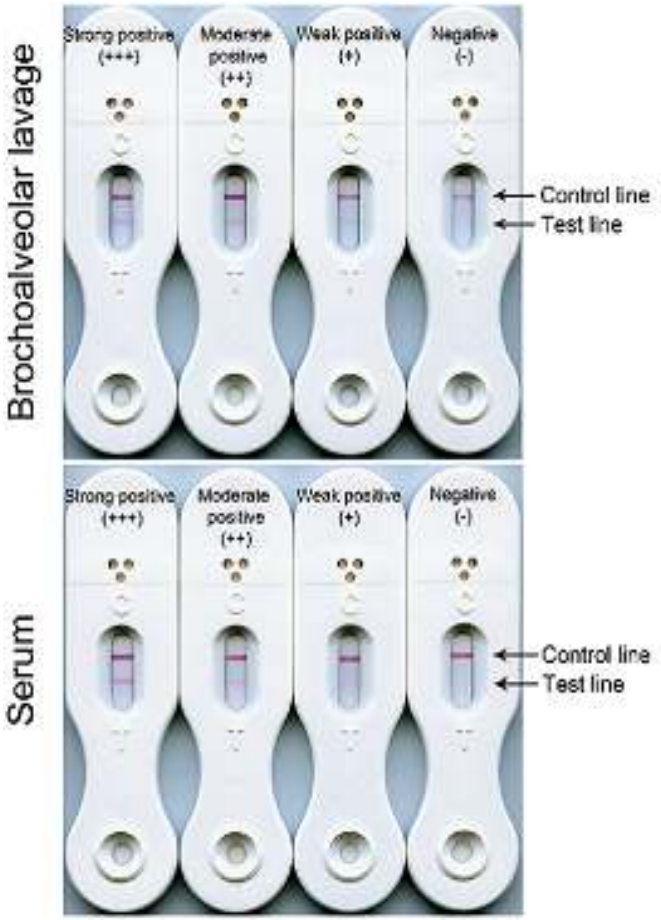
Diğer Vücut sıvılarında Galaktomannan

Galactomannan testing in samples other than blood

Population	Intention	Intervention	SoR	QoE	Comment	Ref.
Any	To diagnose pulmonary IA	To apply GM test on BAL fluid	A	II	GM in BAL is a good tool to diagnose, optimal cut-off to positivity 0.5 to 1.0	[86,88,411–414]
Any	To diagnose cerebral IA	To apply GM test on cerebrospinal fluid	B	II	No validated cut-off	[415,416]
Any	To detect GM in tissue	To apply GM test on lung biopsies	B	II	Using a cut-off 0.5 resulted in a sensitivity of 90 % and a specificity of 95%; specimens need to be sliced, precondition for doing so is that sufficient material is available; dilution in isotonic saline	[61,417]

Lateral Flow Device (LFD)

- İmmunkromotografi prensibini kullanmakta
- *Aspergillus* tarafından salgılanan glikoproteine karşı oluşturulmuş monoklonal antikoru (JF5 IgG3) kullanmakta
- *Aspergillus* türlerine oldukça spesifik
- Özel ekipman gerektirmiyor
- 10-15 dakikada sonuçlanıyor
  - **a point-of-care (POC) test**



1- White PL et al. JCM 2013; 51:1511

2- Wiederhold NP et al. JCM 2013; 51:459

Lateral Flow Device (LFD)

Lateral flow device antigen test for invasive aspergillosis

Population	Intention	Intervention	SoR	QoE	Comment	Ref.
Haematological malignancy and solid organ transplant	To diagnose IA	LFD applied on BAL samples	B	II	Retrospective study. Sensitivity and specificity of BAL LFD tests for probable IPA were 100% and 81% (PPV 71%, NPV 100%), five patients with possible IPA had positive LFD, no proven IA	[428]
Haematopoietic stem cell transplantation	To diagnose IA	LFD applied on serum samples	B	II	Prospective screening in 101 patients undergoing allogeneic HSCT	[429]
Immunocompromised patients	To diagnose IA	LFD applied on BAL samples	B	II	Retrospective study. Sensitivities for LFD, GM, BDG and PCR were between 70% and 88%. Combined GM (cut-off >1.0 OD) with LFD increased the sensitivity to 94%, while combined GM (cut-off >1.0 OD) with PCR resulted in 100% sensitivity (specificity for probable/proven IPA 95%–98%).	[430]

Mannan Ag/anti-mannan Ab

- *Candida* hücre duvarı komponenti
- Platelia Candida Antigen and Platelia Candida Antibody (Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France)
- Dynemiker *Candida* antijen ve antikor
- ECIL kronik dissemine kandidoz ve kandidemi beraber kullanılması (BIII ve CII)
- ESCMID: Kandidemi ve kronik dissemine kandidozda «recommened II»

14 çalışma, 453 hasta,767 kontrol

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

European Conference on Infections İn Leukemia (ECIL)

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

Moleküler Tanı (Kandidoz)
(Polimerase chain reaction=PCR)

Disease	Specimen	Test	Recommendation	Level of evidence
Candidaemia	Blood	Blood culture	Essential investigation[a]	NA
	Serum	Mannan/anti-mannan	Recommended	II
		B-D-glucan	Recommended	II
		Other antibodies	No recommendation	No data
		Septifast PCR kit	No recommendation	No data
		In-house PCR	No recommendation	No data
Invasive candidiasis	Blood	Blood culture	Essential investigation	NA
	Serum	Mannan/anti-mannan	No recommendation	No data
		B-D-glucan	Recommended	II
		Septifast PCR kit	No recommendation	No data
		In-house PCR	No recommendation	No data
	Tissue and sterile body fluids	Direct microscopy and histopathology	Essential investigation	NA
		Culture	Essential investigation	NA
		Immuno-histochemistry	No recommendation	No data
		Tissue PCR	No recommendation	No data
		In situ hybridization	No recommendation	No data
Chronic disseminated candidiasis	Blood	Blood culture	Essential investigation	NA
	Serum	Mannan/anti-mannan	Recommended	II
		B-D-glucan	Recommended	II
		Septifast PCR kit	No recommendation	No data
		In-house PCR	No recommendation	No data
	Tissue and sterile body fluids	Direct microscopy and histopathology	Essential investigation	NA
		Culture	Essential investigation	NA
		Immuno-histochemistry	No recommendation	No data
		Tissue PCR	No recommendation	No data
		In situ hybridization	No recommendation	No data
Oropharyngeal and oesophagic candidiasis	Swab	Culture	Essential investigation	NA
		In-house PCR	No recommendation	No data
	Biopsy[b]	Direct microscopy and histopathology	Essential investigation	NA
		Culture	Essential investigation	NA
		In-house PCR	No recommendation	No data
Vaginal candidiasis	Swab/vaginal secretions	Direct microscopy	Essential investigation	NA
		Culture	Essential investigation	NA
		Commercial tests	Use validated test only	NA
		In-house PCR	No recommendation	No data

NA, not applicable.
[a]Essential investigation means it must be done if possible.
[b]Oropharyngeal biopsy is not mandatory.

T2 magnetik rezonans sistemi FDA onayı aldı

Moleküler Tanı (Aspergilloz)
(Polimerase chain reaction=PCR)

- Meta analizlerde duyarlılık ve özgüllüğü iyi
- Duyarlılık ve NPV yüksek
- BAL'da kullanılabilir
- Antifungal tedavinin izlenmesinde kullanılabilir

EORTC/MSG kriterlerine henüz alınmadı

PCR'ın Aspergilloz Tanısında Kullanılması

PCR on whole blood, serum or plasma

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

- Akılcı antifungal kullanımı için laboratuvar – klinik işbirliği şart
- İyi bir direkt mikroskobik inceleme yapılmalı
  - Erken tedavi başlamasını sağlar
- Tür tanımlaması ve antifungal duyarlılık testleri
  - İlaç değişimini sağlar
- Antifungal almayan kişilerde GM güvenilirliği yüksek
- *Aspergillus* enfeksiyonlarında BAL GM ve PCR testinin negatifliğinin değeri yüksek