

# **İnvaziv Fungal Enfeksiyonların Laboratuvar Tanısı**

**Prof. Dr. Yasemin ÖZ**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı

# Invaziv fungal enfeksiyon; SORUNLAR

---

- ▶ Premortem tanı oranı ~ %50 (%12 – 60); sıklıkla ampirik tedavi
  - ▶ Uygun olmayan antimikrobiyal kullanımı ve bakteriyel direnç artışı
- ▶ Etken spektrumu coğrafya, hastane florası ve antifungal maruziyetle ilişkili
- ▶ Antifungal tedaviye yanıt yavaş; tedavi zor (ör, tedavinin 12. haftasında invaziv aspergillozda %45 mortalite)
- ▶ Tedavi gecikmesi artan ölüm oranı ile ilişkili
  - ▶ Kan örnekleme  $\geq 12$  sa antifungal tedavi gecikmesi  $>2$  kat artmış mortalite
- ▶ Tedaviyi takiben immünosupresyon gelişirse; nüks??
- ▶ Tedavi uzun süreli (haftalar, aylar, yıllar)
- ▶ Maliyetlerde önemli artış



# İnvaziv fungal enfeksiyonlarda tanı

**KLİNİK**

**HİSTOPATOLOJİ**

**RADYOLOJİ**

**MİKROBİYOLOJİ**



**KESİN TANI**

**ETYOLOJİK  
TANI**



# Mikrobiyolojik tanı

---

## GELENEKSEL YÖNTEMLER

- Mikroskopik inceleme
- Kültür
  - İdentifikasyon
  - Duyarlılık testleri

## İMMUNOLOJİK YÖNTEMLER

- Histoplasma antijen test
- Cryptococcal antijen test
- Galaktomannan test
- (1-3) $\beta$ -d-glukan test
- Mannan-antimannan

## MOLEKÜLER YÖNTEMLER

- Hibridizasyon
- Amplifikasyon
  - İdentifikasyon
  - Direkt tanı



# Mikroskopik İnceleme

---

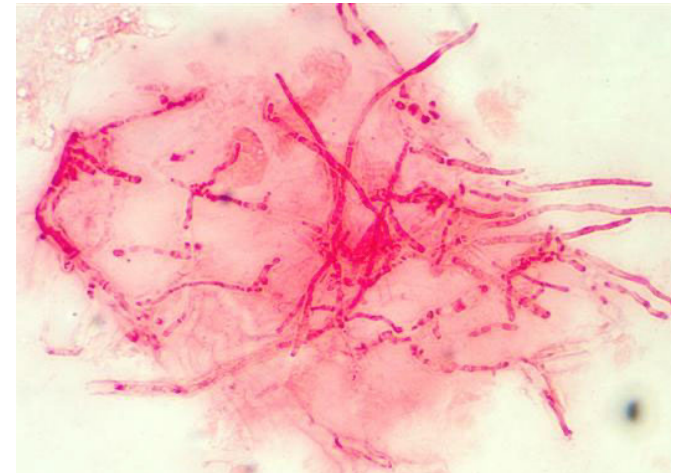
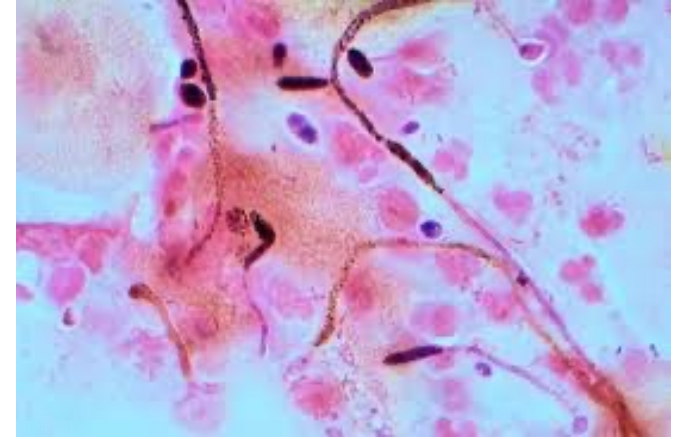
- ▶ Klinik örnekteki fungal yapıların mikroskopik olarak gösterilmesi
- ▶ Hızlı (<1 sa ön tanı)
- ▶ Ekonomik
- ▶ Pratik
- ▶ Uygun tanı yöntemi / by seçimi için yönlendirici
- ▶ Kültür için doğrulama; kontaminasyon? / kolonizasyon? / enfeksiyon?
- ▶ Duyarlılık < %50 (%20-80); negatif sonuç fungal enfeksiyonu ekarte ettirmez
- ▶ Etkenin cins/tür düzeyinde tanımlanması mümkün olmaz
- ▶ Duyarlılık < kültür; yetersiz materyal varlığında kültüre öncelik verilmeli
- ▶ Eğitimli ve deneyimli personel gerektirir



# Mikroskobik İnceleme

---

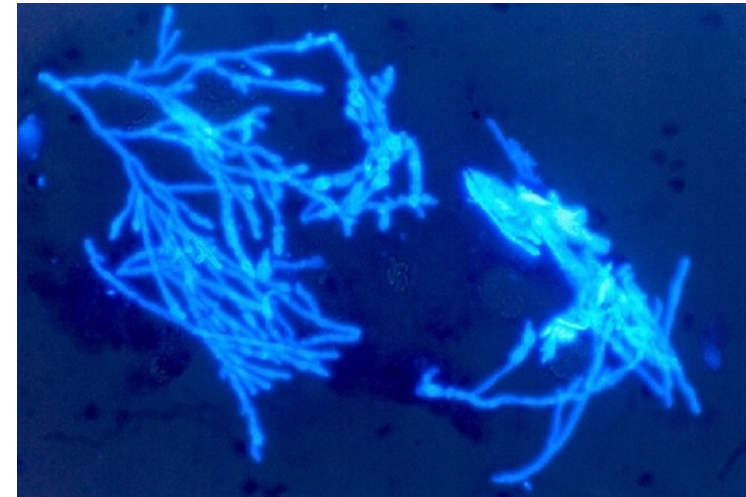
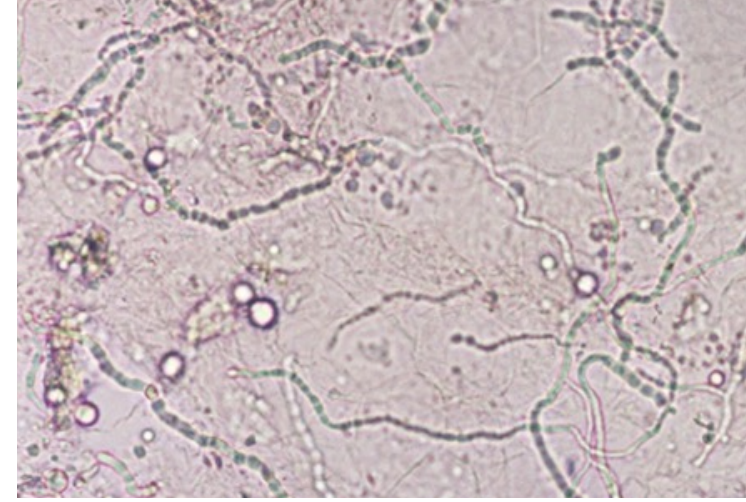
- ▶ Gram boyama
- ▶ IFI'da uygun örnekler için hem mikroskopi hem de kültür uygulanmalı
- ▶ Biyopsi materyalinde hiflerin doku invazyonu invaziv mantar enfeksiyonu kanıtıdır



# Mikroskopik İnceleme

---

- ▶ KOH (%10-30)
- ▶ Tüm doku ve keratinize örneklerin klarifikasyonu
  
- ▶ Calcofluor White
- ▶ Artmış duyarlılık ve daha hızlı sonuç



## Mikroskobik İnceleme

---

- ▶ Çini mürekkebi (India ink)
- ▶ Kriptokok menenjit tanısında beyin omurilik sıvısında ~%60 duyarlılık

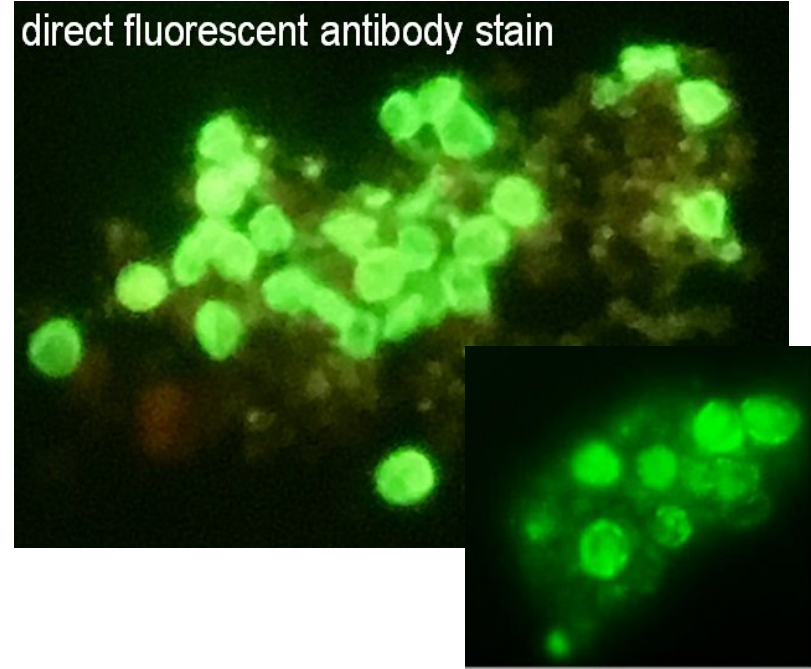




# Mikroskobik İnceleme

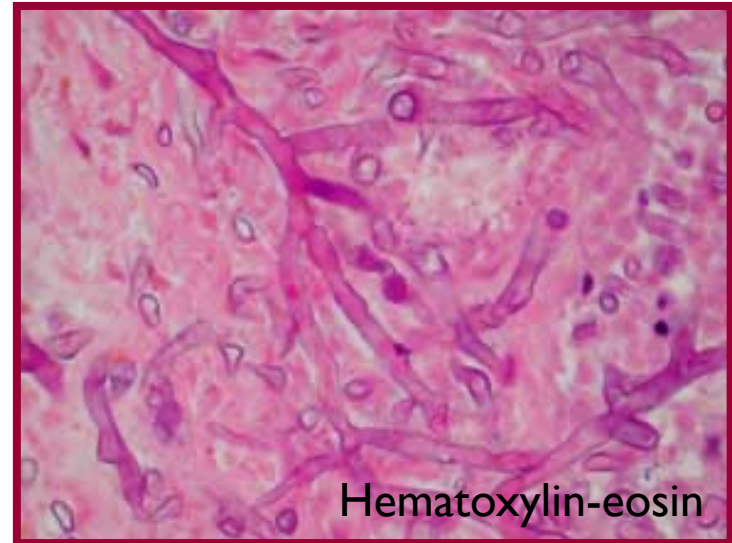
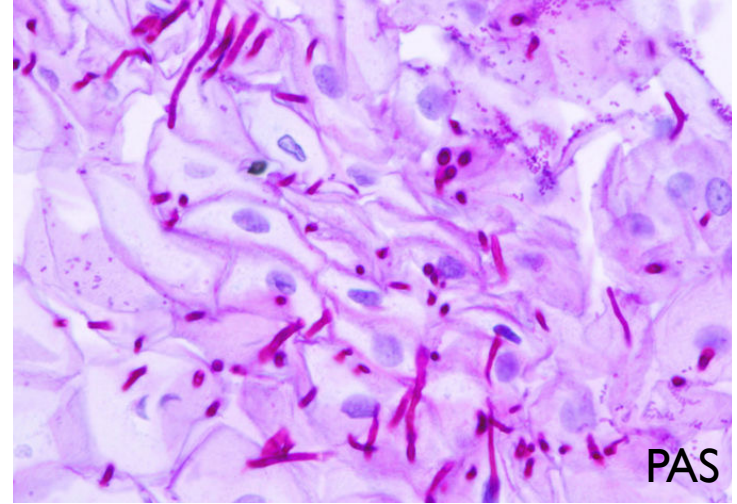
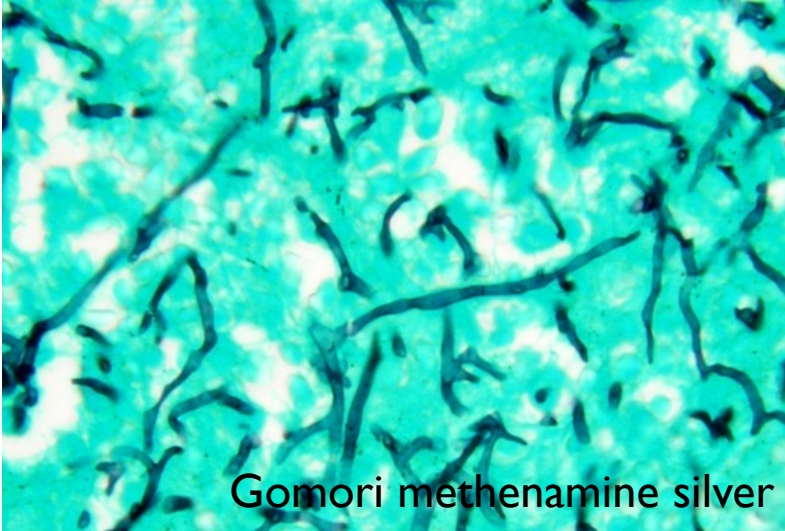
---

- ▶ Direkt İmmü Floresan Boyama
- ▶ Floresan işaretli özgül antikorlar kullanılarak *Pneumocystis jirovecii* tanısında



# Mikroskopik İnceleme

- ▶ Patoloji preparatları için Gomori metenamin gümüşleme, periyodik asit-Schiff, Hematoxylin-eosin



# Kültür

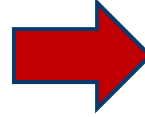
---

- ▶ Invaziv fungal enfeksiyon tanısında altın standart
  - ▶ KESİN tanı; klinik örnekte etkenin saptanması ve izolasyonu ile mümkün
- ▶ Epidemiyolojik çalışmalar
- ▶ Cins ve tür düzeyinde tanımlama
- ▶ Olası direnç tahmini
- ▶ In vitro duyarlılık testi şansı
- ▶ Uzun inkübasyon süresi; geç pozitifleşme
- ▶ Düşük duyarlılık
- ▶ Non-steril örneklerde
  - ▶ kontaminasyon?
  - ▶ kolonizasyon?
  - ▶ enfeksiyon?



# Kültür

Klinik örnekte fungal  
üreme



Kontaminasyon?  
Kolonizasyon?  
Enfeksiyon?



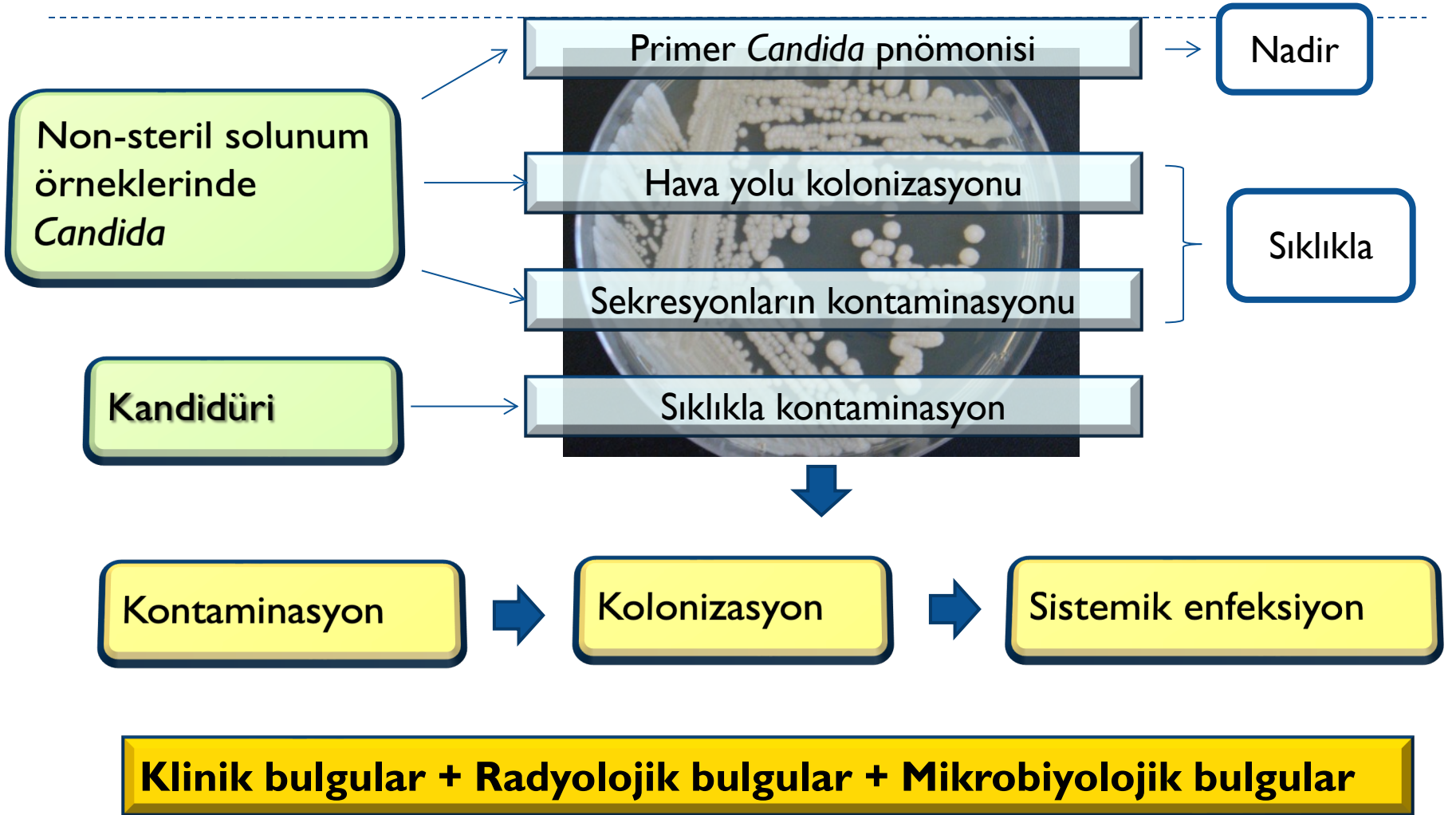
**Örnek seçimi önemli!!**  
**Steril vücut sıvıları ve doku örnekleri**  
**Flora içeren örnekler, sürüntü?**



Bronkoskopik örnekler > Balgam  
Balgam kolonizasyon/enfeksiyon ayırımında başarısız



# Kültür



# Kültür

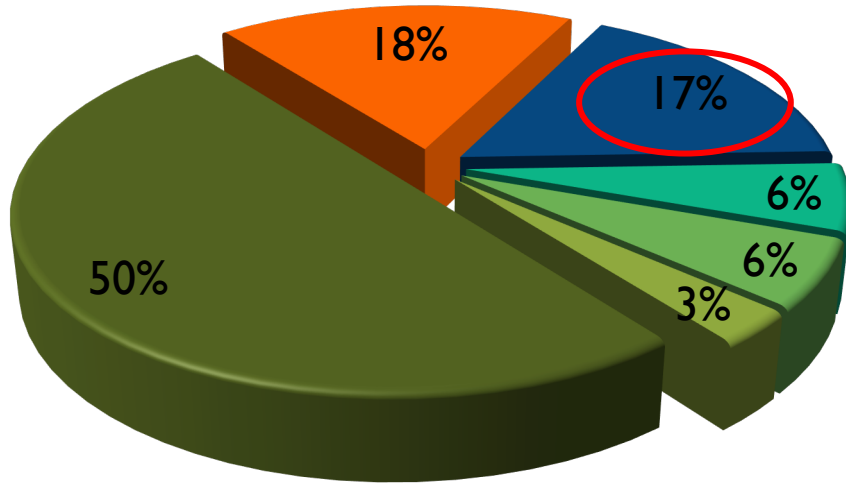
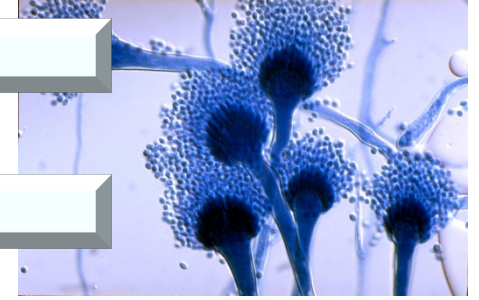
Kültürde  
*Aspergillus*  
izolasyonu



Kontaminasyon?



Kolonizasyon?



- Kolonizasyon
- Kontaminasyon
- Invaziv enfeksiyon
- Allerjik bronkopulmoner aspergilloz
- Aspergilloma
- Kronik nekrotizan aspergilloz

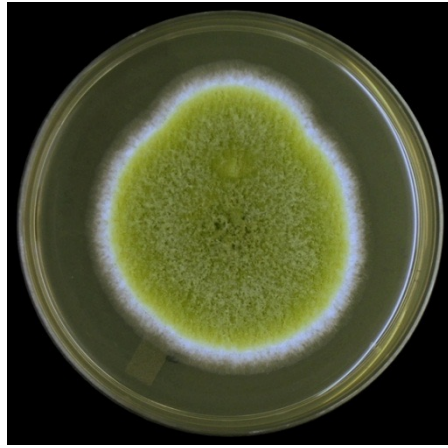
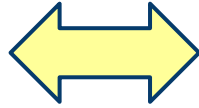
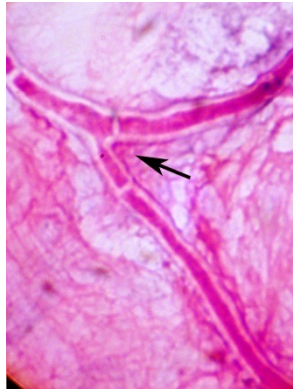
BAL kültür duyarlılığı  
(*Aspergillus spp*) %30-60

1209 olgu

1477 pozitif kültür

# Kültür

- ▶ **Pozitif kültür değerlendirilirken;**
  - ▶ Mikroskopide hifal yapıların görülmesi
  - ▶ Kültürle mikroskopi sonucunun uyumu
  - ▶ Birden fazla üreme
  - ▶ Değişik örneklerden izolasyon
  - ▶ 37°C de üreyebilme



# Kültür

## Kan kültürü



BacT/Alert (bioMerieux, Durham, NC),  
Bactec (BD Diagnostics, Sparks, MD)  
VersaTREK (TREK Diagnostic Systems, Cleveland, OH)

### invazif *Candida* enfeksiyonunda altın standart

- Sistemik kandidiyazda %50
- Tek organ kandidiyazında %30
- Pozitif sinyal 1-5 gün

*Fusarium* ve *Scedosporium spp*; ~%50 pozitif  
İnvaziv aspergillozda genellikle negatif





# Kültür

## ► İdentifikasyon

### ► Geleneksel yöntemler ve ticari sistemleri

- Morfolojik özellikler, germ tüp testi, dalmau plate
- API *Candida*, Api 20C/32C, Auxacolor, Vitek 2, CHROMagar

### ► PNA FISH (*peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization*)

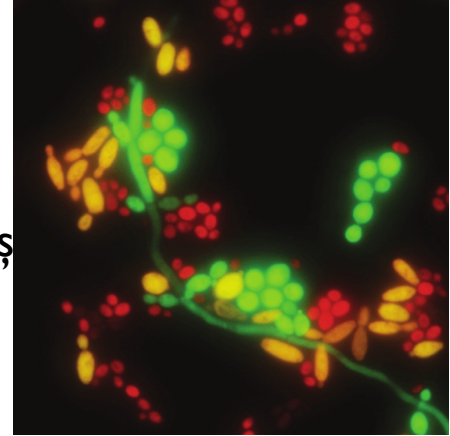
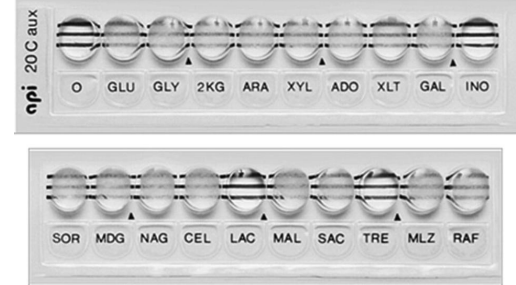
- rRNA'yı hedefleyen floresan işaretli tür spesifik probalar
- Pozitif kan kültür
- 5 *Candida* türü (*Candida albicans*, *parapsilosis*, *tropicalis*, *glabrata*, *krusei*)
- ~90 dk

### ► MALDI-TOF MS (matriks aracılı lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrofotometrisi)

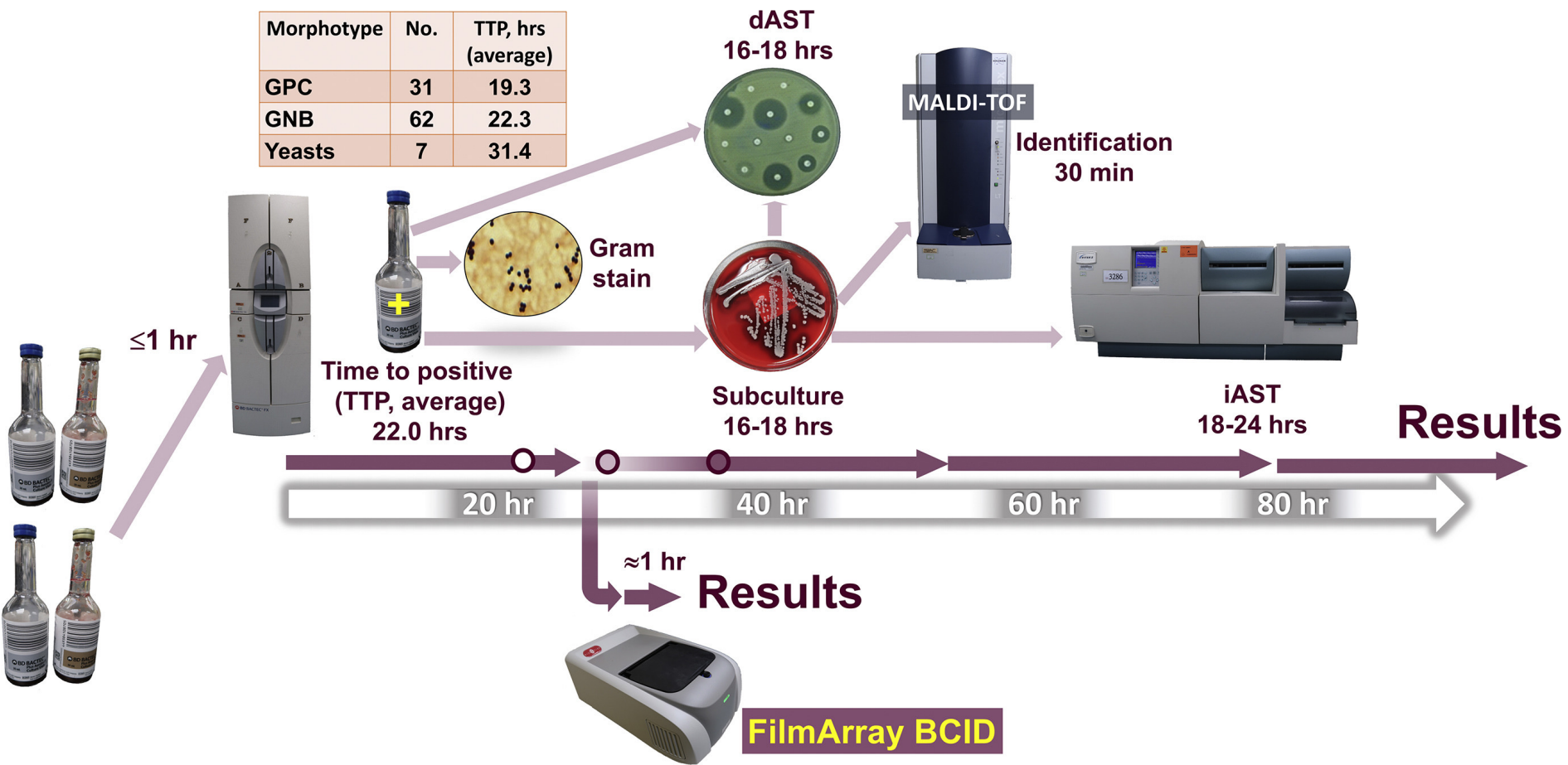
- Agarda üreyen küf ve mayaların identifikasyonu
- Pozitif kan kültür şişesinden direkt identifikasyon

### ► Multipleks PCR sistemleri (Biomerieux, Qiagen, Mobidiag, Bioexen)

- Sepsis paneli
- Tek seferde >20 patojen (bakteri+*Candida*)
- Pozitif kan kültür şişesi
- ~1 sa



Morphotype	No.	TTP, hrs (average)
GPC	31	19.3
GNB	62	22.3
Yeasts	7	31.4



Kang CM, et al. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020;53:882-91.

# Neden başarı düşük?



Hasta kaynaklı nedenler

Trombositopeni

Genel durum bozukluğu

Antifungal kullanımı



Örnek kaynaklı nedenler

Düşük fungal yük

Alınması ilişkili sorunlar

Transport ilişkili sorunlar



Laboratuvar kaynaklı nedenler

Bilgi ve deneyim eksikliği

# Kültür dışı tanı testleri

---

- ▶ Daha hızlı tanı
- ▶ Daha erken dönemde tanı
- ▶ Klinik performansları değişken
  - ▶ Etken mantarın cins veya türü
  - ▶ Numune tipi
  - ▶ Konak özellikleri
- ▶ Geleneksel tanı testleri ile birlikte kullanılmalı
- ▶ İmmünolojik testler
  - ▶ Antijen testleri
  - ▶ Antikor testleri
  - ▶ Deri testleri
- ▶ Moleküler testler



# İmmünolojik testler

---

## ▶ **Antikor testleri**

- ▶ Mantara özgül konak (Ab) yanıtını ölçen testler
- ▶ Uygulama kolay
- ▶ Örnek eldesi invaziv işlem gerektirmez
- ▶ Mantar enfeksiyonlarında duyarlılık ve özgüllük düşük;
  - ▶ Hastalar genellikle immüdüşkün (yanlış negatif)
  - ▶ Kandida kolonizasyonu sık (yanlış pozitif)

## ▶ **Deri testleri**

- ▶ Geç tip aşırı duyarlılığı gösterir
- ▶ Prevalans araştırılmasında önceki enfeksiyonların göstergesi
- ▶ Akut enfeksiyonların tanısında yararlı değil



# Antijen testleri

## Galaktomannan;

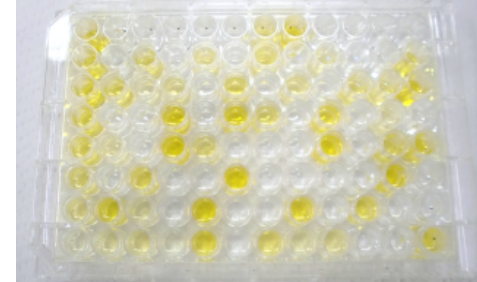
- ▶ *Aspergillus* hücre duvarı bileşeni; *Aspergillus* spesifik
- ▶ Mantar üremesi sırasında dolaşıma salınır
- ▶ Optik dansite indeksi olarak rapor edilir, eşik değeri;
  - ▶ Serum  $ODI \geq 0.5$
  - ▶ BAL  $ODI \geq 1$
- ▶ İnvaziv aspergillozun erken tanısında yararlı
- ▶ 0.3 ml serum ile 4 saatte sonuç
- ▶ Anti-galaktomannan monoklonal Ab kaplı mikropleytlere
- ▶ Ticari testi mevcut, FDA onaylı (2003)



Conjugate EB-A2 Monoclonal Antibody with peroxidase

Galactomannan antigen

EB-A2 Monoclonal Antibody to coat plate



# Antijen testleri

---

## Galaktomannan

- ▶ Duyarlılık kültürden daha yüksek (özellikle BAL)
  - ▶ Serum; DUY %47 (11-79); ÖZG %93 (76-100); PPV %59 (2-100); NPV %89 (73-98)
  - ▶ BAL; DUY %76 (50-100); ÖZG %89 (53-100); PPV %63 (25-100); NPV %92 (71-99)
- ▶ Küf aktif profilaksi yokluğunda duyarlılık yüksek
  - ▶ Küf aktif profilaksi uygulanan hastalarda seri tarama önerilmez
- ▶ Duyarlılık nötroopenik hastalarda nötroopenik olmayanlara göre daha yüksek
- ▶ Yüksek riskli hastalarda tarama testi (haftada iki kez)
  - ▶ Erken tanı (tek serum örneğinde pozitif ya da seri örneklerde titre artışı)
  - ▶ Tedavi takibi (AF tedavinin ilk 2 haftasında ODI azalması, tedavi yanıtı göstergesi)

## Antijen testleri

---

### Yalancı pozitif galaktomannan (%1-18)

- ▶ Piperasilin-tazobaktam (testin yeni versiyonlarında daha az)
- ▶ Non-invaziv enfeksiyonlarda geçici antijenemi
- ▶ *Talaromyces*, *Fusarium*, *Paecilomyces* ve *Histoplasma* enfeksiyonları
- ▶ Yenidoğan ve küçük bebekler (83%)
- ▶ Kan transfüzyonları, kan ürünü infüzyonları
- ▶ Kolistin tedavisi
- ▶ Tahrip olmuş GİS mukozasından GM absorpsiyonu

### Yalancı negatif galaktomannan (<%5)

- ▶ Yetersiz anjioinvazyon
  - ▶ *Aspergillus* türünün düşük galaktomannan üretimi
  - ▶ Düşük fungal yük
  - ▶ Antifungal ilaç kullanımı
- 





# Antijen testleri

## *Aspergillus Galactomannan LFA* (IMMY)

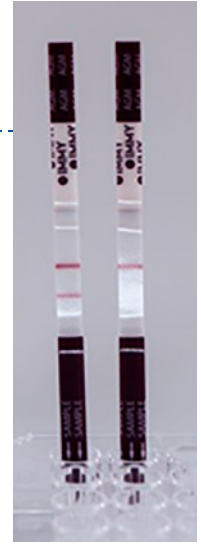
- ▶ İmmünokromatografik strip test

## *Galactomannoprotein* (Euroimmun)

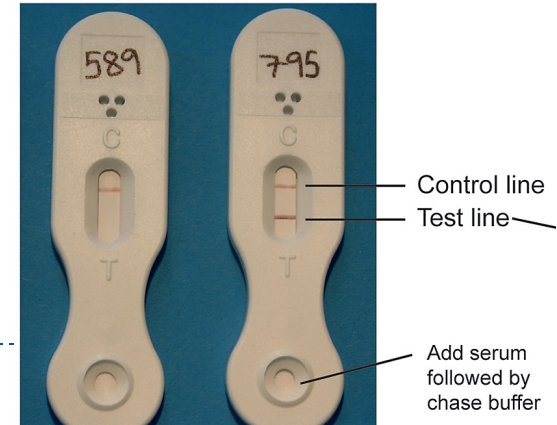
- ▶ Serum ve BAL örneklerinde ELISA testi
- ▶ Duyarlılık ve özgüllük Galaktomannan Ag test ile benzer

## *Aspergillus Lateral Flow Device*; LFD (OLM Diagnostics)

- ▶ Hızlı immunokromatografik test
- ▶ Hedef antijen; *Aspergillus* üremesi sırasında hücre dışına salınan bir glikoprotein
- ▶ Özgül monoklonal IgG Ab (JF5)
- ▶ Serum ve BAL örnekleri
- ▶ 15 dk'da sonuç, örnekleri biriktirmek gerekmez
- ▶ Hasta başı (point of care) test



Non-infected patient      Infected patient



# İmmünolojik testler

---

## I,3-β-D-glukan

- ▶ Fungal hücre duvar bileşeni
- ▶ Panfungal; *Aspergillus*, *Fusarium*, *Candida*, ***Pneumocystis***, *Acremonium*
- ▶ Kriptokokkoz, mukormikoz ve blastomikozda negatif
- ▶ Fungitell Assay FDA onaylı; serum sınır değeri ≥80 pg/ml
- ▶ 5 µl serumla (BOS, BAL) 2 saatte sonuç
- ▶ Duyarlılık %80, özgüllük %76, PPV %44, NPV %93
- ▶ Yalancı pozitiflik (≤%7);
  - ▶ İmmünglobulin, albumin preparatları
  - ▶ Selüloz membranlarla hemodiyaliz
  - ▶ Şiddetli bakteriyel enfeksiyon, bakteriyemi
  - ▶ Gazlı bez teması
  - ▶ Fungal kolonizasyon

# İmmünolojik testler

---

## Mannan ve Anti-mannan

- ▶ En önemli *Candida* antijeni; mannan
- ▶ Dolaşımdan klirensi hızlı; tek serum örneği ile sonuç yetersiz
- ▶ Serum yarılanma ömrü iki saat; yalancı negatif sonuç
- ▶ Mukozal kolonizasyon; yalancı pozitif sonuç
  - ▶ Mannan Ag; duyarlılık %58, özgüllük %93
  - ▶ Anti-mannan Ab; duyarlılık %59, özgüllük %83
  - ▶ Ag+Ab kombinasyonu; duyarlılık %83 özgüllük %86
- ▶ Lateks aglütinasyon ve ELISA testleri

# İmmünolojik testler

## Kriptokokal Ag

- ▶ Polisakkarit kapsül antijen
- ▶ *Cryptococcus neoformans* ve *C. gattii* için yüksek duyarlılık
- ▶ Serum ya da BOS
- ▶ Lateks aglütinasyon, ELISA ve immunokromatografik strip test



# Moleküler yöntemler

---

- ▶ İdentifikasyon
- ▶ Antifungal direncin saptanması
- ▶ Fungal yük saptanması
- ▶ Antifungal tedavi takibi (Kantitatif testler)
- ▶ Tanı (klinik örnekten etken saptama; kan, doku, BAL vb)

*In situ* hibridizasyon

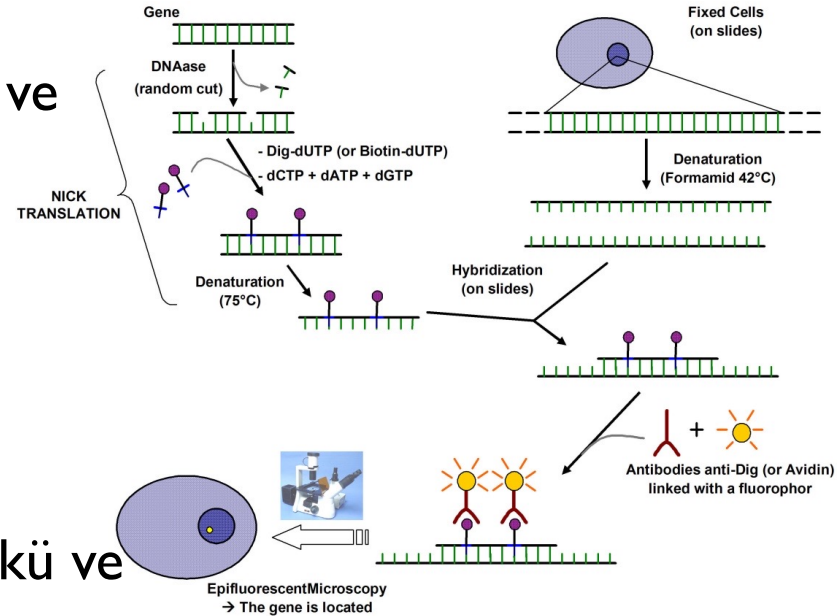
Yüksek duyarlılık ve özgüllük?  
Erken dönemde, hızlı sonuç?

Amplifikasyon

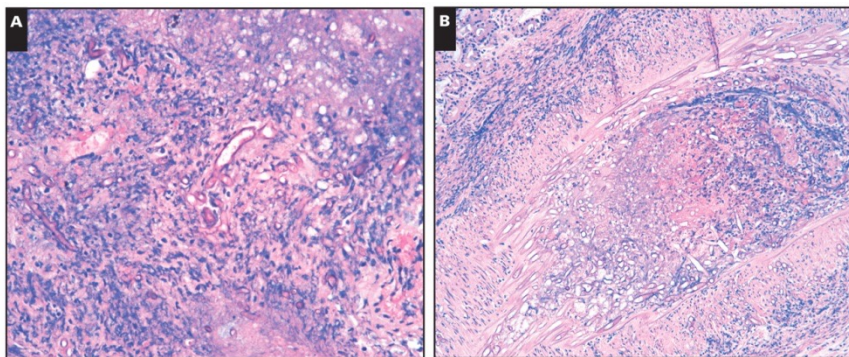
- ▶ Hedef amplifikasyon (PCR)
- ▶ Prob amplifikasyon
- ▶ Sinyal amplifikasyon
- ▶ Bu tekniklerin kombinasyonları

# In situ hibridizasyon

- ▶ Rhodamine, fluorescein, biotin işaretli özgül problr
- ▶ Direkt klinik doku örneklerinden tanı ve identifikasyon
- ▶ DNA ekstraksiyonu gerekmez
- ▶ Hızlı ve kolay
- ▶ Doku örneği gerkliliği; invaziv işlem!!!
- ▶ Özgül her bir tür için ayrı örnek; iş yükü ve maliyet
- ▶ Amplifikasyon bazlı testlerden daha düşük duyarlılık

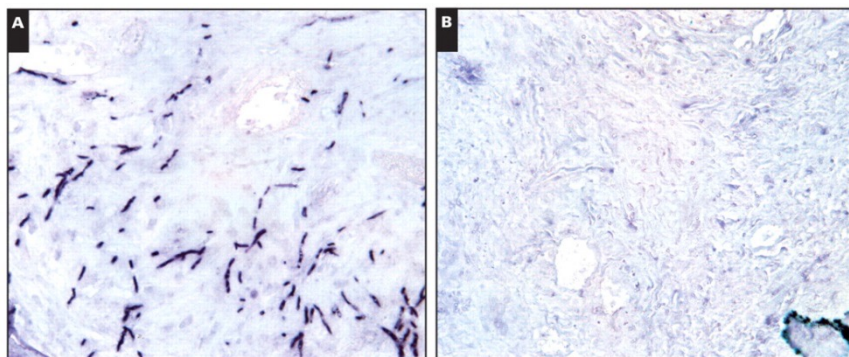
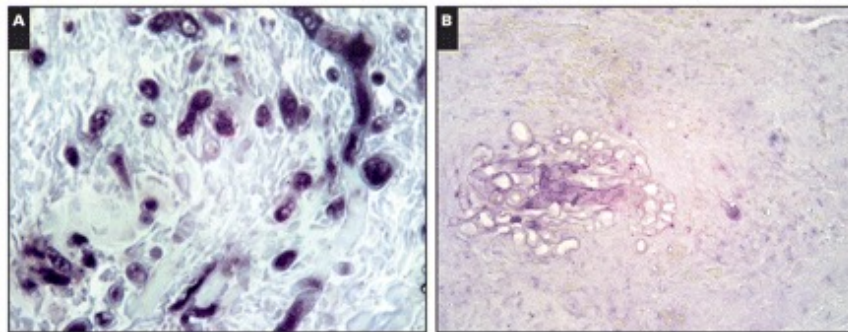


## *In situ* hibridizasyon



Zygomycetes için pozitif histopatolojik preparat (H/E;A,X100 ; B,X50)  
(Kültür, *Rhizopus* sp.)

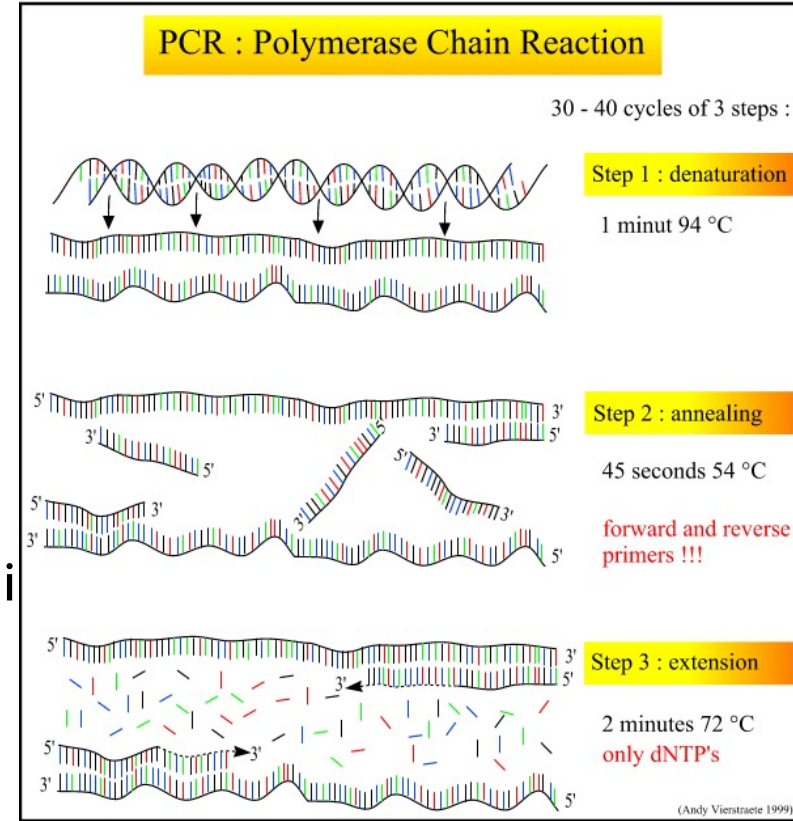
Pan fungal prob ile *in situ* hibridizasyon;  
A, pozitif; B, negatif (kültür; *Rhizopus* sp.)



*Aspergillus* sp. için *in situ* hibridizasyon;  
A, pozitif; B, negatif (kültür,  
*A.fumigatus*)

# PCR (Polymerase chain reaction)

- ▶ Klinik örnekte az sayıda DNA'yı çoğaltma
  - ▶ Kan
  - ▶ Serum
  - ▶ Balgam
  - ▶ Lavaj
  - ▶ Doku
  - ▶ .....
- ▶ Duyarlılık daha yüksek (fungal yükün önemi az)
- ▶ Daha hızlı ve erken tanı!





# Moleküler yöntemler

## Yanıtlanması gereken sorular

- ▶ Bu testler için uygun örnek, miktar?
- ▶ Örnekleme sıklığı?
- ▶ Hangi DNA hedefi?
- ▶ DNA ekstraksiyonunda en uygun yöntem?
- ▶ Rutin kullanım için hangi amplifikasyon ve saptama yöntemi?
- ▶ Yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların en aza indirilmesi için önlemler?



# STANDARDİZASYON

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



WORKING GROUP  
EUROPEAN ASPERGILLUS PCR INITIATIVE

**EAPCRI**

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



Sistem	Yöntem	Kullanım	Sorun
AccuProbe Coccidioides, Blastomyces, Histoplazma Id Test (Hologic)	Kemiluminesan işaretli DNA prob	-Dimorfik mantarların hızlı identifikasyonu -Duyarlılık/özgüllük > %98/99	-Kültürde üreme gerekli -Diğer mantarlarla yalancı pozitif reaks
Yeast Traffic Light and Quick FISH (AdvanDx)	PNA-FISH	-Pozitif kan kültüründen hızlı id -Duyarlılık/özgüllük > %92/95	-Pozitif kan kültürü gerekli -Floresan mikroskop gerekli -Sınırlı <i>Candida</i> türü
BioFire Film Array (bioMerieux)	Nested multiplex PCR	-Kan kültürü paneli, <i>Candida</i> -Duyarlılık/özgüllük > %96/99 -Menenjit ensefalit paneli, <i>Cryptococcus</i>	-Pozitif kan kültürü gerekli -Sınırlı <i>Candida</i> türü -Yüksek maliyet
T2Candida (T2Biosystems)	PCR ve nükleer manyetik rezonans	-Kandan direkt tanı -Hızlı sonuç -Duyarlılık/özgüllük > %91/99	-Sınırlı <i>Candida</i> türü -Yüksek maliyet
SeptiFast LightCycler (Roche)	Real-time PCR	-5 <i>Candida</i> türü ve <i>A.fumigatus</i> -Yüksek duyarlılık	-Sınırlı <i>Candida</i> türü -Klinik kullanım??
AsperGenius (PathoNostics)	Multiplex real-time PCR	-BAL örneğinden direkt <i>Aspergillus</i> PCR -CYP51A gen mutasyonu -Duyarlılık/özgüllük > %88/78	-Sınırlı <i>Aspergillus</i> türü -Klinik kullanım??
MycAssay Aspergillus (Myconostica)	Real-time PCR	-Serum ya da BAL örneğinden 18 farklı <i>Aspergillus</i> türünün direk tespiti -Duyarlılık/özgüllük; %70/90	-Klinik kullanım??
MycAssay Pneumocystis (Myconostica)	Real-time PCR	-BAL örneğinden direkt tespit -Duyarlılık/özgüllük; %94/100	-Klinik kullanım??



## Moleküler yöntemler

---

### T2 *Candida* Magnetic Resonance Assay

- ▶ FDA onaylı ilk fungal PCR testi
- ▶ İnvaziv *Candida* enfeksiyonu tanısında PCR ile manyetik rezonans
- ▶ Tam kan örneği
- ▶ 5 *Candida* türü; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*
- ▶ Sonuç süresi; ~5 saat



**TABLE 1** | List of commercially available PCR-based assays for detection of *Aspergillus* spp. and CYP51A resistance mutations in *A. fumigatus*.

Product	Manufacturer	Method	PCR target,* species, and resistance mutations detected
Affigene <i>Aspergillus</i> tracer	Cepheid, Rolling Meadows, IL, United States	Real-time PCR	Target unknown <i>Aspergillus</i> spp.
<i>A. fumigatus</i> Bio-Evolution	Bio-Evolution, Bry-sur-Marne, France	Real-time PCR	ITS1 region <i>A. fumigatus</i>
artus® <i>Aspergillus</i> diff. RG PCR	Qiagen, Düsseldorf, Germany	Multiplex real-time PCR	Target unknown <i>A. fumigatus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. flavus</i>
AsperGenius® Species and AsperGenius® Resistance	PathoNostics B.V., Maastricht, Netherlands	Multiplex real-time PCR	28S rDNA <i>A. fumigatus</i> complex, <i>A. terreus</i> , <i>Aspergillus</i> spp. TR <sub>34</sub> /L98H and TR <sub>46</sub> /Y121F/T289A mutations
<i>Aspergillus</i> spp. ELITe MGB® Kit	ELITechGroup S.p.A, Turin, Italy	Quantitative real-time PCR	18S rDNA <i>Aspergillus</i> spp. ( <i>A. niger</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. glaucus</i> )
AspiD	OlmDiagnostics, Newcastle, United Kingdom	Multiplex real-time PCR	Target unknown <i>Aspergillus</i> spp., <i>A. terreus</i>
FungiPlex® <i>Aspergillus</i> and Fungiplex® <i>Aspergillus</i> Azole_R	Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany	Multiplex real-time PCR	Target unknown <i>Aspergillus</i> spp. ( <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> ), <i>A. terreus</i> TR <sub>34</sub> and TR <sub>46</sub> mutations
LightCycler Septifast	Roche Diagnostics, Mannheim, Germany	Multiplex real-time PCR	ITS region <i>A. fumigatus</i> (and <i>Candida</i> spp.)
Magicplex Sepsis Real-Time Test	Seegne, Seoul, South Korea	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown <i>A. fumigatus</i> (and <i>Candida</i> spp.)
Mycoreal <i>Aspergillus</i>	Ingenetix GmbH, Vienna, Austria	Real-time PCR with melt curve analysis	ITS2 region <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i>
MycogenIE® <i>Aspergillus</i> Species and MycoGENIE® <i>Aspergillus fumigatus</i> and resistance TR <sub>34</sub> /L98H	Ademtech, Pessac, France	Duplex real-time PCR assay	28S rDNA <i>Aspergillus</i> spp., <i>A. fumigatus</i> TR <sub>34</sub> /L98H mutations



**TABLE 2** | List of commercially available PCR-based assays for detection of *Candida* spp.

Product	Manufacturer	Method	PCR TARGET* and species detected
AusDiagnostics Sepsis panel	AusDiagnostics Pty Ltd., Mascot, NSW, Australia	Multiplex tandem PCR	ITS1 or ITS2 regions <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i>
CandID <sup>®</sup> and AurisID <sup>®</sup>	OlmDiagnostics, Newcastle, United Kingdom	Multiplex real-time PCR	Target unknown <i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i> <i>Candida auris</i>
FilmArray Blood Culture Identification (BCID) Panel <sup>1</sup>	BioFire Diagnostics, Salt Lake city, Utah, United States	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i>
FungiPlex <sup>®</sup> Candida and FungiPlex <sup>®</sup> Candida auris	Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown <i>Candida</i> spp. ( <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. tropicalis</i> ), <i>C. glabrata</i> , and <i>C. krusei</i> <i>Candida auris</i>
Magicplex Sepsis Real-Time Test	Seegne, Seoul, South Korea	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i> (and <i>A. fumigatus</i> )
Mycoreal Candida	Ingenetix, Vienna, Austria	Real-time PCR with melt curve analysis	ITS2 region <i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitanae</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i>
SeptiFast Real-Time PCR	Roche Diagnostics, Mannheim, Germany	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown* <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i>
SepsiTest-UMD	Molzym Molecular Diagnostics, Bremen, Germany	PCR and Sanger sequencing	18S rDNA All fungal species
T2Candida	T2 Biosystems, Lexington, MA, United States	T2 magnetic resonance	ITS2 region <i>C. albicans</i> / <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i> complex/ <i>C. krusei</i> , and <i>C. parapsilosis</i> complex
Sepsis Flow Chip	Master Diagnostica, Granada, Spain	Multiplex PCR with automated reverse dot blot hybridization	Target unknown* <i>C. albicans</i> , <i>Candida</i> spp.



**TABLE 3** | List of commercially available PCR-based assays for detection of *Mucorales* and *Pneumocystis jirovecii*.

Product	Manufacturer	Method	PCR target,* species, and resistance mutations detected
MucorGenius <sup>®</sup>	PathoNostics B.V., Maastricht, Netherlands	Multiplex real-time PCR	Target unknown Pan-Mucorales, <i>Rhizopus</i> spp., <i>Mucor</i> spp., <i>Lichtheimia</i> spp., <i>Cunninghamella</i> spp., and <i>Rhizomucor</i> spp.
AmpliSens <i>Pneumocystis jirovecii</i> (carini)-FRT	AmpliSens, Bratislava, Slovak Republic	Real-time PCR	Target unknown <i>Pneumocystis jirovecii</i>
AusDiagnostics Pneumonia and Atypical Pneumonia panels	AusDiagnostics Pty Ltd., Mascot, NSW, Australia	Multiplex tandem PCR	Targets unknown <i>Pneumocystis jirovecii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> species complex, and <i>Aspergillus fumigatus</i> complex
PneumoGenius	PathoNostics B.V., Maastricht, Netherlands	Multiplex real-time PCR	Mitochondrial ribosomal large subunit (rLSU) and two dihydropteroate synthase (DHPS) <i>fas</i> gene mutations <i>Pneumocystis jirovecii</i> and point mutations: 165 (Thr55Ala) and 171 (Pro57Ser)
<i>Pneumocystis jirovecii</i> Bio-Evolution	Bio-Evolution, Bry-sur-Marne, France	Real-time PCR	Target unknown <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PneumoID <sup>®</sup>	OlmDiagnostics, Newcastle, United Kingdom	Multiplex real-time PCR	Target unknown <i>Pneumocystis jirovecii</i>
Real Star <i>Pneumocystis jirovecii</i> PCR kit 1.0	Altona Diagnostics, Hamburg, Germany	Real-time PCR assay	Target unknown <i>Pneumocystis jirovecii</i>



## Sonuç

---

- ▶ IFI tanısında mikroskopik inceleme ve kültür hala altın standart
  - ▶ Duyarlılık ve özgüllük düşük
  - ▶ Geç sonuç
- ▶ İmmunolojik testler tanıya yardımcı
  - ▶ Daha erken dönemde ve daha yüksek performanslı sonuç sağlar
- ▶ Moleküler testler ümit vadediyor
  - ▶ Önemli sorun standardizasyon; önemli gelişmeler mevcut
- ▶ Bu testlerin kombine kullanımı tanı performansını arttırabilir

