

# Yoğun Bakım Hastalarında İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar

Risk faktörleri nedir? Hızlı tanı mümkün mü?

**Prof. Dr. Murat DİZBAY**

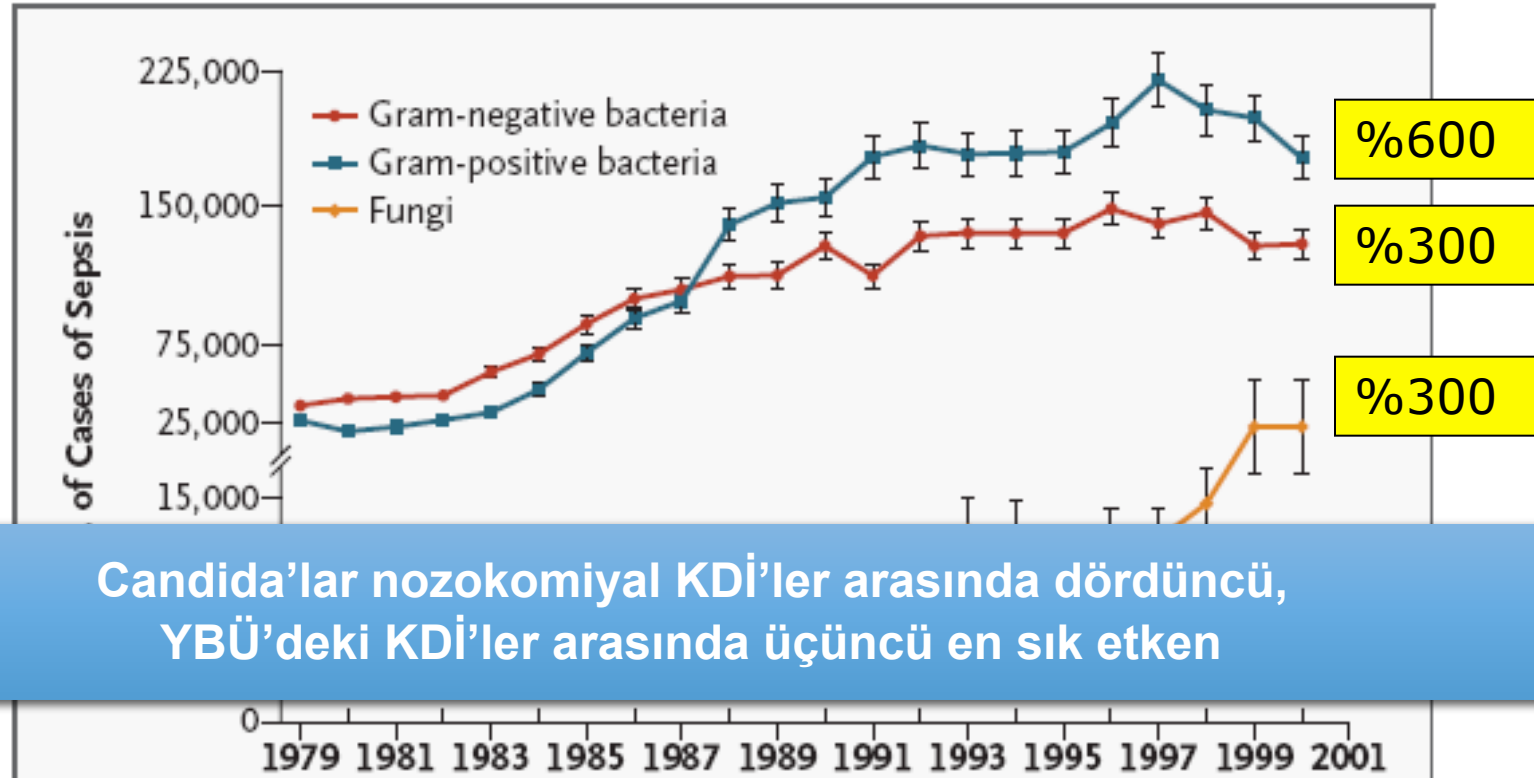
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

- İnvazif fungal infeksiyonlar, immunsuprese hastalarda (transplantasyon, hematolojik malignite, HIV, vb) önemli bir komplikasyon olarak bilinmekte
- Son yıllarda ise YBÜ'lerde ciddi bir nozokomiyal tehdit olarak ortaya çıkmıştır.

- CDC verilerine göre YBÜ hastalarında invazif kandidiyazda 1980'lerden bu yana 10 kat artış
- Kandidemilerin yarısından fazlası YBÜ'lerde ve mortalitesi diğer ünitelerde gelişen kandidemilerden 2 kat daha fazla
- YBÜ'de daha uzun yatış, pahalı antifungal tedaviler nedeniyle İFİ'nin maliyeti çok yüksek

# Kandidemi olgularındaki artış



Candida'lar nozokomiyal KDi'ler arasında dördüncü, YBÜ'deki KDi'ler arasında üçüncü en sık etken

**Figure 3.** Numbers of Cases of Sepsis in the United States, According to the Causative Organism, 1979–2000.

Points represent the number of cases for the given year, and I bars the standard error.

# YBÜ'de Kandidemi insidansı

- 75 ülkeden 1265 YBÜ'nün katıldığı EPIC II çalışmasında nozokomiyal etkenlerin %17'si *Candida* spp.ye bağlı
- Bu çalışmanın verileri kullanılarak KDI'lerin incelendiği başka bir çalışmada ise
  - *Candida* spp. olguların %12.6'sında etken olarak izole edilmiştir
  - Kandidemi prevalansı ise 1000 YBÜ hastasında 6.87 olarak bildirilmiştir

Vincent JL, JAMA 2009

Kett DH, Crit Care Med 2011

# Amerika Birleşik Devletleri, NHSN, Kan dolaşımı infeksiyonları 2009-2010

National Healthcare Safety Network, by Type of HAI, 2009–2010

Pathogen	Overall		Rank	Rank
	No. (%) of pathogens	Rank		
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,635 (15.6)	1		
<i>Escherichia coli</i>	9,351 (11.5)	2		
Coagulase-negative staphylococci	9,261 (11.4)	3		
<i>Klebsiella (pneumoniae/oxytoca)</i>	6,470 (8.0)	4	2,118 (7.9)	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,111 (7.5)	5	1,166 (3.8)	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,484 (6.8)	6	2,680 (8.8)	3
<i>Candida albicans</i>	4,275 (5.3)	7	1,974 (6.5)	7
<i>Enterobacter</i> spp.	3,821 (4.7)	8	1,365 (4.5)	8
Other <i>Candida</i> spp. or NOS	3,408 (4.2)	9	2,465 (8.1)	4
<i>Enterococcus faecium</i>	3,314 (4.1)	10	2,118 (7.0)	6
<i>Enterococcus</i> spp.	2,409 (3.0)	11	703 (2.3)	12
<i>Proteus</i> spp.	2,031 (2.5)	12	232 (0.8)	...
<i>Serratia</i> spp.	1,737 (2.1)	13	762 (2.5)	11
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,490 (1.8)	14	629 (2.1)	13
Other*	9,304 (11.5)	...	2,762 (9.1)	...
Total	81,139 (100)		30,454 (100)	

Candida spp toplamda  
%14.6 ile KDi etkenleri  
arasında 2. sırada



Original Article

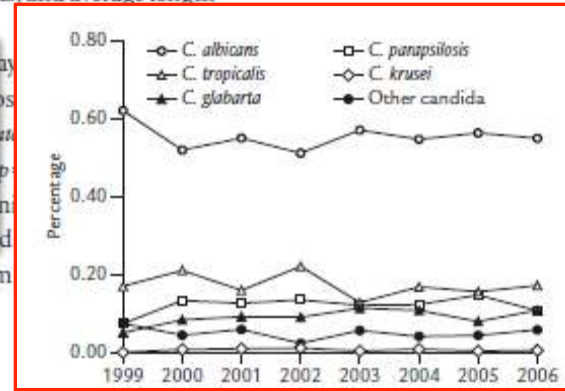
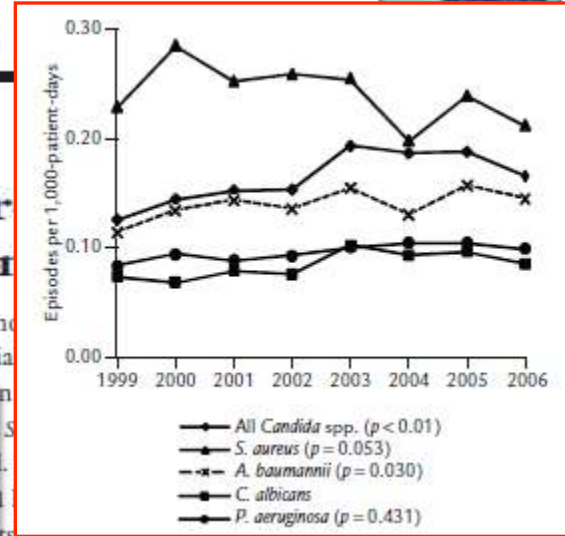
# Changing Epidemiology of Nosocomial Bloodstream Infections in 11 Teaching Hospitals in Taiwan Between 1993 and 2006

In order to understand the changing epidemiology of nosocomial bloodstream infections (BSI) in Taiwan, we retrospectively collected data from 11 hospitals and examined the trends and changing patterns of nosocomial

Son 13 yılda *S. aureus*'a bağlı bakteremi insidansında azalma var

*Candida* ( $p < 0.01$ ) ve *A. baumannii* ( $p = 0.03$ )'ye bağlı KDI'lerde ise anlamlı bir artış var . *Candida* spp %10 ile en sık izole edilen 3. patojen

*Candida parapsilosis* and *Candida glabrata*. However, the incidence varied significantly from hospital to hospital and the highest incidence was observed in a cancer center.



Kan kültürlerindeki duyarlılığın az olması ve tanı yöntemlerinin yetersiz oluğu nedeniyle gerçek insidans daha fazla

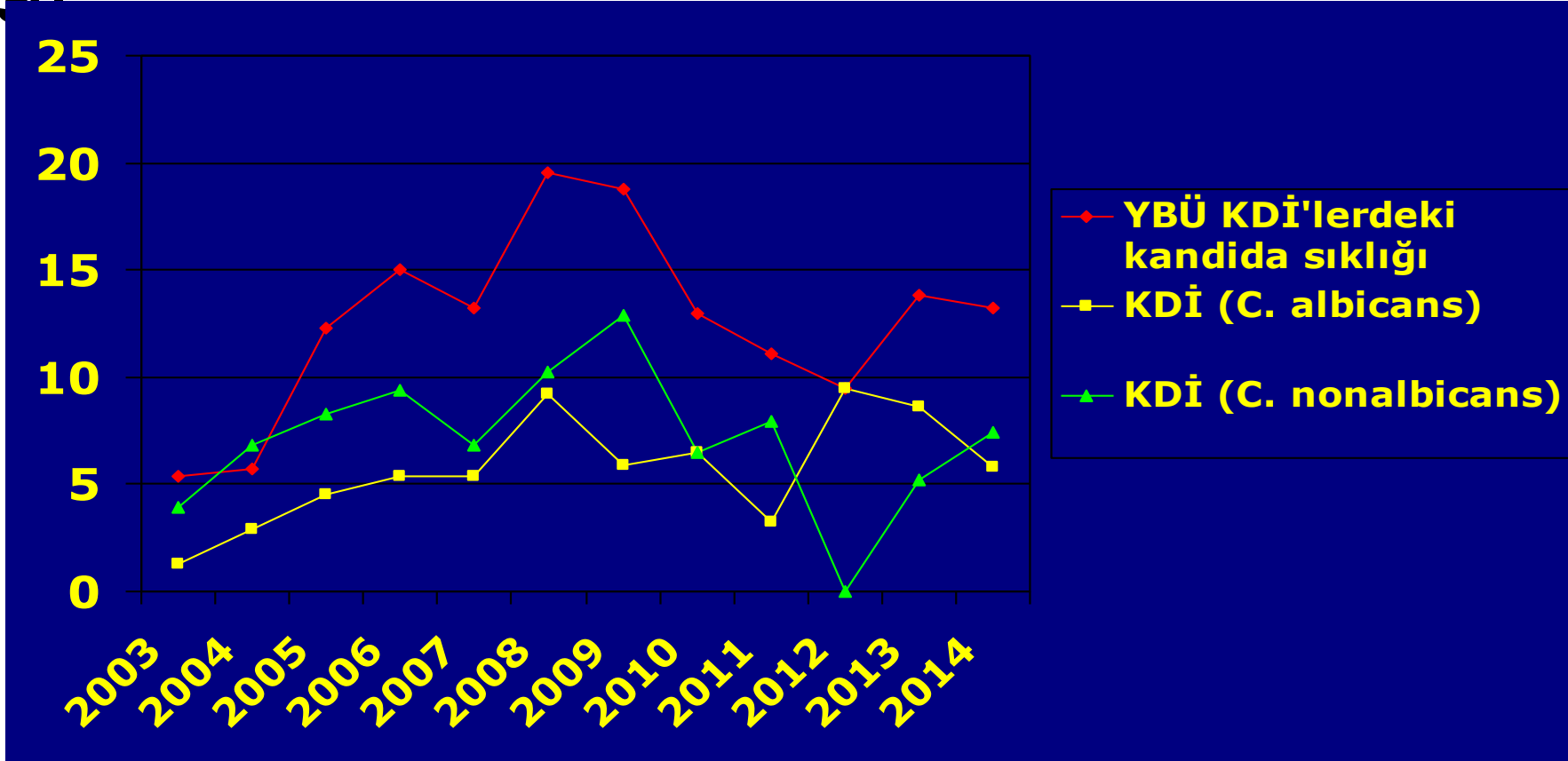


# Epidemiyolojik veriler - Türkiye

Tür	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>C. albicans</i>	58	46	19	30	37	25	45	48
<i>C. tropicalis</i>	20	24	13	32*	12	-	7	10
<i>C. parapsilosis</i>	13	15	66	18*	32	75	26	32
<i>C. glabrata</i>	4	4	3	14*	5	-	4	2
<i>C. krusei</i>	1	3	-	14*	1	-	7	-
<i>C. kefyr</i>	-	-	-	-	3	-	-	1
<i>C. guilliermondii</i>	4	-	-	-	4	-	-	-

1 Yapar N. Mycoses 2006  
2 Yapar N, Med Mycol 2011  
3 Horasan EŞ. Mycopathol 2010  
4 Erdem İ. Med Prin Pract 2010  
5. Bakır M, APMIS 2006  
6 Dizbay M. Scand J Infect Dis 2010  
7 Gürcüoğlu E. Epidemiol Infect 2010  
8 Saraçlı MA. Mil Med 2009

# GÜTF yoğun bakım ünitelerinde kandidemi sıklığı



Kandidemilerin %65'i YBÜ'lerde gelişmiştir.

YBÜ'lerde gelişen KDİ'lerin %16'sı *Candida* spp. ye bağlı gelişirken, diğer riskli ünitelerdeki KDİ'lerin %8'i *Candida* spp. ile gelişmiştir.

# Kandidemi olgularına yaklaşım

**REACTIVE**

**PROACTIVE**

# Reaktif yaklaşım

- Kan kültüründe üreme olduktan sonra tedavinin planlanması
- Geri ödeme kurumlarının yaklaşımı
- Bir çok olguda tedavide gecikme



# OLGU 1

---



- 25 y, bayan
- Kronik KC Yetmezliği ve Wilson tanısı mevcut
- GİS Kanaması ve akut böbrek hasarı nedeniyle YBÜ'ye alınıyor.
- Üç invaziv alet: ETT, SVK, ÜK
- Önceden antibiyotik tedavisi almamış
- Santral TPN kullanımını mevcut
- 3. gün weaning denemelerini tolere edemeyen hastanın solunumunda kötüleşme, ateş, BK artışı
- Odak akciđerler gibi görünüyor
- PCT düzeyi 0.890→2.4 ng/mL

# OLGU 1

---



- Tedavi, sefoperazon/sulbaktam ve kolistin olarak başlanıyor – Acinetobacter ?
- Birkaç gün stabil seyreden hastanın 7. gün hipotansiyonu gelişiyor.
- Hastanın alınan SVK kültüründe sinyal var. Gram boyamada kandida morfolojisinde maya görüldüğü belirtiliyor
- INR'si uzun olan hastada santral venöz kateterin korunması isteniyor
- Antifungal tedavi (ekinokandin) başlanıyor ancak hasta ertesi gün exitus

# İnvaziv kandida infeksiyonlarında tanı zorluğu

- Yanlış / eksik tanı YBÜ'lerde sık
- Spesifik klinik bulgular ve duyarlı testler yok
- “Kanıtlanmış”, “Yüksek olası” ve “olası” IFI tanımları immün yetmezlikliler için geçerli
- Bu tanımlar nötroopenik olmayan YBÜ hastalarına uygulanamaz
- *Candida* spp.nin izolasyonunun klinik anlamı tartışmalı
  - Endotrakeal aspirat, BAL,
  - İdrar, yara, intraabdominal
- Kolonizasyon – İnfeksiyon?

- *Candida*'nın kan kültüründe üreme süresi mortaliteye katkıda bulunan önemli bir faktör.

- *C. glabrata* ortalama 80 saatte, *C. albicans* ise 35 saatte ürüyor.
  - Tedavinin geç başlanması yüksek mortalite ile ilişkili

*Morrell, AAC 2005*

- Kan kültürünün duyarlılığı *Candida* spp için %50-75 arasında

*Cuenca-Estrella, CMI 2012*

- Kandidemi nedeniyle ölen hastaların %41.2'sinde kan kültüründe üreme hasta öldükten sonra saptandı

*Dizbay M. Scand J Infect Dis 2009*



# Kan kültüründe üreme süresi

- Mevcut ticari kan kültür şişelerine ve
- *Candida* türüne göre üreme süresi farklılık gösterebilmekte (en a 5 gün inkübe edilmeli). Anaerobik şişelerde daha iyi üreme

	BACTEC 9240		BacT/ALERT 3D	
	Aerobic	Mycology	Aerobic	Mycology
<i>C. albicans</i>	23.52 ± 2.64	21.26 ± 2.42	23.92 ± 2.26	20.58 ± 1.56
<i>C. glabrata</i>	106.00 ± 18.99	21.36 ± 2.56	51.82 ± 9.93	26.78 ± 2.88
<i>C. krusei</i>	17.70 ± 0.68	17.97 ± 1.00	20.10 ± 0.65	24.23 ± 2.16
<i>C. parapsilosis</i>	30.21 ± 2.68	24.61 ± 1.74	31.14 ± 4.09	26.79 ± 2.92
<i>C. tropicalis</i>	17.04 ± 1.85	20.54 ± 5.20	18.15 ± 1.80	22.76 ± 2.94
All isolates	33.40 ± 29.99	21.15 ± 3.55	29.03 ± 13.25	24.23 ± 3.43

Horwath LL. J Clin Microbiol 2004

- Üreme süresi *Candida* türünün patojenitesi ve mortalite olasılığı ile direk olarak ilişkili

Pang SM. Int J Biol Life Sci 2012

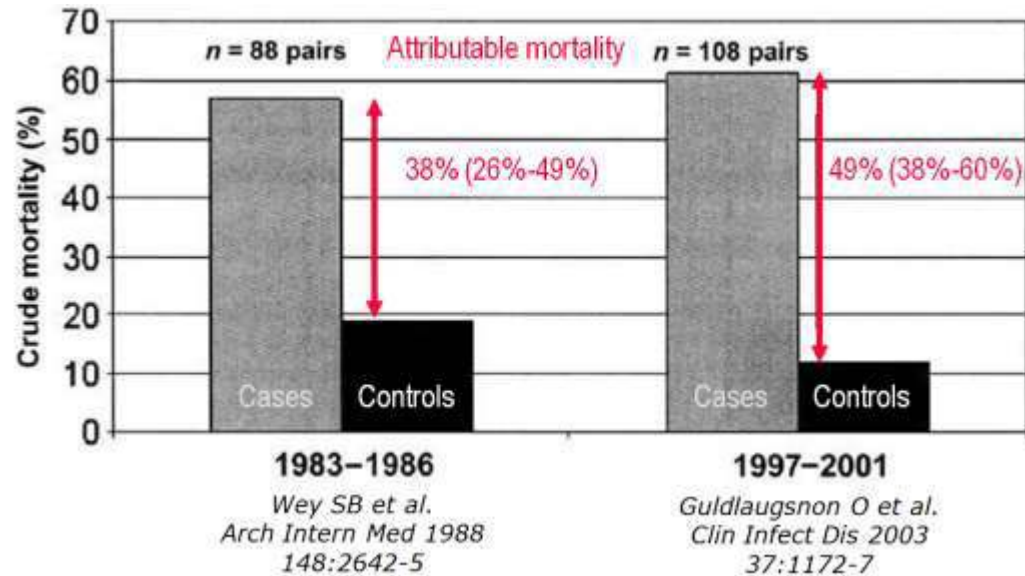
# Kandidemiye bağlı mortalite

Kaba mortalite

**30% to 60%**

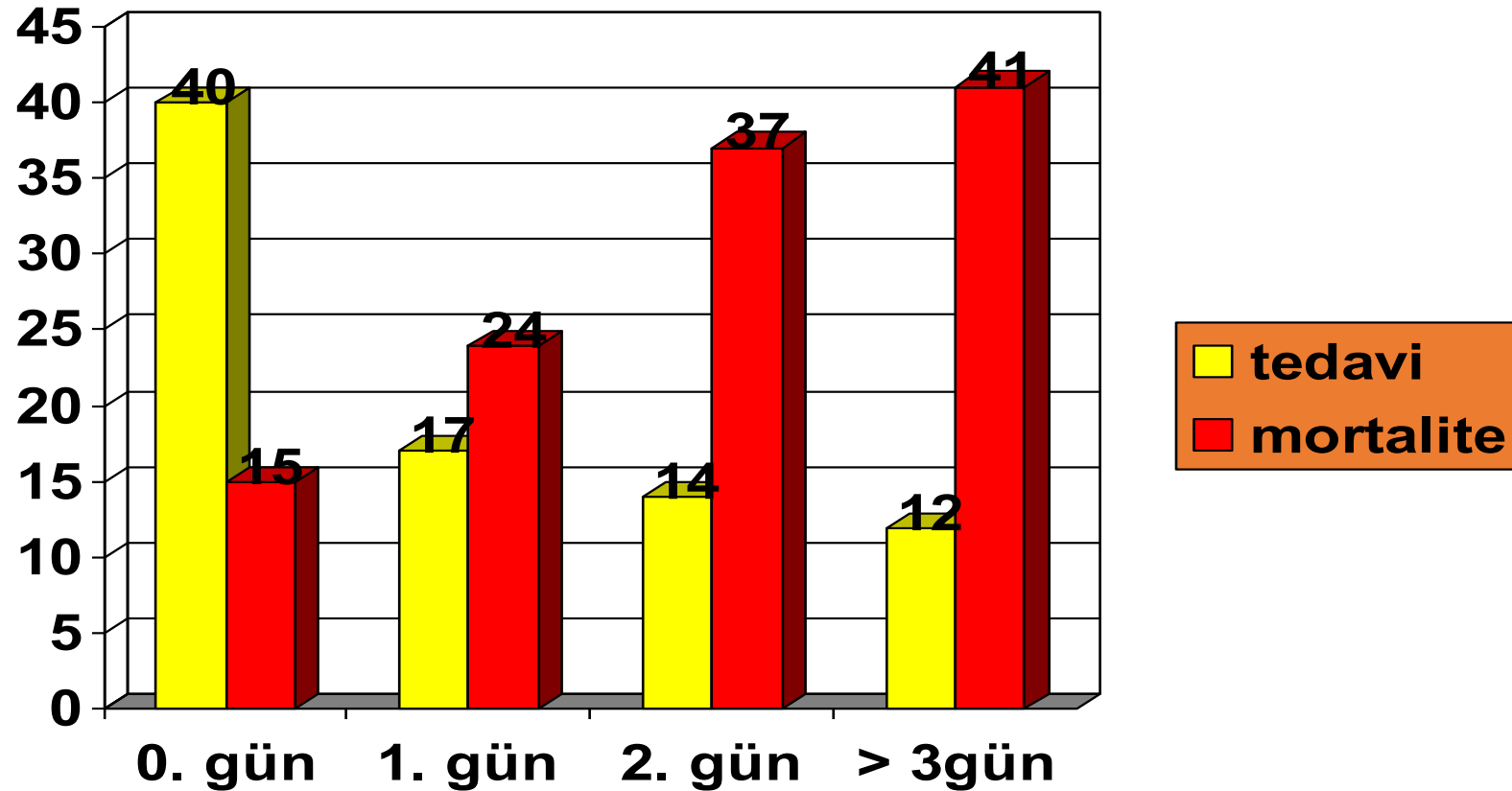
Atfedilen mortalite

**25% to 40%**



# Time to Initiation of Fluconazole Therapy Impacts Mortality in Patients with Candidemia: A Multi-Institutional Study

Kevin W. Garey,<sup>1</sup> Milind Rege,<sup>1</sup> Manjunath P. Pai,<sup>2</sup> Dana E. Mingo,<sup>3</sup> Katie J. Suda,<sup>4</sup> Robin S. Turpin,<sup>5</sup> and David T. Bearden<sup>6</sup>



# Proaktif yaklaşım

- Kandidemi için yüksek riskli hastaları saptayıp tedavinin erkenden başlanması

- Hayat kurtarıcı



## OLGU 2

---



- 75 y, erkek
- 10 gündür pnömoni tanısı ile YBÜ'de:  
Piperasilin/tazobaktam-Ciprofloksasin →  
Meropenem-Ciprofloksasin
- DM; KAH; KBY; diyalize giriyor
- Nöbet geçirme → Antiepileptik
- KCFT'de 2 kat yükseklik var
- Üç invaziv alet: ETT, SVK, ÜK

## OLGU 2

---



- Antibiyotik tedavisinin 7. gününde MV'den ayırmak için weaning denenmeye başlanıyor
- Ancak hasta weaningsi tolere edemiyor
- Yaklaşık 3 gün weaning denemelerine devam ediliyor, başarılı olunamıyor
- Tedavisinin 10 gününde beyaz kürede artış ve 38.2 °C ateş tespit ediliyor.
- PCT düzeyi 0.60→1.25 ng/mL
- Aynı gece hasta, hipotansif oluyor
- Sıvı tedavisine cevap vermeyen hastaya Noradrenalin başlanıyor

## OLGU 2

---



- Odak taraması:
  - Solunum sekresyonunda artış yok
  - TİT: 10-15 lökosit, maya hücreleri pozitif
  - SVK alanı temiz
  - Abdominal USG'si normal
- Kan, kateter, idrar ve ETA kültürleri gönderiliyor
- ETA yayması: 10-15 PMNL, maya hücreleri
- İdrar kültürü: 10.000 koloni Candida
- Antifungal tedavi başlanıyor

# iFi'de Tanı



Klinik şüphelenme / anamnez / FM



Direk mikroskopik / Histopatolojik inceleme



Kültür



Serolojik yöntemler

- Özgül antijen / antikor belirleme



Moleküler yöntemler (PCR)



Radyoloji – invazif kandidiyaz



# Klinik değerlendirme



# Kandidemi - Klinik bulgular

- Kliniđi sinsidir
- Uygun antibiyotik tedavisine rađmen ateđi dűşmeyen, SVK/TPN uygulanan hastalar, torakoabdominal cerrahi uygulananlarda akla gelmeli
- Cilt ve göz dibi incelemesi önemli
- Görüntüleme



## Skin, eye and heart involvement in candidemic patients

<sup>1</sup>M. Dizbay, <sup>1</sup>Ö. Kardeşahin, <sup>2</sup>İ.İ. Balkan, <sup>3</sup>G.R. Yılmaz, <sup>3</sup>T. Güven, <sup>4</sup>F. Yılmaz Karadağ, <sup>5</sup>Ş. Köse, <sup>2</sup>M. Yemişen, <sup>5</sup>M. Türken, <sup>6</sup>H.S. Özger

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, <sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, <sup>3</sup>Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, <sup>4</sup>İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, <sup>5</sup>İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, <sup>6</sup>Gaziantep Dr. Ersin Arslan Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları, Gaziantep

- 5 merkez, 81 kandidemi olgusu
- 17 olguda (%21) cilt tutulumu – nodüler, püstüler, peteşiyel
- Oftalmolojik inceleme olguların %38’inde gerçekleştirildi ve bunların %71’inde göz tutulumu var. Göz tutulumu olan hastaların hepsi öldü.
- EKO olguların %85’inde gerçekleştirildi ve 4 olguda (%6) endokardit mevcut.
- Kateter varlığı herhangi bir organ tutulumu ile ilişkili. Kateterin erken çekilmesi mortaliteyi anlamlı derecede azaltıyor.

# İFi'de Tanı

- Kültür

- Kan, BOS, plevra, periton, derin doku ve diğer steril örneklerden etkenin izolasyonu → İFi
- Diğer klinik örneklerden (ETA, BAL, yara, idrar) ise tartışmalı
- Kolonizasyon – İnfeksiyon ?

## Serolojik yöntemler

- Erken tanı ve preemtif tedavinin yönlendirilmesinde, gereksiz antifungal tedavinin önlenmesinde faydalı

- En yaygın kullanılanlar

- **Beta-1-3-D-Gluk**

- **M-antijen antikorları**

• **Aspergillus** türü antikorları (CAGTA)

Enolaz, arabinitol, D-mannitol

Serolojik yöntemlerin rutinde yaygın kullanımları yok

# Beta-D-Glukan

- Panfungal test: Bir çok mantar türünün hücre duvarında bulunan bir komponent (*Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *P. jirovecii*)
- Dört farklı kit mevcut ve cutoff değerleri farklı
  - Fungitell 60-80 pg/ml
  - Fungitec-G 20 pg/ml
  - Wako ve Marhua 11 pg/ml

# Beta-D-Glukan

- İnvaziv aspergilloz ve kandidozu saptamadaki performansı benzer
- Yüksek riskli hematolojik hastalarda (Akut lösemi – uzamış nötropeni, allojeneik KHN) kullanımındaki veriler kohort veya vaka-kontrol çalışmalarına dayandığından kanıt düzeyi BII olarak bildirilmiş
- Bu nedenle klinik, mikrobiyolojik ve radyolojik bulgularla birlikte değerlendirilmesi önerilmekte
- Optimal cut-off değerleri ve testi pozitif olarak tanımlamak için gerekli örnek sayısı konusunda yeterli veri yok

# Beta-D-Glukan

## • Yanlış negatiflik

- Devam eden antifungal profilaksi veya tedavi
- Zigomikoz / kriptokok gibi mantar infeksiyonları
- Non/semi invaziv fungal infeksiyon

## • Yanlış pozitiflik

- Kan/kan ürünleri transfüzyonu
- Hemodiyaliz
- Beta-laktam antibiyotik
- İmmunglobulinler
- Sellüloz kapama
- Örnek alma sırasında organik maddelerle kontaminasyon



## **Prospective study in critically ill non-neutropenic patients: diagnostic potential of (1,3)- $\beta$ -D-glucan assay and circulating galactomannan for the diagnosis of invasive fungal disease**

J. Acosta • M. Catalan • A. del Palacio-Pérez-Medel • J.-C. Montejo •

- Nötropenik olmayan YBÜ hastaları
- Beta-D-glukan testi (cut-off 80 pg/ml) invaziv kandida infeksiyonlarında kültürden 3.25 gün, invaziv aspergillozda ise 5.65 gün önce pozitifleşiyor
- BG'nin invaziv kandidoz için NPV değeri %94.5

# Performance of *Candida* Real-time Polymerase Chain Reaction, $\beta$ -D-Glucan Assay, and Blood Cultures in the Diagnosis of Invasive Candidiasis

M. Hong Nguyen,<sup>1</sup> Mark C. Wissel,<sup>2</sup> Ryan K. Shields,<sup>1</sup> Martin A. Salomoni,<sup>2</sup> Binghua Hao,<sup>1</sup> Ellen G. Press,<sup>1</sup>

- 55 İK hastası (17 kandidemi, 38 derin yerleşimli kandidoz – intraabdominal). Kontrol grubu olarak 48 kandida ile kolonize hasta alınmış
- PCR, BG ve kan kültürü karşılaştırılmış
- İntraabdominal kandidozda kan kültürünün negatif olduğu durumlarda PCR ve daha az olmak üzere BG testi faydalı olarak saptanmış
- Kan kültürlerinin PCR veya BG ile kombine kullanımının invaziv kandidoz tanısında duyarlılığı %98, özgüllüğü %79

## Clinical Performance of the (1,3)- $\beta$ -D-Glucan Assay in Early Diagnosis of Nosocomial *Candida* Bloodstream Infections<sup>∇</sup>

Valerio Del Bono,<sup>1\*</sup> Emanuele Delfino,<sup>1</sup> Elisa Furfaro,<sup>1</sup> Malgorzata Mikulska,<sup>1</sup> Elena Nicco,<sup>1</sup> Paolo Bruzzi,<sup>2</sup> Alessandra Mularoni,<sup>3</sup> Matteo Bassetti,<sup>4</sup> and Claudio Viscoli<sup>1</sup>

- 152 hasta (53 kandidemi, 47 olası kandidemi, 52 kandidemi olmayan hasta)
- BG testinin duyarlılığı %77, özgüllüğü %83
- cut-off değeri olarak >160 pg/ml alındığında PPV değeri %98.4, özgüllüğü %98
- Test sonuçlarının klinik verilerle birlikte değerlendirilmesi önerilmekte

# Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1→3)- $\beta$ -D-glucan assay, *Candida* score, and colonization index

**Table 3 Performances of (1→3)- $\beta$ -D-glucan assay (BG), *Candida* score (CS), and colonization index for detection of invasive candidiasis in 95 patients**

	Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)	PPV (%) (95% CI)	NPV (%) (95% CI)	PLR (%) (95% CI)	NLR (%) (95% CI)
BG cut-off value, 80 pg/mL	92.9 (66.1 to 99.8)	93.7 (85.8 to 97.9)	72.2 (46.5 to 90.3)	98.7 (92.8 to 99.9)	14.74 (4.65 to 47.52)	0.07 (0.02 to 0.39)
CS $\geq 3$	85.7 (57.2 to 98.2)	88.6 (79.5 to 94.7)	57.1 (34.0 to 78.2)	97.2 (90.3 to 99.7)	7.51 (2.79 to 18.29)	0.16 (0.02 to 0.54)
Colonization index $\geq 0.5$	64.3 (35.1 to 87.2)	69.6 (58.2 to 79.5)	27.3 (13.3 to 45.5)	91.7 (81.6 to 97.2)	2.12 (0.84 to 4.25)	0.51 (0.16 to 1.11)

- *Candida* sepsisinde BG erken tanıda faydalı. Septik sendromun başlangıcında bile ölçülebilir
- BG'nin NPV'si yüksek (%99)
- Kanıtlı İK olgularında 24-72 saat önce pozitif sonuç
- BG ve *Candida* skorunun birlikte kullanımı YBÜ hastalarında *Candida* sepsisi tanısını artırıyor.

# ESCMID\* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures

M. Cuenca-Estrella<sup>1†</sup>, P. E. Verweij<sup>2†</sup>, M. C. Arendrup<sup>3†</sup>, S. Arikian-Akdagli<sup>4†</sup>, J. Bille<sup>5†</sup>, J. P. Donnelly<sup>2†</sup>, H. E. Jensen<sup>6†</sup>,

- Erişkinlerde BG testini kandideminin dışlanması için önermekte
- Haftada iki kez seri ölçüm önerilmekte
- Çocuklarda valide edilmemiştir

# Mannan ve anti-mannan antikorları

- *Candida*'ya özgül. Hücre duvarının polisakkarit komponenti.
- BG'dan daha immünojenik
- Kombine testler mevcut: Platelia, Ab Plus
- Çeşitli çalışmalarda duyarlılığı %80, özgüllüğü %85 civarında bulunmuştur.
- Seri ölçümler gerekebilir

# Mannan ve anti-mannan antikorları

- Test kan kültürlerinden ortalama 6 gün önce pozitifleşir. Bu nedenle erken tanıda yardımcı olabilir
- NPV'si  $>85\%$  olduğundan infeksiyonu dışlamada faydalıdır
- Kandidemi tanısında kullanımı önerilmektedir.
- Ayrıca YBÜ'lerde gereksiz profilaktik veya empirik antifungal kullanımını önleme stratejisi için kullanılabilir

ESCMID Guideline. Clin Microbiol Infect 2012

- KKI  $\geq 0,42$  ile birlikte kullanımı İK tanısında faydalı olabilir

Chumpitazi BB, Med Mycol 2014

# Comparison of (1→3)-β-d-Glucan, Mannan/Anti-Mannan Antibodies, and Cand-Tec Candida Antigen as Serum Biomarkers for Candidemia

Jürgen Held, Isabelle Kohlberger, Elfriede Rappold, Andrea Busse Grawitz and Georg Häcker  
*J. Clin. Microbiol.* 2013, 51(4):1158. DOI:

- Kandidemili hastalarda BG, mannan ag, anti-mannan ab ve Candida ag düzeyli anlamlı yükseliyor.
- En yüksek duyarlılık BG ve mannan ag+ab testlerinde (%85-89)
- Ancak özgüllük, BG'nin tek başına veya mannan ag+ab ile kombine kullanımında yüksek (%90), mannan ag+ab'nin tek başına özgüllüğü düşük (%65)
- *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii*'de sensitivite düşük



# Value of $\beta$ -D-glucan and *Candida albicans* germ tube antibody for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in patients with severe abdominal conditions

- Ciddi abdominal durumlarda
  - pankreatit, acil/elektif abdominal cerrahi, perforasyon, peritonit, apse, anastomoz kaçağı gibi komplikasyonlar
- İK ile *Candida* kolonizasyonunun ayrımı (antikor), *Candida* skoru, CRP ve procalcitonin

YBÜ'de 7 günden uzun yatan ve ciddi abdominal problemi olanlarda:  
**BG > 259 ve CAGTA pozitif olduğu durumlarda İK ile kolonizasyon ayrımını doğru bir şekilde yapabiliyor**

	Assessment	Neither colonized nor infected	Colonized	Invasive candidiasis	P value
<i>Candida</i> score	1st	2 (2–4)	2 (2–4)	2 (2–4)	0.001
	Max.	2 (2–4)	2 (2–4)	2 (2–4)	0.001
(1→3)- $\beta$ -D-glucan ( pg/mL)	1st	9 (9–91)	9 (9–91)	268 (50–444) <sup>c</sup>	0.110
	Max.	52 (9–145) <sup>a</sup>	52 (9–145) <sup>a</sup>	268 (50–444) <sup>c</sup>	0.003
CAGTA (%)	1st	25.0	25.0	43.3	0.129
	Max.	39.3 <sup>a</sup>	41.7 <sup>a</sup>	71.0 <sup>b</sup>	0.009
C-reactive protein (mg/L)	1st	201 (103–334)	207 (99–335)	172 (107–282)	0.911
	Max.	248 (142–373)	241 (125–383)	283 (177–426)	0.411
Procalcitonin (ng/mL)	1st	0.89 (0.2–3.21)	0.58 (0.23–5.48)	1.11 (0.29–6.14)	0.590
	Max.	1.25 (0.33–5.0)	0.59 (0.3–7.14)	3.33 (0.74–6.34)	0.179

# Candida PCR

- Henüz valide edilmiş bir yöntem yok
- Kılavuzlarda öneri yapmak için yeterli veri yok, ancak veriler giderek artıyor.
- 54 çalışmanın metaanalizi:
  - Kandidemili olgularda D/Ö: %100
  - Şüpheli olgularda PCR duyarlılığı kan kültürlerinden yüksek
  - Tam kan örneğinde, rRNA veya p450 geni hedeflendiğinde ve sınır değer  $\geq 10$  cfu/ml alındığında en iyi sonuçlar alınıyor
  - İK erken tanısında kullanılabilecek bir yöntem olarak görünüyor
- Kan kültürlerinin PCR veya BG ile kombine kullanımının invaziv kandidoz tanısında duyarlılığı %98, özgüllüğü %79

Avni T. J Clin Microbiol 2011

Nguyen MH. Clin Infect Dis 2012

# Procalcitonin levels in surgical patients at risk of candidemia

Alvise Martini <sup>a</sup>, Leonardo Gottin <sup>a</sup>, Nicola Menestrina <sup>a</sup>, Vittorio Schweiger <sup>a</sup>, Davide Simion <sup>a</sup>, Jean-Louis Vincent <sup>b,\*</sup>

- Sepsis bulguları olan YBÜ hastalarında PCT'nin kandidemi veya bakteremi tanısındaki yeri araştırılmış
- PCT: 2 ng/ml cut-off alındığında kandidemiye bakteremiden ayırmada D/Ö: %82 / %93

Table 4 Markers of sepsis and organ dysfunction at time of blood culture. Data are expressed as median [interquartile range].

	Bacterial sepsis	Candida sepsis	p value
n	16	17	
CRP (mg/L)	190 [115–316]	94 [66–129]	0.002
PCT (ng/ml)	12.9 [2.6–81.2]	0.71 [0.5–1.1]	0.001

# YBÜ hastaları için

- Yüksek riskli hastaları tanımlamada klinik risk faktörlerinin kullanılması önerilmekte
  - Uygun klinik durumlarda risk faktörlerinin varlığı →
    - empirik tedavi

# Risk Faktörleri

- YBÜ'de yatış >7 gün
- Geniş spektrumlu antibiyotik
- Gastrointestinal cerrahi / perforasyon
- Vasküler kateter (SVK)
- Total parenteral nutrisyon
- Böbrek yetmezliği / hemodiyaliz
- İmmünsupresyon
- Nötropeni
- Mekanik ventilasyon
- Diabetes mellitus

# Risk Faktörleri

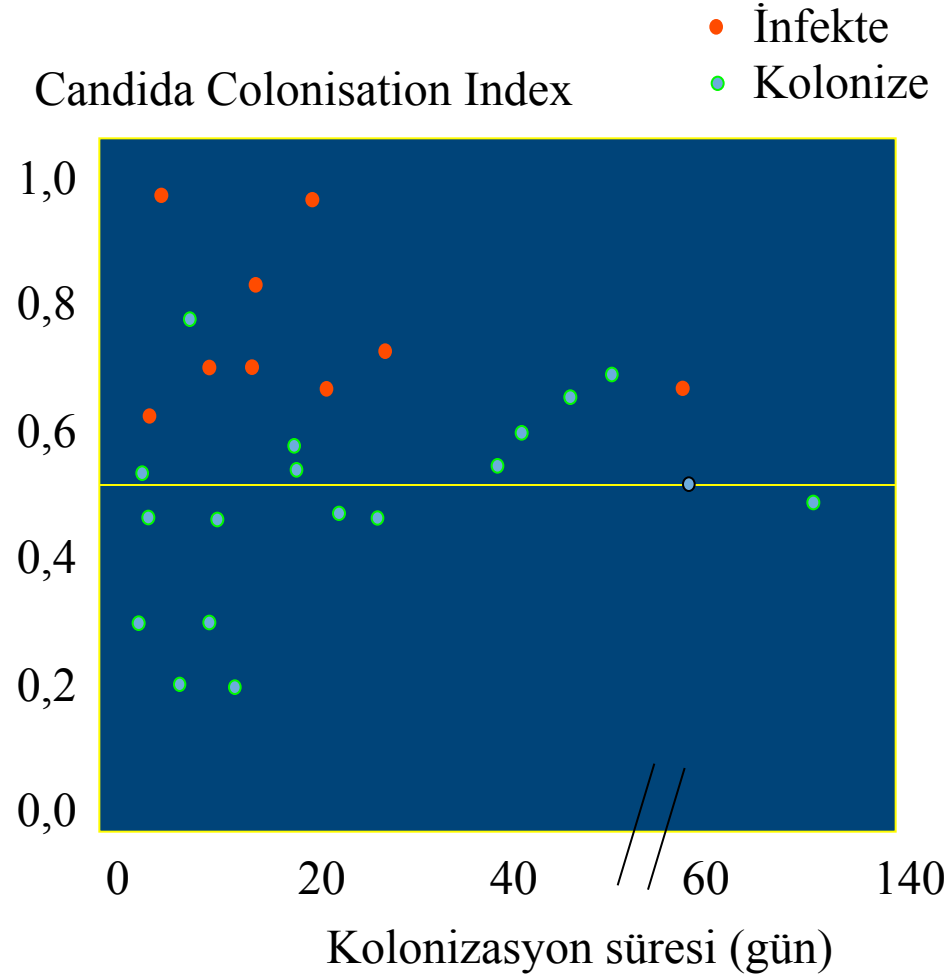
**Candida kolonizasyonu !!!**

# YBÜ'de invaziv kandidoz için risk bazlı değerlendirme

- İK'nın kritik hastalarda erken tanısı için laboratuvar yöntemleri geliştirilmeye devam etse de henüz standardizasyonlarının olmayışı ve yaygın olarak kullanılmayışları nedeniyle risk bazlı değerlendirmeler geliştirilmiştir:



# Kandida Kolonizasyon İndeksi



- Prospektif kohort çalışması
- 5,3 farklı bölge/hasta
- Kolonizasyon İndeksi :

$$\frac{\text{Kolonize bölge sayısı}}{\text{Örnek alınan bölge sayısı}}$$



**KKİ >0.5  
Klinik önemi**

**İnvaziv kandidoz için yüksek riskli hastaları saptamak**

**Preemptif tedaviyi başlatmak**

**Antifungallerin aşırı kullanımını önlemek**

*“Diğer risk faktörleri ile birlikte değerlendirilmelidir*

# Candida skoru

- Lojistik regresyon analizinde bağımsız risk faktörleri olarak belirlenen

• Sepsis	: 2 puan
• Multifokal kandida kolonizasyonu	: 1 puan
• Cerrahi	: 1 puan
• TPN	: 1 puan

- Sınır değeri: 3 (%81 duyarlı, %74 özgül)
- Eğer bir hastanın *Candida* skoru  $\geq 3$  ise invaziv kandidiyaz riski 7.75 kat fazla
- Erken tedavi başlamada ve antifungallerin aşırı kullanımını önlemede değerli

# Usefulness of the “*Candida* score” for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: A prospective multicenter study

Cristóbal León, MD; Sergio Ruiz-Santana, MD, PhD; Pedro Saavedra, PhD; Beatriz Galván, MD;

Table 8. Number of patients needed to predict an invasive candidiasis

	Colonized and Invasive Candidiasis (No. Patients)	Invasive Candidiasis No. (%)	Patients to be Included <sup>a</sup>
<i>Candida</i> score <3	565	13 ( 2.3)	8.7
<i>Candida</i> score ≥3	327	45 (13.8)	
Colonization index <0.5	411	16 ( 3.9)	20.8
Colonization index ≥0.5	481	42 (8.7)	

<sup>a</sup>Number of patients with *Candida* score ≥3 to predict one infection attributable to the increase of the score.

KS≥3	→ Özgüllük:%66,	Duyarlılık:%77,	PPV:%14,	NPV:%98
KKi ≥0.5	→ Özgüllük:%47,	Duyarlılık:%72,	PPV:%9,	NPV:%96

# Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting

L. Ostrosky-Zeichner • C. Sable • J. Sobel •

- YBÜ'de yatan ve İK için yüksek riskli hastaları saptamak için geliştirilmiş klinik skorlama sistemi
- D/Ö: %50 / %83, NPV: %97

YBÜ'de  $\geq 4$  gün yatış

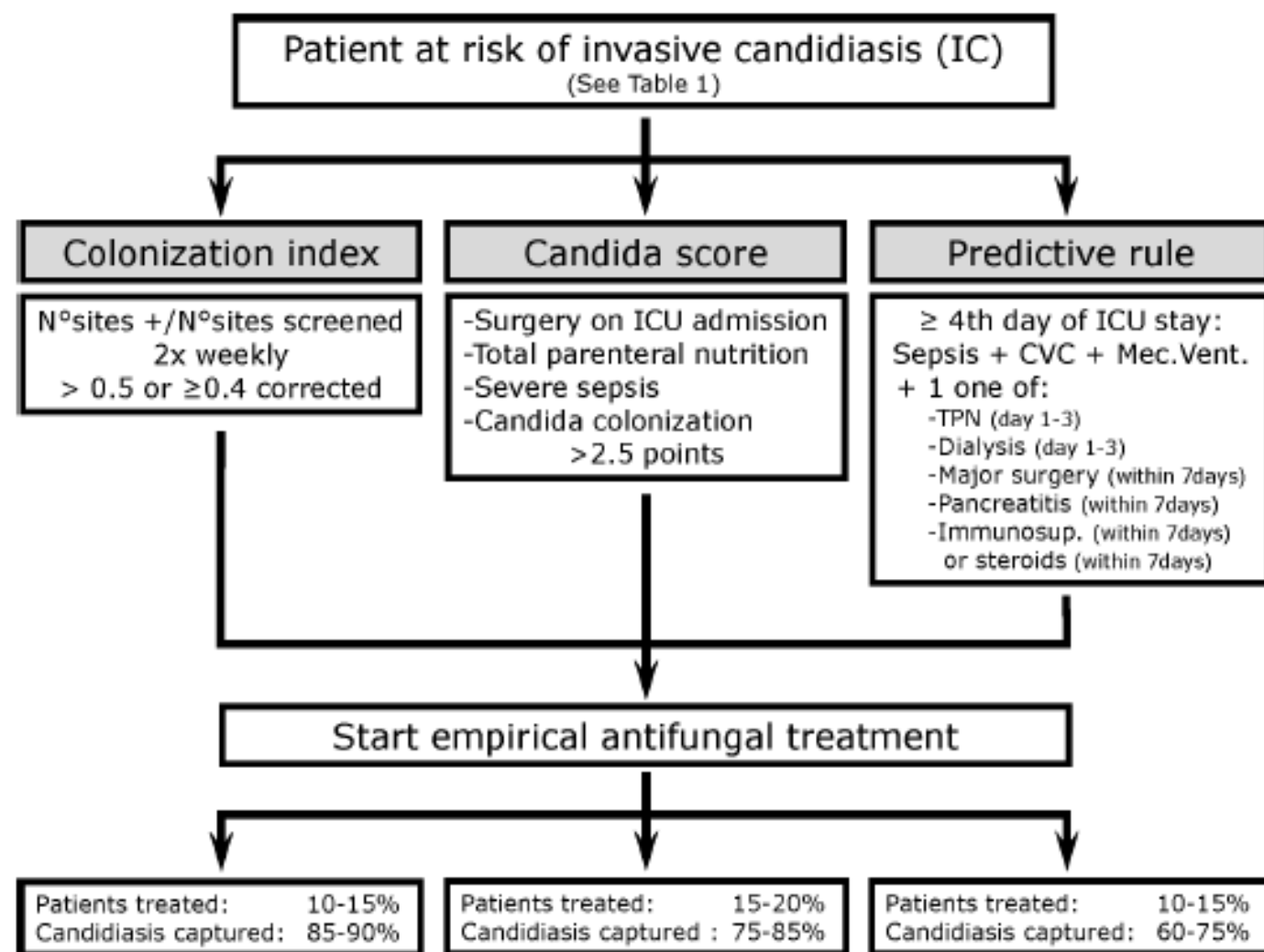
SVK varlığı (1-3 gün)

Mekanik ventilasyon (>48 s)

Antibakteriyel kullanma (>3 gün)

Aşağıdakilerden en az bir tanesi

- Majör cerrahi
- Pankreatit
- Steroid kullanımı
- İmmünsupresif kullanımı
- Diyaliz
- TPN



**Figure 3 Practical approach of patient at risk of invasive candidiasis.** Suggested algorithm to be applied in patients at risk of invasive candidiasis after having check that they are among those susceptible to benefit from prophylaxis (see Table 3) or evaluated to be at a risk level too low to justify antifungal prophylaxis, such as early after extended abdominal surgery or secondary peritonitis.

# İnvazif Aspergilloz

- YBÜ'de İFi'nin majör etkeni *Candida*'lar, ancak İA da değişen oranlarda YBÜ hastalarında bildirilmekte
- Retropsektif otopsi kontrollü bir çalışmada hastaların %6.9'unda İA'nın histopatolojik ve mikrobiyolojik kanıtı saptanmış. Bu hastaların %70'i ise immünyetmezlikli değil
- Mortalitesi ise %80

# İnvazif Aspergilloz

- Bir çok YBÜ'de oranlar çok yüksek olmadığından, kolaylıkla gözden kaçmakta ve uygun tedavinin başlaması geciktiğinden mortal seyretmektedir.
- Tanıda sıkıntılar var. Mikrobiyoloji + klinik + radyoloji + konak risk faktörü (İY, KS, KOAH, dekompanse siroz)
  - Kültürün duyarlılığı %30
  - PCR'nin değeri düşük
  - BAL'da galaktomannan en iyi test olarak görünüyor (%duyarlılık %80). Ancak seri ölçümler sıkıntılı
- Gerçek insidansının daha fazla olduğu düşünülüyor

# **Epidemiology of invasive fungal infections in the intensive care unit: results of a multicenter Italian survey (AURORA Project)**

- İtalya'dan çok merkezli çalışma
  - 18 ay boyunca YBÜ'ye yatan 5561 hasta İFi açısından takip edilmiş
- İnvazif kandidiyaz insidansı 1000 yatışta 16.5, İnvazif küf insidansı ise 2.3 olarak bulunmuş.
- Küf maya oranı: 1 / 7
- Ancak mortalite oranı küf infeksiyonlarında daha yüksek (%61.5 vs %40.2)



# YBÜ hastalarında İA

- Ciddi sepsiste gelişen immün yetmezlik durumu
- Kritik hastalarda immün fonksiyonları olumsuz etkileyen hiperglisemi ve kortikosteroid kullanımı sık
- KS'ler nötrofil fonksiyonları ve dağılımını olumsuz etkiler ve *A. fumigatus*'un üremesini direk olarak stimüle eder
- KOAH'lı hastalarda özellikle IV steroid kullanımı artmış İA insidansı ile ilişkili bulunmuştur
- Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı sonucunda floranın bozulması
- Karaciğer yetmezliği ve ileri evre siroz, DM, kronik böbrek yetmezliği

# YBÜ hastalarında İA

- Dikkate değer bir nokta
  - *Aspergillus* spp ile kolonize olup pulmoner infeksiyon bulgusu olmayan hastalarda bile mortalite oranları yüksek. Yani kolonizasyon varlığı bile potansiyel olarak önemli bir bulgu
- Herhangi bir risk faktörü olmayan kritik hastada YBÜ'de uzun süre yatış bile İA gelişimi için bir risk faktörü

# YBÜ hastalarında İA

- İspanya'da yapılan bir çalışmada YBÜ yatışı gerektiren ciddi nozokomiyal pnömonilerin %17'sinde etken *Aspergillus*

Vallés J, Mesalles E, Mariscal D, del Mar Fernández M, Peña R, Jiménez JL, Rello J: A 7-year study of severe hospital-acquired pneumonia requiring ICU admission. *Intensive Care Med* 2003, 29:1981–1988.

- Hollanda'daki bir çalışmada ise doğrulanmış H1N1 infeksiyonu ile YBÜ'ye yatırılan 40 hastanın 9'unda (%23) yatıştan 3 gün sonra invazif aspergilloz gelişmiş

Wauters J, Baar I, Meersseman P, Meersseman W, Dams K, De Paep R, Lagrou K, Wilmer A, Jorens P, Hermans G: Invasive pulmonary aspergillosis is a frequent complication of critically ill H1N1 patients: a retrospective study. *Intensive Care Med* 2012, 38:1761–1768.

# YBÜ'de İA tanısı

- YBÜ hastalarında İA tanısı daha sıkıntılı. Hematolojik maligniteli hastalarda olduğu gibi, «*possible*», «*probable*», «*proven*» gibi tanımlar yok.
- Klinik bulgular ve tomografi sonuçları nonspesifik
- GM antijen duyarlılığı düşük
- Kültürde *Aspergillus* üremesinin yorumlanması güç (%80'i kolonizasyon kabul edilmekte)

# Galaktomannan

- *Aspergillus* hücre duvar komponenti
- Serum/plazma, BAL, BOS ve diğer vücut sıvılarında bulunabilir.
- Farklı hasta gruplarında ve kurumlarda test sonuçlarında önemli varyasyonlar mevcut
- En iyi sonuçlar kemoterapi alan hematolojik maligniteli hastalarda (duyarlılığı %58, özgüllüğü %95) ve KHN alıcılarında (duyarlılık ve özgüllük %65)
- SOT alıcılarında D/Ö daha düşük

# Galaktomannan

- BOS ve BAL'da GM ölçülebilir. Bu örneklerde cut-off değerinin 1 olarak alınması önerilmektedir.
  - Solunum yolundaki kolonizasyon BAL'da yanlış pozitifliğe neden olabilir
- Beta-laktam antibiyotiklerle çapraz reaksiyon olabilir
- Antifungal profilaksi alan hastalarda değerler düşük çıkabilir
- Steroid alanlarda titreler nötroopenik hastalara göre daha düşük

# A Clinical Algorithm to Diagnose Invasive Pulmonary Aspergillosis in Critically Ill Patients

- 524 YBÜ hastası, ETA'da *Aspergillus* üremesi var
- İnfeksiyonu kolonizasyondan ayırmak için bir algoritim geliştirilmiş
- Algoritmanın NPV'si yüksek (%92). Gereksiz antifungal kullanımını, toksisiteyi ve yüksek maliyeti önlemede faydalı olabilir

Putative invasive pulmonary aspergillosis (all four criteria must be met)

1. *Aspergillus*-positive lower respiratory tract specimen culture (= entry criterion)

2. Compatible signs and symptoms (one of the following)

- Fever refractory to at least 3 d of appropriate antibiotic therapy
- Recrudescence fever after a period of defervescence of at least 48 h while still on antibiotics and without other apparent cause
- Pleuritic chest pain
- Pleuritic rub
- Dyspnea
- Hemoptysis
- Worsening respiratory insufficiency in spite of appropriate antibiotic therapy and ventilatory support

3. Abnormal medical imaging by portable chest X-ray or CT scan of the lungs

4. Either 4a or 4b

4a. Host risk factors (one of the following conditions)

- Neutropenia (absolute neutrophil count  $< 500/\text{mm}^3$ ) preceding or at the time of ICU admission
- Underlying hematological or oncological malignancy treated with cytotoxic agents
- Glucocorticoid treatment (prednisone equivalent,  $> 20 \text{ mg/d}$ )
- Congenital or acquired immunodeficiency

4b. Semiquantitative *Aspergillus*-positive culture of BAL fluid (+ or ++), without bacterial growth together with a positive cytological smear showing branching hyphae

*Aspergillus* respiratory tract colonization

When  $\geq 1$  criterion necessary for a diagnosis of putative IPA is not met, the case is classified as *Aspergillus* colonization.



# Moleküler yöntemler

- PCR
  - Panfungal PCR
  - Türe özgül PCR
  - Real time PCR
- DNA dizi analizi (nadir olgularda)
- FISH
- NASBA
- MALDI-TOF

# PCR

- Başlıca *Aspergillus* için kullanılmakta. Yine *Candida*, *Pneumocystis jirovecii* ve diğer mantarlar için de veriler mevcut
- Çok farklı ticari kitler mevcut
  - Hedef genler (FKS, mitokondrial DNA, 18s rRNA, 28s rRNA vb)
  - Primerler (*A. fumigatus*, *Aspergillus* spp, panfungal vb)
  - DNA extraction (manual, otomatize)

# Aspergillus PCR

- Hematolojik hastalarda IA tanısında;
- Kan örneğinde PCR'nin D/Ö (metaanaliz);
  - Tek kan örneğinde pozitiflik: %88 / %75
  - Çift kan örneğinde pozitiflik: %75 / %87

Mengoli C. Lancet Infect Dis 2009

- BAL sıvısında PCR'nin D/Ö (metaanaliz);
  - Ortalama duyarlılık %79, ortalama özgüllük %94

Tuon FF. Rev Iberoam Micol 2007

- Standardizasyonunun olmayışı nedeniyle, iyi sonuçlara rağmen hala kılavuzlarda IFI tanısında PCR yer almamaktadır

Marchetti O. ECIL recommendations. BMT 2012

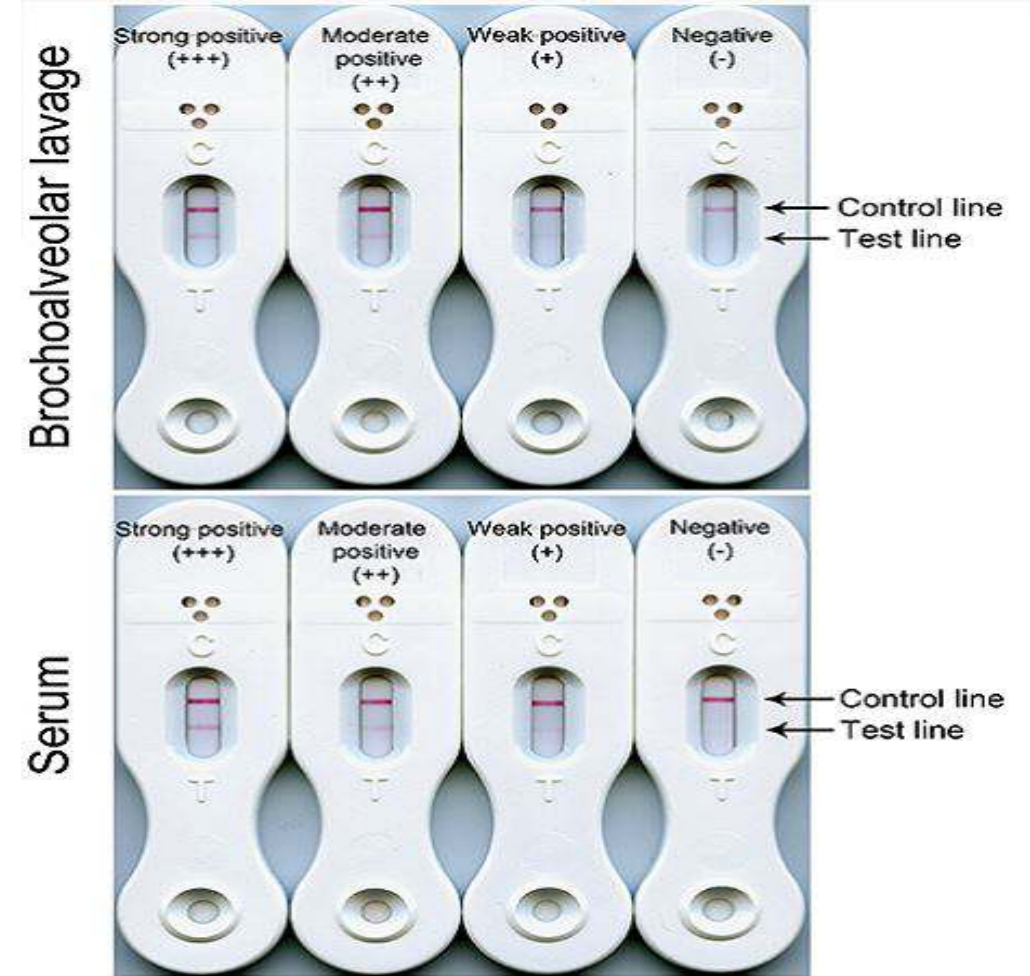
# Diagnostic Accuracy of PCR Alone Compared to Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis: a Systematic Review

Tomer Avni,<sup>a</sup> Itzhak Levy,<sup>b,c</sup> Hannah Sprecher,<sup>d,e</sup> Dafna Yahav,<sup>a</sup> Leonard Leibovici,<sup>a,c</sup> and Mical Paul<sup>f,c</sup>

- 19 çalışmanın sistematik analizi
- BAL örneğinde PCR bakılmasının olası veya kanıtlanmış İPA'daki tanısal değeri GM ile benzer bulunmuş
- PCR ve GM'nin birlikte kullanımında duyarlılık artıyor (>%90)

# Lateral flow devices

- Uygulamada teknik uzmanlık gerektirmez
- Hastabaşı testi olarak kolay ve hızlı bir test
- *Aspergillus* glukoprotein antijenini bağlayan monoklonal antikolar kullanılmaktadır
- Sonuçları yorumlamada subjektiflik olabilir
- BG ve GM'den daha iyi performans



# Performance of Galactomannan, Beta-D-Glucan, *Aspergillus* Lateral-Flow Device, Conventional Culture, and PCR Tests with Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis

- 78 immüno-kompromize hasta BAL örneği
- Kültür dışındakilerin duyarlılığı yüksek (>%70), BG'nin özgüllüğü düşük
- GM'nin (>1) PCR veya LFD ile kombine kullanımında en iyi sonuçlar
- PCR'ın omadığı yerlerde LFD kullanımı önerilmekte

Hoenigl M. J Clin Microbiol 2014

## *Aspergillus*-Specific Lateral-Flow Device and Real-Time PCR Testing of Bronchoalveolar Lavage Fluid: a Combination Biomarker Approach for Clinical Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis

TABLE 1 Diagnostic performance of BAL fluid GM test, LFD, and qPCR for proven IPA versus no IPA<sup>a</sup>

Test	Sensitivity (%) (n = 8)	Specificity (%) (n = 15)	PPV (%)	NPV (%)
GM test (cutoff, 0.8)	87.50 (47.38–97.93)	66.67 (38.41–88.05)	58.33 (27.75–84.68)	90.91 (58.67–98.49)
GM test (cutoff, 1.0)	75 (35.05–96.07)	66.67 (38.41–88.05)	54.55 (23.50–83.08)	83.33 (51.58–97.42)
qPCR	100 (62.91–100)	86.67 (59.51–97.95)	80 (44.43–96.89)	100 (75.12–100)
LFD test	100 (62.91–100)	80 (51.91–95.43)	72.73 (39.08–93.65)	100 (73.35–100)

- BAL'da *Aspergillus* PCR ve LFD testinin duyarlılığı %100, GM'nin ise %87.5
- LFD'lerin hastabaşı test olarak bronkoskopi ünitesinde yapılması ve 24 saat içinde PCR ile desteklenmesi İPA tanısı için önerilmekte

Johnson GL. J Clin Microbiol 2015



# Broncho-Alveolar Lavage

Cx

BDG

GM

LFD

PCR

# Yeni teknolojiler



# Multiplex PCR

- Serum, BAL ve çeşitli klinik örneklerde birden fazla İFİ etkenini ve bakteriyel etkenleri saptayabilen yöntemler
- Birçok çalışmada duyarlılık ve özgüllükleri >%80, ancak standardizasyonlarında sorunlar var
- Polimikrobiyal durumları saptamada faydalı olabilir

# FISH

- Floresan in situ hibridizasyon testi
  - Mikroorganizmaların genomlarındaki hedef bölgeleri tanımlayan floresan probalar kullanılıyor
  - Kültür ve PCR'a yardımcı olarak çeşitli klinik örneklerde İFi tanısında kullanımı var
  - 5 saat gibi kısa sürede sonuç vermesi avantaj
- 
- Kan ve BOS örneklerinde invaziv mikoz etkenlerini tanımlamada kültür ve PCR-RFLP ile aynı etkinlikte, ancak hızlı tanı koydurma değeri var.

# MALDI-TOF

(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight Mass Spectrometry)

- Farklı mikroorganizmaların protein fingerprintlerini tanımlayan mass spektrofotometri temelli bir sistem
- Tür ve hatta suş düzeyinde tanımlama yapmak mümkün
- *Candida* ve *Aspergillus* türlerini hızlı tanımda gelecek vaad eden bir yöntem
- Fungal antijenlerle birlikte çeşitli konak cevap proteinlerinin birlikte ölçümünün İPA tanısını artırdığı bildirilmekte

Review

## Pushing the Limits of MALDI-TOF Mass Spectrometry: Beyond Fungal Species Identification

Cosmeri Rizzato <sup>1,2</sup>, Lisa Lombardi <sup>1</sup>, Marina Zoppo <sup>1</sup>, Antonella Lupetti <sup>2</sup>

- Mikrobiyolojik tanıda bir devrim olarak belirtiliyor
- Klinik örneklerden fungal etkenlerin tanısını kısa sürede yapabiliyor
- Tür düzeyinde DNA bazlı yöntemler kadar iyi sonuç veriyor
- *Candida* türleri arasında birbirine yakın türleri ayırmada yeterli
  - Ör. *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis*
- Küf mantarlarının tür düzeyinde tanısında başarılı
- *Aspergillus*, *penicillium*, *fusarium* türleri
- Dermatofitler için dahi elverişli (%95 tür düzeyinde tanımlama)
- Ayrıca bir çok türdeki antifungal direncini de tespit edebiliyor

# T2MR (magnetic resonance)

- Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi ile PCR'in kombinasyonu. Moleküler düzeydeki hedefleri (ör. DNA ve çeşitli proteinler) saptayabilme kapasitesine sahip
- PCR'dan çok daha duyarlı. Tam kanın 1 ml'sindeki 1 cfu mikroorganizmayı saptayabilir
- Hızlı ve kolay uygulanabilen bir yöntem. Nükleik asit ekstraksiyonuna veya kültüre ihtiyaç duymaz
- Kan kültürlerinde üremesi sıkıntılı olan *C. glabrata*'yı dahi tanımlamada başarılı. Antifungal kullanan hastalarda tanıda değerli olabilir
- Kültür negatif olan invaziv kandidiyaz olgularını saptamada değerli

## REVIEW

*For reprint orders, please contact: [reprints@futuremedicine.com](mailto:reprints@futuremedicine.com)*

# T2MR and T2Candida: novel technology for the rapid diagnosis of candidemia and invasive candidiasis

Michael A Pfaller<sup>\*1,2</sup>, Donna M Wolk<sup>3</sup> & Thomas J Lowery<sup>1</sup>



# Özet-1

- İFİ'nin klinik seyri sinsi olabilir ve erken tanısı zor
- Kan/steril sıvı/doku kültürleri tanıda değerli ancak duyarlılıkları istenen seviyede değil
- Serolojik yöntemler (BG, Galaktomannan) hematolojik malignansili hastalarda İFİ'nin erken tanısında yaygın olarak kullanılmakla birlikte YBÜ hastalarında tanısal değeri daha düşük. NPV'lerinin yüksek oluşu nedeniyle tanıyı dışlamakta daha değerli
- PCR standardize edilebilirse çok faydalı olabilecek
- LFD hastabaşı hızlı test olarak İPA tanısında yer alabilir

# Özet-2

- Klinik skorlama sistemleri ve kolonizasyon indeksi YBÜ'lerde yüksek riskli hastaları saptamada kullanılabilecek yöntemler olarak görünmekte.
- Klinik ve laboratuvar sonuçlarının birlikte kullanılmasıyla en iyi sonuçlar elde edilmekte
- Yeni teknolojilerin klinik kullanımları giderek artmakta ve sorunun çözümüne katkıda bulunabilirler