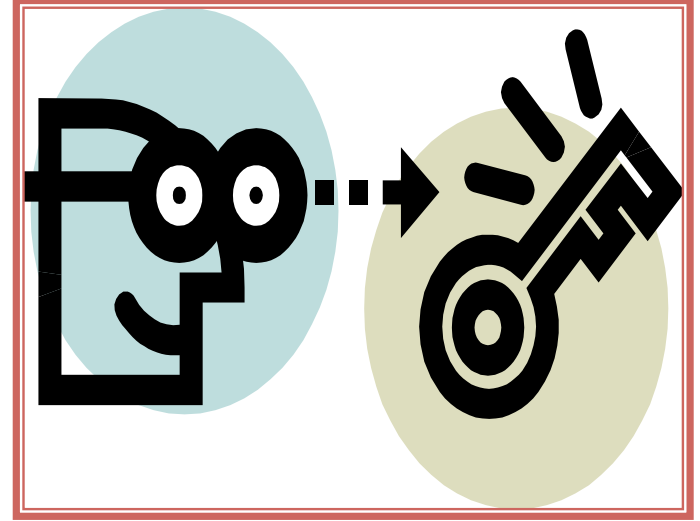


Tanıda Biyobelirteçler

Dr Beyza Ener
Uludağ Üniversitesi Tıp
Fakültesi



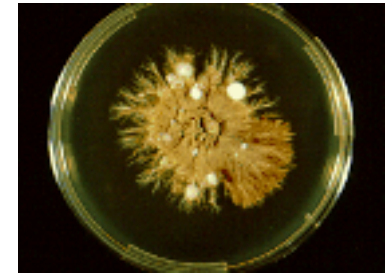
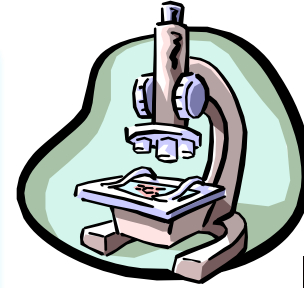
Mikrobiyolojik Tanı=Etiyolojik Tanı

- **KONVANSİYONEL YÖNTEMLER**

Direk mikroskopik inceleme
Kültür (Altın Standart)

- **DİĞER YÖNTEMLER**

Biyobelirteçler
(β -glukan, galaktomannan,
mannan, anti-mannan,
Cryptococcus kapsül antijeni, Pan-
fungal DNA veya özgül DNA)



Biyobelirteçler

- Kapsül antijeni taranması
 - *Cryptococcus* enfeksiyonlarında
- Hücre duvarı antijenleri
 - β -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

- Hematolojik maliniteli hastalar
- Allojenik kemik iliği nakli yapılan hastalar

Invazif aspergilloz

Galaktomannan

- *Aspergillus* türlerinin hücre duvarında bulunuyor ve aktif üreme esnasında dış ortama salgılanabiliyor
- Bir çekirdek ve bir yan zincirden oluşmuş
- Çekirdek (mannan): $\alpha(1,2)$ ve $\alpha(1,4)$ mannoz (mannan)
- Yan zincir (galaktofuran):
 - a: düz yapıda $\beta(1,5)$ galaktofuranoz ve $\beta(1,4)$ galaktopiranoz
 - b: dallanmış yapıda $\beta(1,5)$ ve $(1,6)$ galaktofuranoz
- Sıçanlarda GM molekülüne karşı IgM yapısında monoklonal antikor elde edildi (EBA2)
- Molekülün β -1,5 galaktofuranoz yan zincirindeki epitopu tanıyor
- Bu epitopun ≥ 4 olması gerekiyor

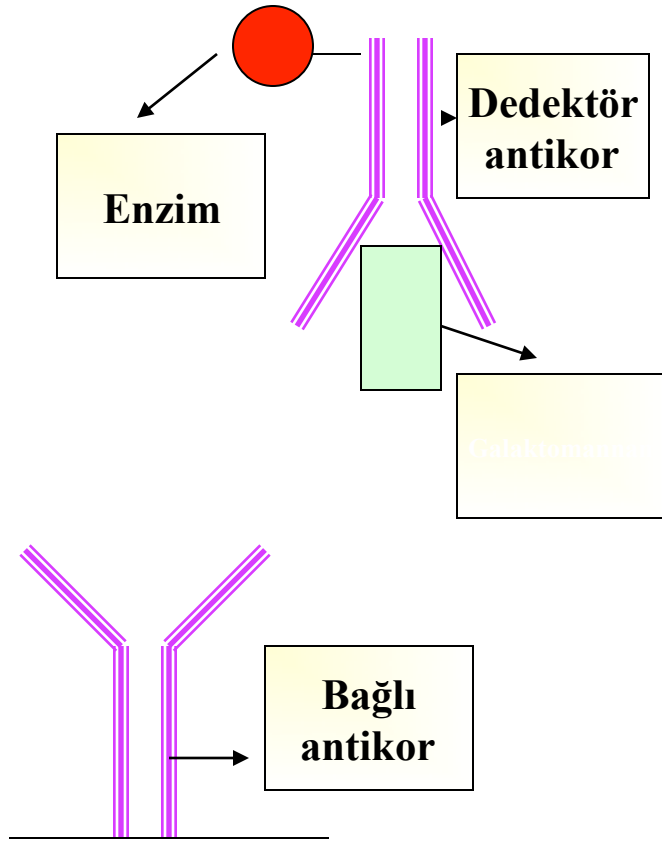
Latge', J. P., et al. Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of *Aspergillus fumigatus*. Infect. Immun. 1994; 53:5424–5433.

Galaktomannan Kiti

Stynen, D., et al. 1995. A new sensitive sandwich ELISA to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J. Clin. Microbiol.* **33**:497–500.

- Platelia *Aspergillus* (Bio-Rad Laboratories, Marne-La-Coquette, France)
- EIA (tek basamaklı sandaviç EIA)
- EBA2 hem kuyucukların kaplanmasında hem de konjugatta
- Serum, plazma, BAL, BOS ve diğer vücut sıvılarında
- Başarılı bir test için EDTA ile ısıtma basamağı kritik
 - Bağlı GM serbest hale gelmesi için
 - Fazla olması galaktofuranoz yapısını bozuyor

Platelia Aspergillus Kitinin Özellikleri



- Tek basamaklı sandviç ELISA
- Sıçan monoklonal antikor
- **0.5-1 ng/ml** galaktomannan
LA: 15 /ml
RIA: 10 ng/ml
ELISA (inhibisyon): 4-5 ng/ml
- **serum** ile alınıyor
BAL, idrar, BOS ?
- Hastanın yatışından itibaren haftada iki kez çalışılması
- Üst üst gelen iki örnekte pozitiflik (**Optik indeks**>0,5) olursa İA açısından anlamlı kabul ediliyor

Galaktomannan Kiti

- Bir negatif bir pozitif, iki eşik kontrol serumu var
- Eşik kontrol serumlarında 0,5 ng/ml GM
- GM konsantrasyonu optik indeks (OI) ifade ediliyor.
- İki eşik serumun oluşturduğu optik densite'nin (OD) ortalaması alınır
- Hasta serumunun OD'sinin eşik serum OD ortalamasına oranı OI olarak ifade edilir

ECIL klavuzuna göre All

- Yoğun kemoterapi alacak lösemili hastalar ve allojenik kök hücre alıcılarında serum galaktomannan indeksinin prospektif izlenmesi
- İzlemin hasta yatışından sonra 2-3 günde bir yapılması
- GM izleminin CT ve klinik ve mikrobiyolojik değerlendirme ile beraber yapılması
- Tek serumda $\geq 0,7$; art arda gelen iki serumda $\geq 0,5$ GM indeksi olması durumunda hastanın hemen yeniden değerlendirilmeye alınması

ECIL klavuzuna göre BII

- Antifungal tedavi altında GM indeks yüksekliğinin devam etmesi durumunda kötü prognoz düşünölüp, hasta tedavisinin yeniden değerlendirilmesi

Galaktomannan testinin performansını etkileyen faktörler

Epidemiyolojik faktörler (Pfeiffer et al, 2006 Clin Inf Dis, 42: 1417-27)

- Hasta popülasyonu
- Örnek alma stratejisi
- Pozitif sonuç tanımlanması
- İnvazif aspergilloz tanımlanması
- İnvazif aspergilloz prevalansı
- Eşik cut-off
- Laboratuvarın deneyimi
- Beslenme faktörleri (GM içeren besin)
- Semi-sentetik beta-laktam antibiyotiklerle tedavi

Biyolojik faktörler (Mennink-Kersten et al, 2004 Lancet Infect Dis, 4: 349-57)

- Enfeksiyonun yeri
- Enfeksiyona sebep olan *Aspergillus* türü
- Enfeksiyon bölgesindeki mikro-çevre (besin, oksijen yoğunluğu ve pH)
- Antifungal ajana maruziyet
- Salınan GM moleküler konfigürasyonu
- Altta yatan hastalık ve immun sup derecesi
- Renal temizlenme ve hepatik metabolizma
- GM antikor varlığı
- Örneklerin saklanması
- Örneğin ön işlenmesi

Aspergillus türünün duyarlılığa etkisi

Hachem et al. JCM 2009; 47:129-133

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

Test and organism	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%) ^a	NPV (%) ^a
GM enzyme immunoassay				
<i>A. fumigatus</i> (n = 69)	13	99	90	66
Non- <i>fumigatus Aspergillus</i> species (n = 39)	49	99	95	86
Other mold (n = 77)	6	99	83	62
BG test				
<i>A. fumigatus</i> (n = 69)	61	88	75	79
Non- <i>fumigatus Aspergillus</i> species (n = 39)	64	88	64	88
Other mold (n = 76)	47	88	72	72

^a PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

Ağca et al. Mycosis 2014; 57:169-175

Table 2 *Aspergillus* species grown on culture of bronchial lavage and bronchoalveolar lavage fluids and mean galactomannan optical density (OD) index.

<i>Aspergillus</i> species	Positive samples	Mean OD index
<i>A. fumigatus</i> complex	80	5.11
<i>A. flavus</i> complex	28	4.66
<i>A. niger</i> complex	18	4.94
<i>A. terreus</i> complex	4	7.11
Mix growth ¹	4	9.39
Total	134	5.34

¹One *A. fumigatus* complex and *A. flavus* complex; one *A. fumigatus* complex and *A. niger* complex; two *A. fumigatus* complex and *A. terreus* complex.

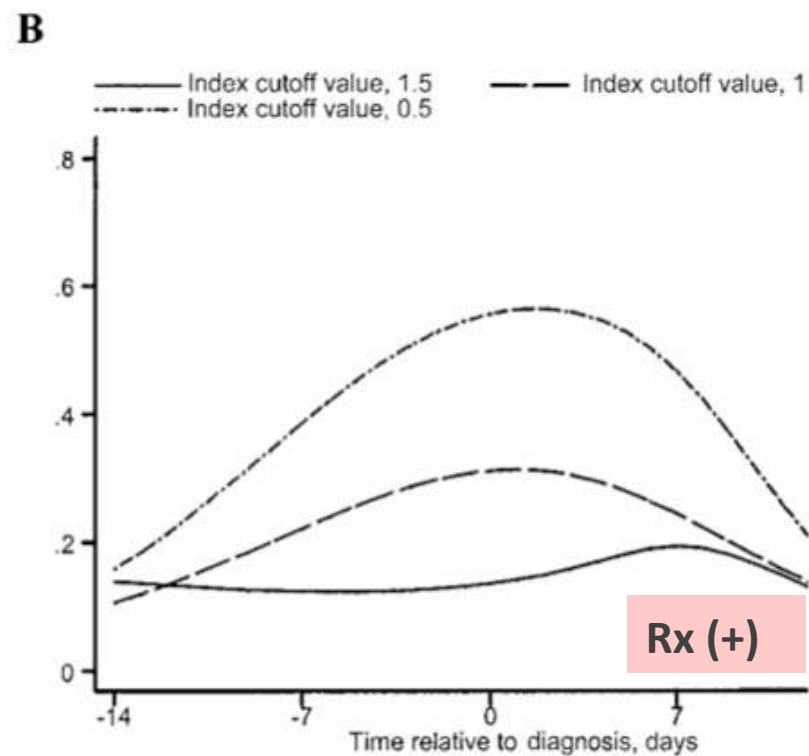
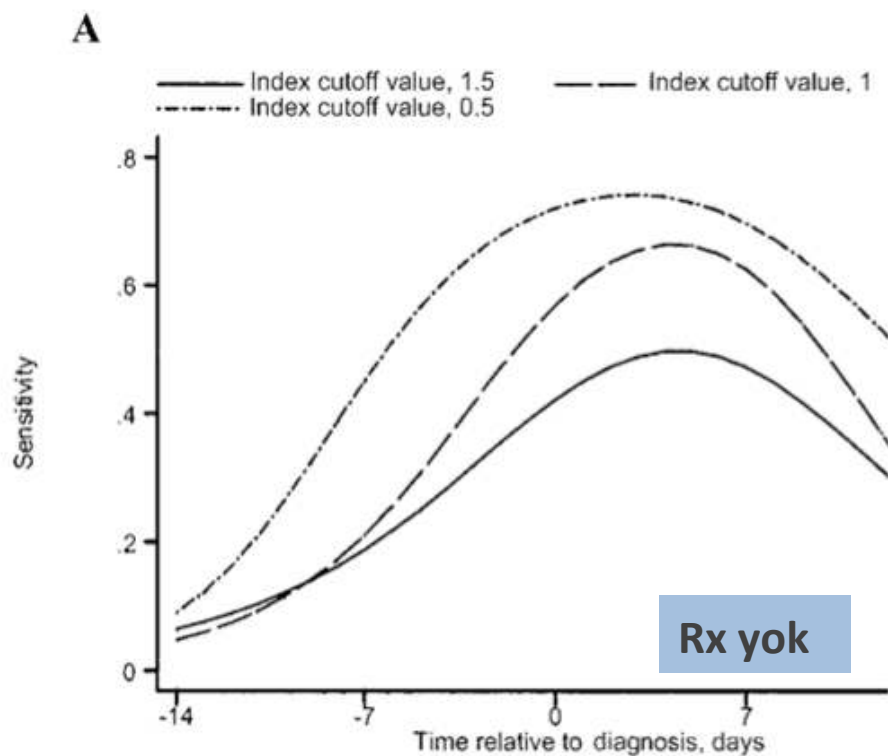
Fatal breakthrough infection with *Fusarium andiyazi*: new multi-resistant aetiological agent cross-reacting with *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay

Nesrin Kebabci,¹ Anne D. van Diepeningen,² Beyza Ener,³ Tuba Ersal,⁴ Martin Meijer,² Abdullah M.S. Al-Hatmi,² Vildan Özkocaman,⁴ Ahmet Ursavaş,⁵ Ezgi D. Çetinoğlu⁵ and Halis Akalin¹

¹Faculty of Medicine, Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Uludağ University, Bursa, Turkey; ²CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands; ³Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Uludağ University, Bursa, Turkey; ⁴Faculty of Medicine, Department of Neurobiology, Uludağ University, Bursa, Turkey and ⁵Faculty of Medicine, Department of Chest Diseases, Uludağ University, Bursa, Turkey

Antifungal Tedavi/Proflaksi GM Üzerine Etkisi

Marr K, et al. CID 2005;40:1762



Galaktomannan Testi Tarama mı? Tanı mı?

OPTİMAL TANI OLANAKLARI

CT'ye ve sonucuna kolay ulaşım

Yorum yapılabiliriyorsa

İyi donanımlı laboratuvar (24 saat içinde sonuç)

YAYGIN DENEYİM

Uzmanların bulunması

Geniş hasta popülasyonu

Testin izlemde kullanılması ve Preemptif tdv

SINIRLI TANI OLANAKLARI

SINIRLI DENEYİM

VEYA

PROFLAKTİK ANTİFUNGAL

Bulgular çıktıktan sonra tanı testi olarak kullanılması ve ampirik tdv

BAL Galaktomannan

Bronchoalveolar Lavage Fluid Galactomannan
for the Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis
in Patients with Hematologic Diseases

Maertens et al.

Clinical Infectious Diseases 2009; 49:1688-93

- Zayıf yönü: Hasta sayısı az
- Güçlü yönü: Kanıtlanmış IA veya non-IA
- Cut-off>0.5

BAL Galaktomannan meta analiz

Heng SC et al. Crit Rev Microbiol 2013

- Sadece hematoloji hastaları için yapılmış bir incelenmiş

Cut-off ≥ 1.5

- Antibiyotikler=Yalancı pozitiflik
- Antifungaller=Yalancı negatiflik

BAL Galaktomannan Meta Analiz

D'Haeze J et al. JAC 2012; 50:1258-63

Hematoloji ve diğer hastalar (Karışık popülasyon)

$OI \geq 3$ PPD %100; $OI \leq 0,5$ NPD %98

Systematic Review and Meta-Analysis of Detecting Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosing Invasive *Aspergillosis*

Mingxiang Zou¹, Lanhua Tang², Shushan Zhao^{2*}, Zijin Zhao², Luyao Chen², Peng Chen³, Zebing Huang⁴, Jun Li¹, Lizhang Chen⁵, Xuegong Fan⁴

PLOS ONE 2012, 7(8):e43347.

Guo YL, et al. 2010. Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review. *Chest* **138**:817– 824.

BAL-GM

- BAL standardizasyonunun acil olarak yapılması gerekiyor
 - Ne kadar sıvı kullanılmalı ?
 - BAL mı? BL mi?....v.s.
- İmmüno-kompromize hastalarda bronkoskopinin yapılması ve BAL GM bakılması güçlü olarak öneriliyor
- BAL-GM Optik indeks < 0,5 IA kesin olarak dışlıyor (NPV çok yüksek)
- Pozitif test IA düşündürüyor
 - Cut-off Optik indeks > 1 ya da 1,5
- Küf etkili ilaçların kullanılması performansı düşürüyor
 - Maertens J et al. CID 2009; 49:1688
 - Heng SC et al. Crit Rev Microbiol 2013
 - D’Haeze J et al. JCM 2012; 50:1258
 - Zou M et al. PLoS ONE 2012; 7:e43347

(1,3- β -D gluklan testi)

- 1,3- β -D gluklan bir çok mantarın hücre duvarında bulunan bir komponenttir (*Cryptococcus* ve *Mucorales* hariç)
- ortama da salgılanabilir
- Bazı bakteriler de gluklan ya da gluklan benzeri polimerler oluşturabilirler (*Alcaligenes* ve *Streptococcus*)
- İnvazif mantar enfeksiyonlarında serum seviyesinin ölçülmesinin tanıda yardımcı olabileceği düşüncesi ile kullanılmaya başlanmıştır

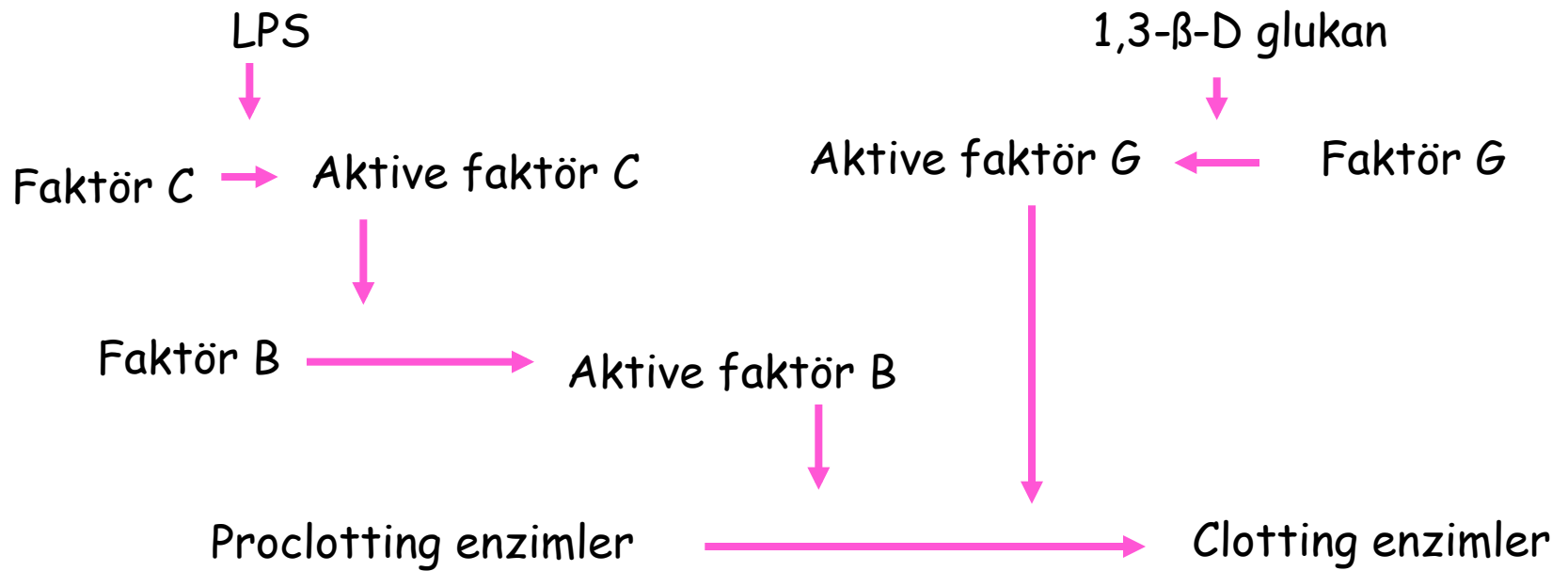
(1,3)- β -D Glukan



Horseshoe crab amebositlerinden degranülasyona ile salınan serin proteaz zimogenler (faktör C ve faktör G) aktive olarak koagulasyonu harekete geçirirler



- *Limulus polyphemus*
- *Tachypleus tridentatus*



(1→3)-β-D-Glukan (BDG)

- Fungitell-GlucateLL test (80pg/ml) (Associates of Cape Cod)
 - Fungitec-G-Test MK (30pg/ml)
 - Fungitec G-Test (20pg/ml)
 - Wako β-Glucan (11pg/ml) (Wako Pure Chemicals)
- } (Seikagaku Corporation)

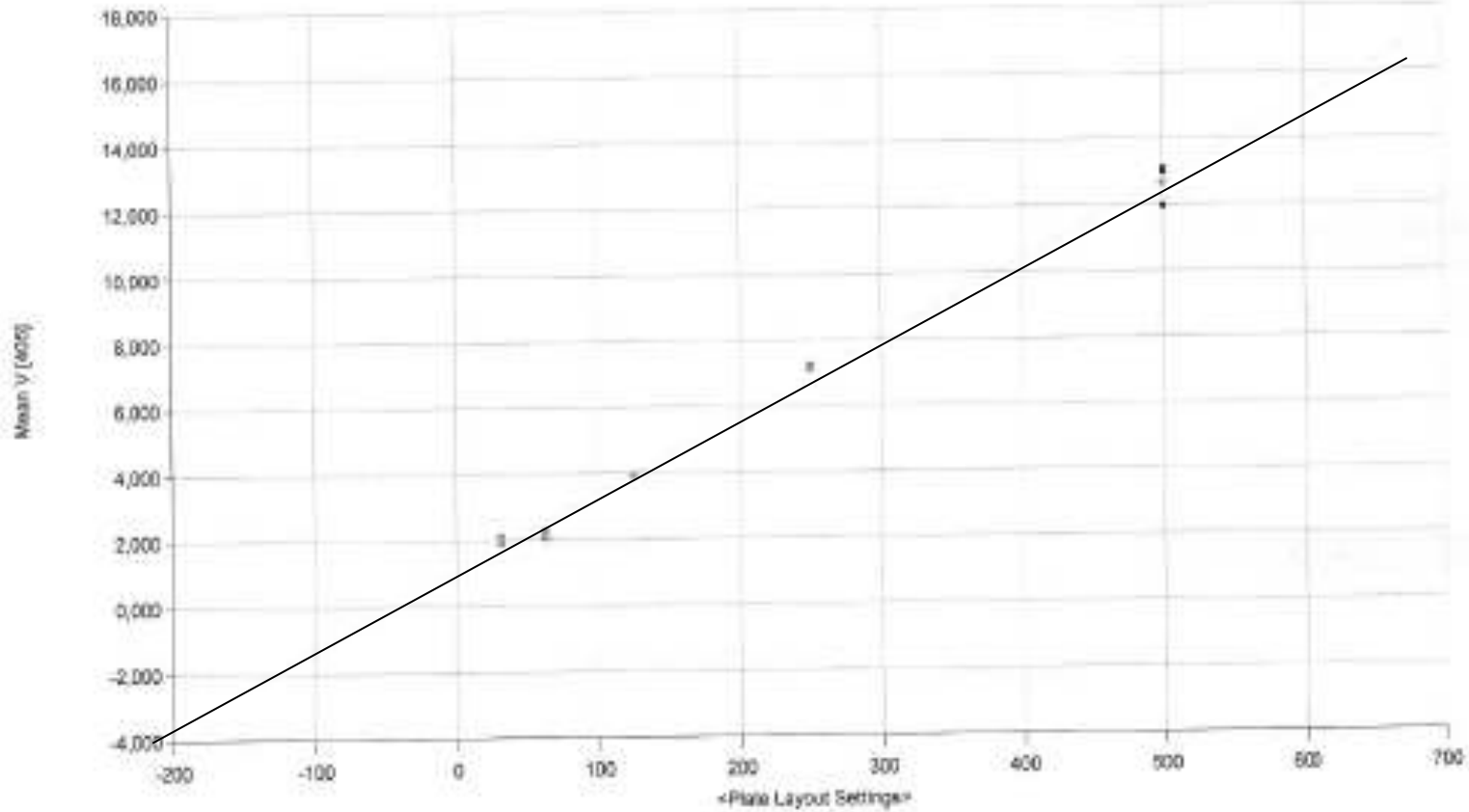
FUNGITELL TEST FOR INVASIVE FUNGAL INFECTION

Reading Date/Time:

09.12.2009 09:47:50

Curve

Curve



(1→3)-β-D-Glukan (BDG)

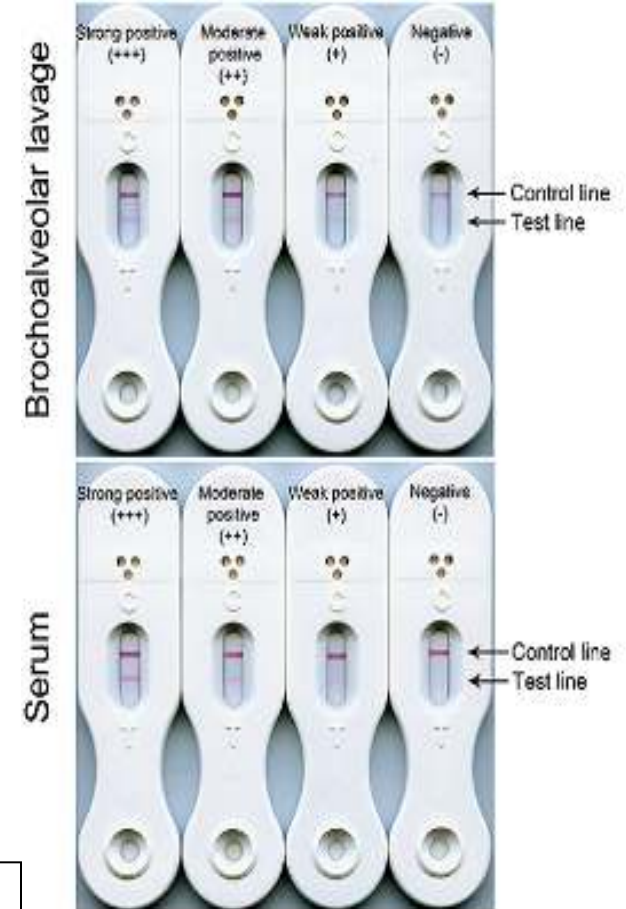
- Hematoloji hastalarında ECIL «BII»
- Kandidemi ESCMID «Recommended II»
- İnvazif kandidoz ESCMID «Recommended II»
- Kronik dissemine kandidoz «Recommended II»
- *Fusarium* enfeksiyonu ESCMID «BIII»
- Esmer mantarlar ESCMID «CIII»
- Nadir görülen mayalar ESCMID «CIII»

(1→3)-β-D-Glukan (BDG)

- Optimal cut-off ?
- Tarama ? Tanı ?
- IFE lehine karar vermek için kaç kez pozitif olmalı
- Hangi hasta grubu ?
- Kan dışındaki örnekler ?
- Pan-fungal test olduğu için ardışık kullanım?
- Antifungal profilaksi/tedavi etkilenmesi ?
- Antifungal tedavinin izlenmesi ?

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

Mannan Antijeni ve Anti-mannan antikor

- *Candida* hücre duvarının önemli bir molekülü
- *Candida albicans*'da kuru ağırlığının %7
- Mannan ve anti-mannan antikorlarını tespit için değişik yöntemler
- Son olarak ELISA
- Mannan antijenemisi, anti-mannan varlığında azalıyor
- Kombine kullanımı
- Seri kullanımı
- ECIL kronik dissemine kandidoz ve kandidemi beraber kullanılması (BIII ve CII)
- ESCMID: Kandidemi ve kronik dissemine kandidozda «recommended II»

Mannan Antijeni ve Anti-mannan Antikoru

Mannan antijeni

- <62,5 pg/ml negatif
- 62,5-125 pg/ml ara deęer
- >125 pg/ml pozitif

Anti-mannan antikoru

- < 5AU/ml negatif
- 5-10 AU/ml ara deęer
- ≥10 AU/ml pozitif

- Mannan antijeninin SUT karşılığı var
- Özgüllük ve duyarlılık ile ilgili sıkıntılar var

14 Çalışma, 453 hasta, 767 kontrol

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

European Conference on Infections
in Leukemia (ECIL)

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

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=BOS kültür (%97)
- Hem serum, hem BOS'da kullanılması AI
- Tedavi izlemin serum CIII, BOS BIII

Moleküler Testler

- PCR'a dayalı testler
 - Standart PCR
 - PCR-ELISA
 - Nested PCR
 - Real-time PCR

- Artmış duyarlılık
- Kısalmış zaman

PCR için Örnek Seçimi

- Doku
- Steril vücut sıvıları (BOS vb.)
- Bronkoalveolar lavaj (BAL)
- Kan fraksiyonları (serum, plazma, tam kan)
 - Tam kan=serum
 - Costa C, et al. Real-time PCR coupled with automated DNA extraction and detection of galactomannan antigen in serum by enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2002; **40**: 2224–27.
 - Tam kan>serum
 - Loeffler J, et al. Comparison between plasma and whole blood specimens for detection of *Aspergillus* DNA by PCR. *J Clin Microbiol* 2000; **38**: 3830–33.
 - Anti-koagulan inhibisyonu
 - Örnek miktarı
 - Örneğin nakli

DNA ekstraksiyonu

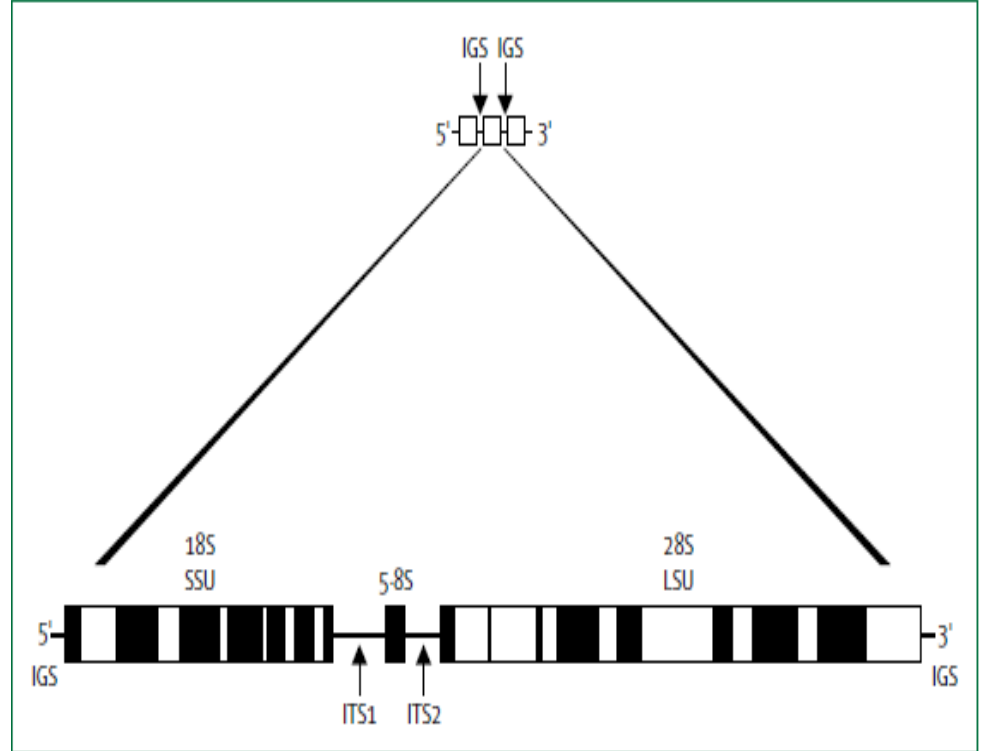
- Kandaki miktar az
 - Kandidoz > Aspergilloz
 - Aspergilloz'da <10 CFU/ml
- Örnek miktarını yüksek tutmak
- Elüsyon miktarını düşük tutmak
- Kontaminasyon önemli (yaklaşık %3)
- Negatif ve pozitif ekstraksiyon kontrollü kullanmak gerekir

DNA ekstraksiyonu

- Farklı yöntemler
 - In-house yöntemler
 - Ticari kitler
 - Qiagen QIAmp Tissue Kit [Hilden, Germany]
 - ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep (Zymo Research)
 - Otomatik ticari teknikler
 - MagNA Pure LC (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland)
- Eritrosit ve lökositlerin eritilmesi
- Hücre duvarının uzaklaştırılması
- Hücre zarının uzaklaştırılması
- Proteinlerin çöktürülerek uzaklaştırılması ve DNA'nın saflaştırılması
- Saflaştırılan DNA'nın toplanması (elution)

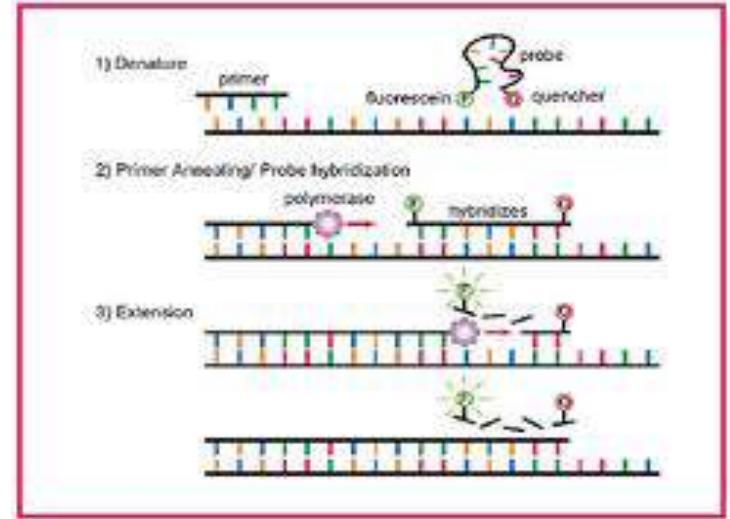
Hedef Seçimi

- rRNA operonu
 - Hem korunmuş hem değişken dizileri bulundurur
 - Gen bankalarında bu bölge dizilerine ulaşmak kolay
 - Çok tekrarı var (10^2 kopya/hücre)
- tRNA ve sitokrom b kodlayan mitokondri genleri



Hedef Seçimi

- 18S rRNA bölgesi pan-fungal
 - İnsan 18S rRNA ile homology
 - Yalancı pozitif
 - Block-based/Sybr Green-based
 - Uygun probe gerektirir
- 28S rRNA bölgesi cinse özgü diziler
- ITS bölgeleri daha çok türe özgü
 - Identifikasyonda



TaqMan® Probe Method

Genel yaklaşım pan-fungal primer kullanıp, cins ya da türe özgü probe ile tanımlama yapmak

PCR=Aspergilloz

- Tam kan/Serum
 - >40 çalışma
- Duyarlılık ve özgüllük değişken
 - %43 – 100
 - %64 – 100
- PCR pozitifliğinin belirlenmesi
 - Tek örnek
 - ≥ 2 örnek
 - Mengoli C, et al. Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis 2009; 9:89–96.

- BAL
 - Çalışma sayısı çok
- Duyarlılık ve özgüllük değişken
 - %36 - 100 /%70 – 100
- Ticari DNA ekstraksiyon protokolleri daha başarılı

İnvazif Aspergilloz GM vePCR

- Beraber kullanmak duyarlılığı, özgüllüğü bozmadan yükseltiyor
 - Avni T et al. J Clin Microbiol 2012; 50:3652–3658.
- Ampirik antifungal kullanımı ile karşılaştırıldığında maliyet-etkin
 - Morrissey CO, et al. Lancet Infect Dis 2013;13:519–528.

Aspergillus PCR – Antifungal Tedavi

- DNA salınımının kinetiği
 - Miçelin parçalanması ile salınıyor
- Antifungal kullanımı= Kan PCR duyarlılık
 - Kaspofungin ve posakonazol etkiliyor
 - Amfoterisin B etkilemiyor
- Antifungal kullanımı=BAL PCR duyarlılığı
 - Tek ilaçtan etkilenmiyor
- Antifungal tedavi esnasında negatifleşmeme kötü prognoz

Aspergillus PCR meta analiz

- Meta analiz (Kan)
 - Mengoli C, et al. Lancet Infect Dis 2009
 - Duyarlılık %75, Özgüllük %87 (çift serum)
 - Duyarlılık %88, Özgüllük %75 (tek serum)
- Meta analiz (BAL) PLoS One 6:e28467
 - Sun W et al. PLoSOne 2011; 6:e28467
 - Duyarlılık %91, Özgüllük %92

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 alınamıyor

Aspergillus PCR: One Step Closer to Standardization^{∇†}

P. Lewis White,^{1*} Stéphane Bretagne,² Lena Klingspor,³ Willem J. G. Melchers,⁴ Elaine McCulloch,⁵
Bettina Schulz,⁶ Niklas Finnstrom,⁷ Carlo Mengoli,⁸ Rosemary A. Barnes,⁹ J. Peter Donnelly,⁴
and Juergen Loeffler¹⁰ on behalf of the European *Aspergillus* PCR Initiative

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2010, p. 1231–1240

- Ekstarksiyon yöntemi önemli
 - >3ml EDTA'lı tam kan
 - Eritrosit ve lökositlerin parçalanması
 - Seramik ya da asit ile yıkanmış cam boncuklarla (710-1180µm) hücre duvarı uzaklaştırılması
 - Ticari kitler DNA'nın purifikasyonu için kullanılabilir
 - Elüsyon <100 µl
 - Negatif ve pozitif kontrollerin kullanılması
- Amplifikasyon yöntemi çok önemli değil

PCR'a Dayalı Moleküler Tanı

- Bütün dünyada tek bir PCR formatının kullanılması gerçekçi değil
 - Minimal information for publication of quantitative real-time PCR experiments (MIQE)
 - Herhangi bir real-time quantitative PCR (qPCR) deneyi tasarlama ve uygulayarak raporlama için gerekli fikir ve öneri oluşturmak. Böylece güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar almak
- MycAssay *Aspergillus* (Myconostica, Ltd)
 - 15 farklı *Aspergillus* türünü belirleyebiliyor
 - 18S rRNA genlerine özgü primer ve probe kullanıyor

White LP et al. *Aspergillus* Polymerase Chain Reaction: Systematic Review of Evidence for Clinical Use in Comparison With Antigen Testing. CID 2015; DOI: 10.1093/cid/civ507

PCR=Kandidoz

- >30 çalışma var
- Duyarlılık ve özgüllük değişken
 - % 56.2 -100 - %54-100
- Gerçek pozitif ve gerçek negatif olgu tanımlarının çok değişken olması
- Yeni çalışmalarda duyarlılık ve özgüllük
 - %95 / %92

Candida PCR meta analiz

- Avni T et al. JCM 2011 meta analiz
- Toplam duyarlılık %95, toplam özgüllük %92 olarak bulunmuş
- Proven/probabale hastalarda %85 pozitiflik
- Kan kültürü %29-46

PCR=Kandidoz

- Kan kültürlerinden tanımlamada
 - *C. glabrata*
- Direnç genlerinin belirlenmesinde
 - *FKS1* – Ekinokandinler
 - *ERG 11* aşırı ekspresyonu – Azoller
 - *ERG11* mutasyonu – Azoller
 - *CDR 1, CDR2, MDR 1* - Azoller

Meta analizler

	Duyarlılık	Özgüllük
Galaktomannan	%78	%81
BDG (<i>Aspergillus</i>)	%77	%85
PCR (<i>Aspergillus</i>)	%75	%87
Mannan-Antimannan	%83	%86
BDG (<i>Candida</i>)	%64	%84
PCR (<i>Candida</i>)	%95	%92

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
	Serum	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
	Serum	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
	Chronic disseminated candidiasis	Blood	Culture	Essential investigation	NA
			Serum	Immuno-histochemistry	No recommendation
		Serum	Tissue PCR	No recommendation	No data
			<i>In situ</i> hybridization	No recommendation	No data
			Blood culture	Essential investigation	NA
			Mannan/anti-mannan	Recommended	II
B-D-glucan			Recommended	II	
Septifast PCR kit			No recommendation	No data	
Oropharyngeal and oesophageal candidiasis	Tissue and sterile body fluids	In-house PCR	No recommendation	No data	
		Direct microscopy and histopathology	Essential investigation	NA	
	Swab	Culture	Essential investigation	NA	
		Immuno-histochemistry	No recommendation	No data	
		Tissue PCR	No recommendation	No data	
		<i>In situ</i> hybridization	No recommendation	No data	
		Culture	Essential investigation	NA	
		In-house PCR	No recommendation	No data	
		Biopsy ^b	Direct microscopy and histopathology	Essential investigation	NA
		Vaginal candidiasis	Swab/vaginal secretions	Culture	Essential investigation
In-house PCR	No recommendation			No data	
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.

^aEssential investigation means it must be done if possible.

^bOropharyngeal biopsy is not mandatory.

SONUÇ

- Kùltür ve mikroskopik inceleme bütùn kılavuzlarda önerilmekte
- IA'da GM ve kriptomkozda kapsül Ag **AII**
- BG **BII**
- Mn-Ag/A-Mn Ab **BIII ve CII**
- PCR testleri için ise henüz öneri yok

Hiç biri **AI** seviyesinde değil
Hastaların tedavi ve izleminde yararını gösteren
randomize-kontrollü çalışmalar gerekli