



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HEMATOLOJİK MALİGNİTELİ HASTALARDA İNVAZİV FUNGAL
ENFESİYONLARIN ERKEN TANISINDA BETA GLUKAN TESTİ
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Kürşad KESKİN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2009



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HEMATOLOJİK MALİGNİTELİ HASTALARDA İNVAZİV FUNGAL
ENFEKSİYOLARIN ERKEN TANISINDA BETA GLUKAN TESTİ
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Kürşad KESKİN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2009



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HEMATOLOJİK MALİGNİTELİ HASTALARDA İNVAZİV FUNGAL ENFEKSİYON-
LARIN ERKEN TANISINDA BETA GLUKAN TESTİ
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Kürşad KESKİN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fahir ÖZKALEMKAŞ

Bursa-2009

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İçindekiler.....	i
Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Genel Bilgiler.....	2
Gereç ve Yöntem.....	26
Bulgular.....	33
Tartışma ve Sonuç.....	43
Kaynaklar.....	50
Teşekkür.....	56
Özgeçmiş.....	57

ÖZET:

İnvaziv fungal enfeksiyonlar (İFE) özellikle immün sistemi baskılanmış, hematolojik maligniteli, yoğun kemoterapi alan, solid veya hemapoetik kök hücre transplantasyonu uygulanmış hasta gruplarında 1980'lerden bu yana sıklığı giderek artan, ciddi mortalite ve morbiditeye yol açan tedavisi güç ve oldukça pahalı enfeksiyonlardır. Aynı zamanda bu hasta gruplarında, altta yatan ciddi hastalıklar, immün sistemin baskılanması, genel durum bozukluğu ve kanama diatezi nedeniyle tanısal tetkikler çoğu zaman yapılamamaktadır. Bu neden ile bir çok hekim tanı ve tedaviyi yönlendirecek "mükemmel" bir belirteç arayışı içerisinde. Bu belirteçler içerisinde bir çok patojen mantarın dış hücre duvarında bulunan (1 →3)β-D glucanın (BG) enfeksiyon sırasında kana salındığı ve serum düzeyinin enfeksiyonun bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada nötropenik hematoloji hastalarında İFE tanısı için BG testinin sensitivite ve spesifitesi araştırıldı. Yakın zamanda revize edilen İFE olasılık sınıflamasına göre 81 ardışık yüksek riskli tedavi epizodu gruplandırıldı ve testin tanı değeri için kullanıldı. 4 proven, 14 probable, 7 possible ve 54 İFE olmayan epizot tanımlandı. Sensitivite ve spesifite tayini için eşik değer 80 pg/ml olarak belirlendi. 80 pg/ml cut-off değeri kullanılarak en iyi sensitivite %68.75, spesifite %88.9 değerleri elde edildi.

İFE tanımlaması içerisinde hasta gruplarının heterojenitesi bu sonuçlarda etkili olmakla birlikte istatistiksel analizlerde İFE gruplarının tanımlaması ve alınan referans değerleri gibi bir çok değişkenlerden de etkilendiği görülmektedir. Başlangıçta GM çalışmalarında olduğu gibi, sensitivitenin BG için de çok yüksek olduğu ve farklı çalışmalarda farklı sonuçların ortaya çıktığını görmekteyiz. Günümüzde halen %100 sonuç veren bir non invaziv yöntem

gereksinim devam etmektedir. BG için de sonuç olarak hasta sayısının ve değerlendirmenin daha rahat yapılacağı geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu aşikardır. Yine de mevcut literatür verileri ve bizim verilerimiz bu hasta gruplarında BG testinin yardımcı bir non invaziv yöntem olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İnvaziv Fungal Enfeksiyon (İFE), (1→3)- β -D glukoz (BG), erken teşhis

THE EFFECTIVENESS OF BETA GLUCAN TEST IN EARLY DIAGNOSIS OF INVASIVE FUNGAL INFECTION IN PATIENT WITH HEMATOLOGIC MALIGNANCY

SUMMARY

Invasive fungal infections (IFI) are common, rising, challenging infections that has serious morbidity and mortality seen particularly in immunosuppressive patients with hematologic malignancy, solid organ and hematopoietic stem cell transplantation and intensive chemotherapy recipient since 1980's. It is a big problem to order further diagnostic tests for these immunosuppressed, bad general conditioned and hemorrhagic disordered patients. Because of this most of the clinicians are looking for "the best marker" to reach the diagnosis. (1→3)- β -D-Glucan (BG) is a marker which is secreted from most of pathogen fungi's wall during the infection. Serum BG level is thought to be an indicator for fungal infection.

In this study we have investigated the sensitivity and specificity of BG test for the IFI in neutropenic hematology patients. We use recently revised IFI probability classification for grouping the 81 consecutive high-risk treatment episode and diagnostic value of the test. 4 proven, 14 probable, 7 possible and 54 non-IFI episodes were defined. Threshold for sensitivity and specificity was defined as 80 pg/ml. By this cut-off level the best sensitivity and specificity was determined as 68, 75% and 88, 9% respectively.

As initial Galactomannan (GM) studies it is observed that different sensitivity values were observed in different BG studies. Today, a non-invasive test with 100% sensitivity and specificity is still needed. Obviously, comprehensive studies with large patient population are required to comment on BG. In existing literature reviews and our study shows that BG is an auxiliary non-invasive test for the diagnosis of IFI.

KEYWORDS: Invasive fungal infections (IFI), (1→3)- β -D glukan (BG), early diagnosis

1.GİRİŞ

İnvaziv fungal enfeksiyonlar (İFE) özellikle immün sistemi baskılanmış, hematolojik maligniteli, yoğun kemoterapi alan, solid veya hemapoetik kök hücre transplantasyonu uygulanmış hasta gruplarında 1980'lerden bu yana sıklığı giderek artan, ciddi mortalite ve morbiditeye yol açan tedavisi güç ve oldukça pahalı enfeksiyonlardır. Azol profilaksisi ile yüksek risk grubunda Candida enfeksiyonlarının büyük oranda önlenmesi fungal enfeksiyonlar arasında Aspergillus enfeksiyonlarının daha ön plana çıkmasına yol açmıştır. Fungal enfeksiyonlar, özellikle de Aspergillus enfeksiyonları bu hastalara hizmet veren hekimler için tam bir tanı ve tedavi ikilemi oluşturmaktadır. Aynı zamanda bu hasta gruplarında, altta yatan ciddi hastalıklar, immün sistemin baskılanması, genel durum bozukluğu ve kanama diatezi nedeniyle tanısız tetkikler çoğu zaman yapılamamaktadır. Ayrıca antifungal tedavinin kime ve ne zaman başlanacağı bu hasta gruplarına bakan hekimleri tam bir karar çıkmazına sokmaktadır. Bu nedenle bir çok hekim tanı ve tedaviyi yönlendirecek "mükemmel" bir belirteç arayışı içerisinde. Bu belirteçler içerisinde bir çok patojen mantarın dış hücre duvarında bulunan (1 →3)β-D glucanın (BG) enfeksiyon sırasında kana salındığı ve BG serum düzeyinin enfeksiyonun bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı Kliniği'nde yatan yüksek riskli hematolojik maligniteli hastalarda seri BG ölçümleri ile invaziv fungal enfeksiyonlar arasında klinik korelasyonun olup olmadığı araştırılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER:

İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar (İFE) çok geniş yelpazede immün sistemi baskılanmış hastalarda görülen fırsatçı enfeksiyonlardır. Başlıca derin mikozlar, fungemi ve endemik mikozlar başlığı altında incelense de çoğu nadir rastlanan enfeksiyonlardır. Klinik pratikte aspergillus enfeksiyonlarının çok sık rastlanması nedeniyle genel bilgiler ağırlıklı olarak bu mantar enfeksiyonuna yönelik verildi. Diğer mantar enfeksiyonlarına ise sadece tablolarda değinildi.

2.1.Aspergillus Enfeksiyonları

Aspergillus tanımı ilk olarak 1729'da Micheli tarafından yapılmış, ancak insanlardaki ilk olgular 19. yüzyılın ortalarında saptanmıştır (1). Bundan yaklaşık 100 yıl sonra, ilk kez 1953'te insanda fırsatçı bir enfeksiyon olduğu ifade edilen invaziv aspergillozis (İA) insidansı yıllar içinde giderek artmıştır (2). İA olgularındaki bu hızlı artışın nedenleri arasında kanser hastalarına daha güçlü kemoterapi rejimleri verilmesi ve bu hastaların yaşam sürelerinin uzaması, daha çok sayıda organ ve kök hücre transplantasyonu yapılmasıyla immün sistemi baskılanmış hasta sayısının artması ve graft versus host hastalığı (GVHH) olgularının artması, HIV/AIDS olgularındaki artış, otoimmün hastalıklarda immün baskılayıcı tedavinin yaygın biçimde verilmesi sayılabilir (3-5). Bunun yanı sıra, başta bilgisayarlı tomografi (BT) olmak üzere tanıya yönelik tekniklerin gelişmesi de İA tanısı konan olgu sayısının artmasında rol oynamıştır. Azol profilaksisi ile yüksek risk grubunda Candida enfeksiyonlarının büyük oranda önlenmesi fungal enfeksiyonlar arasında Aspergillus enfeksiyonlarının daha ön plana çıkmasına yol açmıştır (6).

Aspergillus türleri yeryüzünde yaygın olarak bulunan saprofitik küf mantarlarıdır. Doğal yaşam ortamları toprak ve çürüyen bitkiler olup, temel işlevleri karbon nitrojen döngüsü sağlamaktır. Saprofit olarak yaşayan bu küf mantarları uygun koşullarda bitki, hayvan ve insanlarda patojen hale geçebilirler. Üreme hız ve kapasiteleri yüksektir. Atmosfere dağılan konidyumları (aseksüel sporlar) havada asılı kalabilir, toz ve diğer parçacıklarla heryere taşınabilirler (7).

2.2 Aspergillus Türleri ve Özellikleri

İA'a yol açan türlerin görülme sıklıkları ve mikrobiyolojik özellikleri aşağıda belirtilmiştir (8):

- Aspergillus fumigatus (%90)
- Aspergillus flavus (%10)
- Aspergillus niger (%2)
- Aspergillus terreus (%2)
- Aspergillus nidulans (<%1)

Aspergillus, 2-4 µm genişliğinde, sık septalı, hifleri 45°lik açılarla dalanan, bir çoğu aseksüel olarak sporlarla çoğalan küf mantarıdır. Patojen türleri rutin mikolojik ortamlarda kolaylıkla ürer. Genellikle 36-90 saatte küçük, tüylü, beyaz koloniler görülür hale gelir . Kültür 30-37 °C'de tutulursa 36-48 saat sonra sporulasyon olur. Daha nadir görülen türlerde sporulasyon ve buna bağlı olarak mantarın tanınması gecikebilir; 24 saate kadar hif uzaması olur ve fungal kitle logaritmik olarak artar, sonrasında platoya ulaşır. Dokuda en iyi olarak gümüş boyalarıyla görülür; hemotoksilen-eozin boyasıyla görülmeyebilir. Hızlı ilerleyen hastalıkta hifler değişik genişlikte olabilir. Akciğer ve

sinüs gibi hava içeren organlar dışında dokuda sporulasyon olmadığından doku örneğinde histopatolojik olarak diğer mantarların ayrılması mümkün olmayabilir. Czapek-dox ve malt ekstresi gibi özel ortamlarda tanımlanma gerekebilir (7,9).

2.3. *Aspergillus* Türlerinin Yol Açtığı Hastalıklar

Eskiden aspergillozis terimi, *Aspergillus* ile oluşmuş herhangi bir hastalığı veya kolonizasyonu tanımlamak için kullanılırdı; ancak günümüzde invaziv veya alerjik hastalıkları belirtmek için kullanılmaktadır. Akciğer veya sinüs kavitelerinde oluşan mantar topları aspergillom olarak adlandırılır. Birden fazla organ tutulumu var ise disemine aspergillozis söz konusudur.

Aspergillus türlerinin normal ve immün sistemi baskılanmış konakta yol açtığı hastalıklar aşağıda sıralanmıştır (10):

1. Normal konakta

A. Alerjik aspergillozis

- i. Alerjik bronkopulmoner aspergillozis (ABPA)
- ii. Alerjik *Aspergillus* sinüziti/riniti/astma
- iii. Eksternal alerjik alveolitis/ hipersensitivite pnömonisi

B. Yüzeysel veya invaziv olmayan enfeksiyon

- i. Pulmoner aspergillom
- ii. Sinüs aspergillomu

C. İnvaziv enfeksiyon

- i. Otomikoz
- ii. Onikomikoz
- iii. Kutanöz aspergillozis

2. Doku zedelenmesi, cerrahi ve yabancı cisim ilişkili

A. Keratit ve/veya endoftalmit

- B. Kutanöz veya yumuşak doku enfeksiyonu (örneğin; yanık)
 - C. Cerrahi alan enfeksiyonu (örneğin; protez kapak endokarditi, karaciğer transplantasyonu sonrası yara enfeksiyonu, subdural ampiyem)
 - D. Yabancı cisimle ilişkili enfeksiyon (örneğin; kateter, vasküler greft)
 - E. Aspergillom
 - F. Osteomyelit
 - G. Ampiyem/plevral aspergillozis
 - H. Peritonit
3. Özellikle immün sistemi baskılanmış hastada
- A. Primer kutanöz aspergillozis veya mukoza aspergillozisi
 - B. Sinoorbital aspergillozis
 - C. Pulmoner aspergillozis
 - i. Akut invaziv
 - ii. Kronik nekrotizan
 - iii. İnvaziv Aspergillus trakeobronşiti
 - D. Dissemine aspergillozis
 - E. Santral sinir sistemi aspergillozisi
 - F. Gastrointestinal enfarkt

2.4. İnvaziv Aspergillozis İçin Risk Faktörleri

2.4.1. Aspergillus'a Ait Virülans Faktörleri

İnsanlar, çoğu patojen olan değişik mantar türleriyle her gün karşılaşılıyor olmalarına rağmen nadiren mantar enfeksiyonu geliştirirler. Hastaya ait risk faktörlerinin yanında mantarın virülans faktörleri de enfeksiyon gelişmesinde rol oynar. Aspergillus türlerinde çeşitli virülans faktörleri söz konusudur (11):

- Toksinler: A. flavus ve A. fumigatus'un hücre duvarında yer alan glikoproteinler endotoksin benzeri aktivite gösterir. Aspergillus enfeksiyonlarında izlenen kanama ve nekrozdan bu toksinler sorumlu olabilir. Aspergillus türlerinin salgıladığı metabolitler ve toksinler (örneğin; aflotoksin, okratoksin A, fumagillin, gliotoksin) de dolaylı olarak toksisiteye yol açabilir.
- Enzimler: A. fumigatus tarafından salınan elastazın fare modellerinde invaziv pulmoner aspergillozis (İPA) patogeneğinde rol aldığı gösterilmiştir. A. flavus metalloproteinaz yapısında elastaz ve proteinazlar salgılar. Aspergillus enfeksiyonu sırasında salınan proteazlar pulmoner epitelin dökülmesine ve proenflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açabilir.
- Demir metabolizması: Demir Aspergillus türleri için gerekli bir mikro besindir. Diğer bazı fungus türlerinde olduğu gibi Aspergillus türleri de demire karşı yüksek affinite gösteren sideroforlar salgılayarak demiri transferrinden ve depolandığı dokulardan ayırıp bağlar.

Genel olarak İA'a en sık yol açan tür A. fumigatus'tur. A. fumigatus'a patojenliğini veren özellikler aşağıda sıralanmıştır (8):

- Sporları küçük (3-5 µm) olduğu için akciğere daha kolay ulaşır,
- Büyüme hızı yüksektir,
- Laminin ve fibrinojene daha kolay bağlanır.

2.4.2. Konakçıya Ait Risk Faktörleri

Aspergillus enfeksiyonlarına karşı immün sistemin kullandığı savunma mekanizmaları çeşitlidir (8). Bunların başında; makrofajların konidya ve sporları fagosite etmesi, polimorfonükleer lökositlerin (PMN) hücreleri öldürmesi,

hiflerin ekstraselüler ortamda öldürülmesi, özellikle kronik hastalıkta T hücre fonksiyonu gelir.

İA'da en önemli savunma mekanizması nötrofil fonksiyonu ve oksidatif öldürmedir. Bu nedenle, nötrofil disfonksiyonu olan AIDS ve kronik granülomatöz hastalık gibi hastalıklarda İA insidansı artmıştır. Son zamanlarda T hücrelerin Aspergillus'a karşı immün cevaptaki rolleri de belirginleşmeye başlamıştır. Nötrofillerin uyarısıyla oluşan yardımcı T (TY) hücre cevabı, özellikle TY-1 tip cevap fagositik aktiviteyi arttırarak fungal enfeksiyonun sınırlandırılmasına yardımcı olur. Bunun yanında TY-2 aktivitesi, özellikle IL-4 ve IL-10 aracılığıyla, makrofaj ve nötrofil aktivitesini baskılayarak invazyonun ilerlemesine yol açabilir. Bu nedenle dokudaki TY-1 hücre/TY-2 hücre oranı Aspergillus enfeksiyonunun prognozunu etkileyebilir (12).

Hastanın kortikosteroid kullanımı İA açısından önemli bir risk faktörüdür. Kortikosteroidlerin Aspergillus'un büyümesini in vitro şartlarda %30-40 hızlandırdığı gösterilmiştir (13). Bunun yanında kortikosteroidler, makrofajların ve nötrofillerin antifungal aktivitelerini bozar (14).

Değişik hasta gruplarında İA insidansı değişiktir ve nötropeninin süresi ile doğru orantılı olarak artar (15,16). Hematolojik malignitelere veya aplastik anemiye bağlı uzamış nötropenisi olan, allojeneik kök hücre transplantasyonu veya akciğer transplantasyonu yapılmış olanlar, AIDS ve kronik granülomatöz hastalığı olanlar, yanık hastaları, uzun süreli kortikosteroid kullananlar yüksek risk grubunda yer alır. Her geçen gün immün baskılayıcı tedavi uygulamasının artmasıyla otoimmün hastalığı, multipl miyelomu olan hastalarda da İA görülmeye başlamıştır (12).

Allojeneik kök hücre transplantasyonu yapılmış hastalar İA açısından yüksek risk altındadır ve bu hasta grubunda insidans artmaktadır. Hazırlayıcı

rejimlerin daha yoğun immün baskılanmaya ve daha derin nötropeni dönemlerine yol açması, hastaların *Aspergillus* ile daha fazla kolonize olması, erken dönem komplikasyonların azaltılmasıyla geç döneme ulaşan hasta sayısının artması ve İA tanısının daha kolay ve erken konulması, CD34 seleksiyonu, insidans artışından sorumlu tutulan faktörlerdir (14, 17). Aktif akut veya kronik GVHH ve kortikosteroid tedavisi bu hastaların İA riskini daha da arttırmaktadır, GVHH'nın oluşturduğu riskin kortikosteroidden bağımsız olduğu düşünülmektedir. İA, allojeneik kök hücre transplantasyonu sonrası erken (ortalama 16. gün) ve geç dönemlerde (ortalama 60-100. gün) olmak üzere iki zirve yapar (14,18,19). Geç dönem enfeksiyon genellikle taburculuk sonrası ortaya çıktığı için risk faktörlerinin çalışılması ve önlenmesi güçtür. Erken dönemdeki enfeksiyonda relaps olmuş hematolojik malignite, HLA uyumsuz verici, yaz mevsimi ve laminar hava akımı olmayan şartlarda yapılmış transplantasyon anlamlı risk faktörleri olarak saptanmıştır (18).

Otolog kök hücre nakli alıcılarında İA insidansı düşüktür. Otolog transplantasyon yapılan ve İA gelişen hastaların %86'sı nötropenik dönemlerinde tanı alırken, allojeneik transplantasyon yapılan hastalarda engrafman sonrası, sitomegalovirus (CMV) enfeksiyonuna bağlı immün baskılanma dönemlerinde ve kronik GVHH'nda İA riski daha yüksektir (18, 19).

2.4.3. *Aspergillus* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Aspergillus, insanın doğal yaşam ortamında bulunur. Primer ekolojik nişi, çürümeye başlamış sebzeler ve tarlalardır. Hastane ortamında İA için en önemli çevresel risk faktörü havadaki spor yoğunluğudur. Spor yoğunluğu mevsimsel olarak değişir. Ayrıca kontamine havalandırma sistemleri ve hastane inşaatı sonucu da havadaki spor sayısı artar (20). İA genellikle nozokomiyal enfeksiyon olarak kabul edilir, ancak özellikle allojeneik kök hücre transplantasyonu sonrası geç dönemde, GVHH'na bağlı olarak gelişen İA

olgularında tanı genellikle hastane dışında konur ve bu hastalarda enfeksiyonun kaynağı tartışmalıdır (18). İA'nın enkübasyon periyodu bilinmediği için bu hastaların enfeksiyonu nereden aldıkları saptanamaz. Epidemiler sırasında genellikle havadan ve kontamine olduğu düşünülen yüzeylerden örnekler alınır, ancak kısa süreli spor yayılımına yol açan kontaminasyon kaynakları bilinmemektedir; bu da enfeksiyon kontrolünü zorlaştırmaktadır (12).

2.5. İnvaziv Pulmoner Aspergillozisin Patogenezi

Aspergillus enfeksiyonu için gerekli olan inokulum büyüklüğü belli değildir ama immün sistemi baskılanmışlarda daha düşük olduğu düşünülmektedir. Aspergillus sporlarının alınmasından İA enfeksiyonuna kadar geçen süre 36 saat ile 3 ay arasındadır. Nötropenik hastalarda belirti ve bulgular 12. günden sonra ortaya çıkar (16).

Aspergillus damarlara olan affinitesi sonucu doku düzeyinde patolojilere yol açar. İA'da Aspergillus'un en sık giriş yeri akciğerlerdir ve genellikle anjioinvaziv form görülür. İmmün sistemi baskılanmış hastada, büyük çoğunlukla damar invazyonu ve beraberindeki nekrotizan enflamasyon sonucunda enfarkt, nekroz, ödem ve kanama ile giden akut İA tablosu ortaya çıkar. Hifler radyal olarak dallanan kümeler oluşturur. Kronik İA'da ise nekrotizan granülomatöz (zaman zaman kazeifikasyon içeren) pnömoni ve alveolar konsolidasyon görülür, hifler granülomlar içinde izlenebilir. Bronkopulmoner aspergillozisin en sık görülen formları eksudatif bronşiolit ve kronik eozinofilik pnömonidir. Bronşiektazik kaviteilerin fibröz duvarları invaze olabilir, kavite veya ektazik bronşlarda yerleşen Aspergillus etrafında fibröz bir reaksiyon oluşturarak aspergillom gelişmesine yol açabilir (7, 21).

2.6. Nötropenik Konakçıda İnvaziv Aspergillozisin Klinik Tanımı

İFE tanısında halen belirsizlikler ve zorluklar mevcuttur. Hastalık tanımlarındaki belirsizlikler bir ilacın tedavi etkinliğinin araştırılmasını ve değişik merkezlerden yapılan çalışmaların beraber değerlendirilmesini olanaksız kılmaktadır. İFE'a ve dolayısıyla invaziv Aspergillus infeksiyonlarıyla ilgili tanımlara bir standart getirmek amacıyla Avrupa Kanseri Tedavi ve Araştırma Birliği (EORTC) ve Ulusal Allerji ve İnfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü (NIAID) Mantar İnfeksiyonları Çalışma grubunun (MSG) oluşturduğu İFE Grubu 2002 yılında uluslararası bir anlaşma bildirisi yayınlamıştır (23). Konak faktörleri, klinik belirti ve bulgular ile mikolojik çalışma sonuçları kriter olarak alınarak tanımlamalar yapılmıştır (Tablo-1). Kanıtlanmış (proven), yüksek olasılıklı (probable) ve düşük olasılıklı (possible) İFE tanımlamaları altında fungal infeksiyonlar sınıflandırılarak bundan sonra yapılacak klinik çalışmalarda benzer gruplar oluşturulması amaçlanmıştır. Ancak bu tanımlamalar rutin klinik pratikte antifungal tedavi başlanmasında kriter olarak kabul edilmemektedir. Kanıtlanmış enfeksiyon kategorisinin tanı kriterleri, doku biyopsisi veya iğne aspirasyonunda fungusun histopatolojik veya sitopatolojik olarak gösterilmesi veya enfeksiyon olduğu düşünülen steril bir bölgeden alınan kültürde üreme olmasıdır. İA' da kültür duyarlılığının düşük olması ve kontaminasyon veya kolonizasyon sonucu kültürlerin pozitifleşebilmesi nedeniyle kanıtlanmış İA tanımı için histopatolojik veya mikroskopik incelemenin kültür ile doğrulanması koşulu aranmamıştır.

EORTC-MSG tarafından immün sistemi baskılanmış kanserli hastalarda İA enfeksiyonunun klinik araştırmaları için standart 3 kategori belirlenmiştir. Bu amaçla tanısal kesinlik "proven", "probable", "possible" olarak tanımlanmıştır. Günlük pratikte bu terimler yaygın olarak kullanıldığı ve genel kabul gören karşılıkları olmadığından burada da aynı şekilde kullanılacaktır. Tanımlamalar 2003'de başladı ve 2005'de sonlandı. En son 2008'de revize edildi.

En son revizyonda orjinal sınıflamalar korundu. Probable tanımı genişletildi. Bu nedenle possible kategorisi daraldı (24).

Proven İFE tanısı histolojik olarak saptanmış fungus veya uygun örnekte kültür pozitifliği gerektirmektedir. Cryptococcus neoformans için Santral Sinir Sisteminde (SSS) kapsüler antijen varlığı veya pozitif hint boyası preparatları yeterlidir (24).

Probable ve possible İFE üç kriteri dayanak noktası alır;

- Konakçı faktörleri (hastaların riski),
- Klinik bulgu ve semptomların varlığı,
- Kültür ve mikroskopik analizler desteği

En son konsensus öncesine kadar yayınlanmış tanımlamalar kusursuz değildir. Örneğin possible İFE kategorisi çok fazla şüpheli olguları içermektedir. Özellikle nötropeni, nonspesifik pulmoner infiltratlar ve geniş spektrumlu antibiyoterapiye dirençli ateş ile beraber İFE kanıtı olmayan hastalar bu gruptaydı. Bu olgular İFE için yüksek risk taşımaktadırlar. Ancak possible olarak tanımlanan olgulardan farklıdırlar. Possible olgularda spesifik bulgular vardır (halo işareti, hava-hilal işareti gibi). Hatta bu tanımlamalar, mikrobiyolojik kanıt olmaksızın İFE gibi düşünüldüğü için klinik çalışmalarda benzer olguların kaydına izin verilecek şekilde modifikasyonlar yapılmıştı. Ancak bu son yaklaşımda mikolojik kanıt içermeyen daha olası olgulardan şüpheli olguları ayırmak amacı ile daha başka tanımlamaların bulunması gerekliliğinin altı çizildi. Bunun için gelişen kanıtlar, yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi değerlerine, Galaktomannan (GM), BG, PCR ile fungal DNA gibi incelemelerdir. Sonradan BG probable İFE için belirteç olarak dahil edilmiştir. Aksine PCR gibi moleküler testler ise tanımlamalara katılmamıştır (24).

Kısaca proven İFE fungal invazyonun histopatolojik veya sitopatolojik olarak gösterilmesini veya normalde steril olan ve radyolojik olarak anormal olan bölgeden alınan pozitif kültür gerektirir. Probable İFE tipik konak faktörleri olan hastalarda klinik veya mikrobiyolojik kriter olarak tanımlanır. Possible İFE ise konak faktörlerine sahip ancak mikrobiyolojik kriterlere sahip olmayan olguları ifade eder (24).

Tablo 1,2,3 ve 4'te EORTC-MSG'ye göre invaziv fungal hastalık tanı kriterleri görülmektedir.

Tablo 1. EORTC- MSG İnvaziv Fungal Enfeksiyon Tanı Kriterleri

Kanıtlanmış İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar

<p>Derin Doku Enfeksiyonları</p>	
<p>Küfler*</p> <p>Doku hasarı kanıtıyla (mikroskopik olarak veya görüntüleme) birlikte iğne aspirasyonu veya biyopsi örneğinde hif veya sferil (maya formu olmayan filamentöz mantarlar) saptanması</p> <p>VEYA</p> <p>İdrar ve müköz membranlar hariç, klinik ya da radyolojik olarak enfeksiyon ile uyumlu bulgular saptanan ve normalde steril olan bir vücut bölgesinden alınan örnekten pozitif kültür</p>	<p>Mayalar*</p> <p>Müköz membranlar hariç iğne aspirasyonu veya biyopsi örneğinde maya hücreleri ve/veya psödohiflerin görülmesi</p> <p>VEYA</p> <p>İdrar, sinüsler ve müköz membranlar hariç klinik ya da radyolojik olarak enfeksiyon ile uyumlu bulgular saptanan ve normalde steril olan bir vücut bölgesinden steril bir girişimle alınan örnekten pozitif kültür</p> <p>VEYA</p> <p>BOS’da kriptokok için mikroskopi (çini mürekkebi, müsikarmin boyası) veya antijen pozitifliği</p>
<p>Fungemi</p> <p>Küfler*</p> <p>İlgili organizmayla uyumlu klinik belirti ve bulgularla birlikte <i>Aspergillus</i> spp. ve <i>P. marneffe</i> dışındaki <i>Penicillium</i> spp. hariç pozitif kan kültürü</p> <p><i>*Mümkünse cins veya tür düzeyinde tanımlama yapın</i></p>	<p>Mayalar*</p> <p>İlgili organizmayla uyumlu klinik belirti ve bulguların olduğu hastalarda perkütan kan kültüründe <i>Candida</i> ve diğer mayaların üremesi</p>
<p>Endemik Fungal Enfeksiyonlar (Histoplazmosis, blastomikozis, koksidioidomikozis ve parakoksidioidomikozis):</p> <p>Sistemik veya sadece akciğerlerle sınırlı; fungal enfeksiyona bağlı semptomları olan bir konakçıda ilgili bölgeden yapılan kültürle kanıtlanmalı. Kültürler negatif ise veya yapılamıyorsa, serolojik destekle birlikte uygun morfolojik yapılar histopatolojik olarak gösterilmelidir.</p>	

Tablo 1. devamı

“Proven” ve “Probable” İnvaziv Fungal Enfeksiyon Kriterleri

<p>Konakçı Faktörleri</p> <ol style="list-style-type: none">1. Nötropeni: 10 günden uzun süreyle PMN<500/mm³2. Yüksek riskli hastalarda geniş spektrumlu uygun antibakteriyel tedaviye yanıt vermeyen 96 saatten uzun süren persistan ateş3. Vücut ısısının >38°C veya <36°C olması VE aşağıdaki predispozan nedenlerden herhangi biri :<ol style="list-style-type: none">a. Son 60 gün içinde uzun süren nötropeni (>10 gün)b. Son 30 gün içinde anlamlı immunosupresif ajan kullanımıc. Daha önceki bir episodda kanıtlanmış veya yüksek olasılıklı invaziv fungal enfeksiyond. Birlikte semptomatik AIDS bulunması4. GVHH belirti ve bulguları5. Son 60 gün içinde uzun süreli (>3 hafta) kortikosteroid kullanımı <p>Mikrobiyolojik Kriterler</p> <ol style="list-style-type: none">1. Kültürde küf (<i>Aspergillus</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Zygomycetes</i>, <i>Scedosporium</i> spp. dahil) üremesi Balgam, BAL örneklerinden <i>C. neoformans</i> veya endemik bir fungal patojen üremesi2. Sinüs aspiratının kültüründe küf üremesi veya sitoloji/direkt mikroskopide küf saptanması3. Balgam, veya BAL örneklerinde sitoloji/direkt mikroskopide küf veya <i>Cryptococcus</i> saptanması4. BAL, BOS veya ≥ 2 kan örneğinde pozitif <i>Aspergillus</i> antijeni,5. Kanda kriptokokkal antijen pozitifliği6. Steril vücut sıvılarının sitoloji/direkt mikroskopisinde fungal elemanlar7. İdrar kateteri olmadığı durumlarda iki idrar kültüründe maya üremesi8. İdrar kateteri olmadığı durumlarda idrarda <i>Candida</i> silendirleri9. Kan kültüründe <i>Candida</i> spp. üremesi10. Kan, idrar veya BOS örneklerinde <i>Histoplasma capsulatum</i> antijen testi pozitifliği
--

Tablo 1. Devamı	
Klinik Kriterler	
Mikrobiyolojik kriterlerin yeriyile ve halihazırdaki episodla ilişkili olmalı	
Majör	Minör
<p>Alt solunum yolları enfeksiyonu</p> <p>BT görüntülemesinde aşağıdaki yeni infiltrasyonlardan herhangi biri: halo belirtisi, hava-hilal belirtisi veya konsolidasyon alanında kavite</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. ASYİ semptomları (öksürük, göğüs ağrısı, hemoptizi, dispne) 2. Plevral frotman bulgusu 3. Majör kriter oluşturmayan yeni infiltrasyon 4. Plevral effüzyon
<p>Sinonazal Enfeksiyon</p> <p>Sinüslerde invaziv enfeksiyon düşündüren radyolojik bulgular (ör: sinüs duvarlarının erozyonu, enfeksiyonun komşu yapılara geçmesi, yaygın kafa kaidesi harabiyeti)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Üst solunum yollarına ilişkin semptomlar (burun akıntısı, burun tıkanıklığı vb.) 2. Burunda ülserasyon veya nazal mukozada eskar veya epistaksis 3. Periorbital şişlik 4. Maksiller hassasiyet 5. Sert damakta siyah nekrotik lezyon veya perforasyon
<p>Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonu</p> <p>SSS enfeksiyonunu düşündüren radyolojik bulgular (ör: mastoidit veya diğer parameningeal odaklar, ekstradural ampiyem, intraparenkimal beyin veya spinal kordda kitle lezyonu)</p>	<p>(Kültür ve mikroskopide BOS'da başka patojenlerin ve malign hücrelerin saptanmaması)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Fokal nörolojik semptomlar ve belirtiler (fokal nöbetler, hemiparezi ve kranial sinir paralizileri dahil) 2. Mental değişiklikler 3. Meningeal irritasyon bulguları 4. BOS biyokimyası ve hücre sayısında anormallikler (Kültür ve mikroskopide başka bir etkenin olmaması ve malign hücre saptanmaması koşuluyla)
<p>Dissemine Fungal Enfeksiyon</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Başka bir şekilde açıklanamayan papüler veya nodüler deri lezyonları 2. Hematojen fungal koryoretinit veya endoftalmi düşündüren intraoküler bulgular 	
<p>Kronik Dissemine Kandidiyasis</p> <p>Karaciğerde ve/veya dalakta BT, MRG veya USG ile gösterilen küçük, periferik hedef-benzeri lezyonlar ("Bull's eye") ve alkalin fosfataz yüksekliği</p>	
<p>"Düşük olasılıklı" Kandidemi</p> <p>Kan kültüründe <i>Candida</i> üreyen hastada enfeksiyon belirtisi veya bulgularının olmaması</p>	

TABLO 2. Proven İnvaziv Fungal Hastalık (endemik mikozlar hariç) (EORTC/MSG 2008)

ANALİZ	KÜF	MAYA
MİKROSKOPİK ANALİZ: (STERİL MATERYAL)	Histopatolojik veya direkt mikroskopik incelemelerde, ince iğne aspirasyonu veya biyopsi örneklerinin immünohistopatolojik, sitopatolojik incelenmesinde hif veya maya formlarının doku hasarı ile saptanması	Steril bölgelerden alınan (müköz membranlar hariç) biyopsi veya inceiğne aspirasyon biyopsi örneklerini histopatolojik, sitopatolojik veya direkt mikroskopik incelemelerinde maya hücrelerinin (Cryptococcus için kapsül antijeni, Candida için pseudohif veya gerçek hifaların) varlığı
KÜLTÜR(STERİL MATERYAL)	Steril prosedürlerle normal steril veya klinik veya radyolojik olarak anormal infekte alanlardan (bronko-alveolar lavaj, kraniyal sinüs kavimleri ve idrar örneği hariç) alınan örnekte küf formlarının gözlemlenmesi	Steril prosedürlerle normal steril veya klinik veya radyolojik olarak anormal enfekte alanlardan alınan örnekte maya formlarının gözlemlenmesi
KAN	Kan kültüründe üreme (örneğin Fusarium türleri)	Kan kültüründe üreme (Cryptococcus veya candida) veya maya benzeri fungus üremesi (Trichosporon)
SEROLOJİK ANALİZ	Uygun değil	Cryptococcal antijen (Beyin Omurilik sıvısında)

TABLO 3. Endemik Mikozis Dışında “Probable” İnvaziv Fungal Hastalık Kriterleri (EORTC-MSG 2008)

KONAKÇI FAKTÖRÜ;

- Nötropeni; 10 günden uzun süre ile PMN <500/mm³
- Allojenik kök hücre transplant öyküsü
- Uzun süreli kortikosteroid kullanımı (ortalama minimum doz 0.3 mg/kg/gün dozunda ve >3 hafta süre ile)
- T hücre immünoşüpresanları ile tedavi alan (örneğin siklosporin, TNF alfa blokerleri, spesifik monoklonal antikörleri örneğin alemtuzumab gibi veya nükleozid analogları ile tedavi) hastalar
- Ciddi immün yetmezliği olan (örneğin kronik granülomatöz hastalık, ciddi kombine immün yetmezlik gibi) hastalar

KLİNİK KRİTERLER;

- Alt solunum yolu fungal hastalık;
Bilgisayarlı tomografide 3 bulgudan biri;
 1. Dens iyi sınırlı lezyon (halo işareti ile birlikte veya değil)
 2. Hava-hilal işareti
 3. Kavite
- Trakeobronşitis;
Trakeobronşial ülserasyon, nodül, pseudomembran, plak veya bronkoskopik görüntülemelerde eskar
- Sinozal enfeksiyon;
Görüntülemelerde sinüzit ile birlikte 3 bulgudan biri;
 1. Akut lokalize ağrı
 2. Nazal ülser siyah eskar ile birlikte
 3. Paranasal sinüslerde kemik bariyere doğru genişleme, orbitaya ilerleme
- Santral sinir sistemi enfeksiyonu;
Bulgulardan biri;
 1. Görüntülemelerde fokal lezyon varlığı
 2. BT, MRI’de meningeal tutulum
- Dissemine kandidiazis;
Kandidemi epizodundan 2 hafta öncesinden 2 bulgudan birisinin olması;
 1. Küçük hedef benzeri kitlelerinin (boğa gözü) dalak veya karaciğerde olması
 2. Oftalmolojik muayenede progresif retinal eksudasyon varlığı

MİKOLOJİK KRİTERLER;

- Direkt test (sitoloji, direkt mikroskopi veya kültür)
Küf için balgam, bronkoalveoler lavaj sıvısı, bronşial fırça veya sinüs aspirat örneklemesinden birinde;
 1. Küfe ait fungal elementlerin varlığı
 2. Kültürde küf üremesi (örneğin, Aspergillus, Fusarium, Zygomycetes veya Scedosporium türleri)
- İndirekt test (antijen veya hücre duvar yapılarını belirlemek)
Aspergillozis
 1. Plazma, serum, bronkoalveoler lavaj sıvısı veya beyin omurilik sıvısında galaktomannan antijeninin varlığının tesbiti
Cryptococcus ve zygomycosis dışında oluşan diğer invaziv fungal hastalıklarda;
Serumda β-D-glucan varlığı

Tablo 4. İFE tanımlamaları

Kanıtlanmış İFE: (Proven)	Steril olarak alınan infekte dokunun histopatolojik incelemesinde pozitiflik ve/veya aynı örnekten pozitif kültür
Yüksek olasılıklı İFE: (Probable)	İFE için klinik kriterler ve/veya İFi düşündürülen radyolojik bulgular ve hastalık bölgesinden pozitif kültür (balgam, bronko-alveolar lavaj sıvısı bronşial fırça veya sinüs aspirat gibi steril kabul edilmeyen örneklerde) ve pozitif seroloji (galaktomannan, β -glukan)
Düşük olasılıklı İFE: (Possible)	İFE için klinik kriterler ve/veya İFE düşündürülen radyolojik bulgular

2.7. İnvaziv Aspergillus Enfeksiyonlarında Tanı

2.7.1. Radyolojik Tanı

İA'da fungusun giriş yerinin genellikle akciğer olmasına karşın akciğer grafisi yeterli bilgi vermez ve çoğu zaman normal olabilir. Akciğer, sinüs ve beyinde İA'dan şüpheleniliyorsa, tanının düşünüldüğü andan itibaren 24 saat içinde yapılan BT veya MRI ile görüntülenmesi, tanı için geçen zamanı altı günden bir güne indirebilir (25).

İPA'un tanısında, özellikle de erken dönemde şüphesiz ki radyolojik tetkiklerin önemi fazladır. Özellikle yüksek çözünürlüklü BT (HRCT) akciğer-

deki Aspergillus infeksiyonunun erken dönem bulgularının görüntülenmesinde değerlidir. Anjiyoinvaziv hastalıkta orta veya geniş çaplı arterlerin fungal hif tıkaçları ile tıkanması sonucunda kanamalı, enfekte enfarktlar gelişir. Bunun sonucunda da İPA'nın göstergesi olarak kabul edilen iki radyolojik işaret ortaya çıkar: "halo" işareti ve "hava-hilal" işareti. "Halo" işareti nodüler bir infiltrasyon ve çevresinde buzlu cam dansitesinden oluşur. İPA'nın erken bulgusu olarak nötropenik dönemde %95-96 oranında görülür (26, 27). Ortadaki infiltrasyon santral fungal nodülün, çevredeki halo da kanama ve koagülasyon nekrozunun göstergeleridir. Nekroz ilerleyip kavitasyona giderken, nodülün kontrakte olmasıyla "hava-hilal" işareti oluşur. Nötropeniden çıkan hastada İPA'nın geç dönem işareti olarak görülen "hava-hilal" işareti, İPA için özgül olmamakla beraber özellikle hematolojik maligniteli hastalarda büyük olasılıkla fungal enfeksiyonun göstergesidir (28).

Seri BT'ler ile hastanın izlenmesi ve mümkün olursa erken dönemde cerrahi tedavi ile kombine edilmesi İPA'lı olgularda prognozu iyileştirmektedir (26).

2.7.2. Mikrobiyolojik Tanı

Taze yaymanın doğrudan incelemesinde potasyum hidroksit tek başına veya kalkuflor beyaz ile beraber kullanılabilir (25). Doku örneklerinde ise Gomori metanamin gümüş boyası en iyi görüntülemeyi sağlar. Periyodik asid Schiff boyası septalı hifleri gösterebilir. Hematoksilen-eozin ile canlı doku bazofilik, ölü doku eozinofilik olarak izlenebilir ancak güvenilir değildir. Akut İA'da tipik hyalin septalı hifler paralel veya radyal olarak uzanım gösterebilir. Aspergillomda ise genellikle birbirinin içine girmiş hifler şeklinde görülür. Kronik formlarda hifler tipik yapılarını kaybederek şişer ve septaları belirsizleşebilir. Fusarium ve Scedosporium türleri benzer mikroskopik görünüme sahiptir; bu, ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır.

Mikrobiyolojik tanı için örnek alınan bölge kültürün duyarlılık ve özgüllüğünü belirleyen faktörlerdendir. Hastanın trombositopenisi, hipoksemisi ve kritik durumu sebebiyle invaziv işlemler genellikle yapılamaz ve bu da antemortem tanı konulmasını zorlaştırır (29).

Kan, BOS ve kemik iliği örneklerinden yapılan kültürlerde *Aspergillus* nadiren ürer. *Aspergillus* türleri anjioinvaziv olmalarına rağmen tüm İA olgularının %10'undan az bir bölümünde kan kültürü üremesi mevcuttur (30). Biyopsi, transtrakeal aspirasyon ve balgam örnekleri kullanılabilir ancak müköz membran ve deriden alınan yaymalar uygun değildir. Steril olmayan bir bölgeden alınan kültürde üreyen izolatın etken olup olmadığını belirlemek her zaman mümkün olmaz. Lösemi, kök hücre transplantasyonu alıcıları gibi ciddi immün sistem baskılanması olan yüksek riskli hastalardan alınan örneklerdeki üremeler %80-90 oranında invaziv hastalık göstergesidir (25). Biyopsi ile alınan kültürlerdeki üreme daha değerlidir, ayrıca biyopsi histopatolojik doğrulamaya olanak verir. İA'da kan kültürünün yararı çok sınırlıdır. Örnekler optimal olarak 28-30°C'de besiyerlerine ekilmelidir. Vücut ısısında veya yakınında (35-37°C) üreyen türlerin patojen olma olasılığı daha yüksektir. Kültür üremeleri her ne kadar kontaminasyon sonucu olabilirse de hasta ve risk faktörleri de göz önüne alınarak mutlaka kolonizasyon ve invaziv hastalık açısından değerlendirilmelidir.

2.7.3. Serolojik Tanı

Antikorlar

Aspergillom ve ABPA olgularında serumda IgG tipinde presipite edici antikorlar saptanabilir (31). ABPA olgularında tanıya yardımcı olarak *Aspergillus* antijeni ile pozitif deri reaksiyonu, IgE düzeylerinde artış ve özgül IgE molekülleri de bulunabilir. *Aspergillozis* olgularında oluşan antikorlar saf-laştırılmış veya rekombinant antijenler kullanılarak saptanır. Antijenlerin hazırlanmasındaki değişkenlikler ve diğer antijenlerle rastlanan çapraz reaksi-

yonlar sebebiyle henüz standart bir antijen yoktur. Antikor pozitifliği aspergillom ve ABPA olgularında yol gösterici olmasına rağmen, İA'nın görüldüğü immün baskılanmış hastalarda antikor cevabı oluşmayabileceğinden antikor negatifliği tanının dışlanmasında güvenilir bir gösterge değildir. Öte yandan, Aspergillus türlerinin doğada sık bulunmasından dolayı bazal bir antikor pozitifliği olabilir. Değişik fungus ve bakterilerle olan çapraz reaksiyonlar da yalancı pozitifliğe yol açabilir.

Moleküler biyoloji teknikleri ile rekombinant *A. fumigatus* antijenlerinin ve bunları kullanan ELISA yöntemlerinin geliştirilmesi ile antikorların daha seçici kantitasyonu mümkün olabilecektir.

Antijenler

Fungal infeksiyonların tanısında dayanıklı olmaları ve örneklerin işlenmesi sırasında bozulmamaları nedeniyle karbonhidrat antijenler kullanılır.

Glukan

Glukozun (1→3)-β-D bağlı polimeri olan glukan *Zygomycetes* ve *Cryptococcus neoformans* dışındaki fungusların hücre duvarında bulunan yapıdır (42). BG saptanmasında kullanılan 3 ticari kit mevcuttur. Fungitell (Associates of Cape Cod Inc., East Falmouth MA), Fungi Tec G (Seikagaku Kogyo Corporation, Tokyo) ve türbidimetrik test Wako-WB003 (Wako Pure Chemical Industries, Osaka). Bütün bu testler "horseshoe crab" (atnalı yengeci) hemolenfinin glukan varlığında koagülasyon yolağında G proteini aktive etmesi özelliğine dayanır. Eser miktarda BG ile karşılaşan atnalı yengeci

amebositleri degranüle olarak aktif serin proteazlara (faktör G) dönüşen zimojenleri salıverir. Kromojenik testlerde aktive pıhtılaşma enzimi kromojenik substrat p-nitro anilidini ayırır ve bu salıverme 405 nm'de absorbans ile ölçülebilir. FDA tarafından tanıda yardımcı bir test olarak onaylanan glukon testi ile deneyim nispeten kısıtlıdır. 60 pg/ml eşik değerinde haftada 2 kez örnekleme için negatif prediktif değeri %100 olarak saptanmıştır (34). Test sonuçları profilaktik veya empirik antifungal kullanımından etkilenmemektedir. Ancak galaktomannanda olduğu gibi araştırma popülasyonunun heterojenliğinin sonuçları etkilediği ifade edilmiştir. Yapılan bir çok araştırmalar, endotoksinsiz, glukansız cam gereç kullanma zorunluluğu, albumin, immünglobulinlerle yalancı pozitif sonuçlar, bazı ilaçlarla çapraz reaksiyon ve gram pozitif bakteremide yalancı pozitiflik gibi test ile ilgili bazı güçlükleri göstermiştir (33). Aspergillus ve Candida gibi sık görülen patojenler bu yöntemle pozitif sonuç verir. Hematolojik malignensili hastalarda yapılan bir çalışmada duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %90 ve %100 olarak bildirilmiştir (32).

Galaktomannan

Aspergillus'un hücre duvarına özgü bir polisakkarittir. Yapısı, α -mannoz rezidülerinden oluşan bir temel zincir ve kısa $\beta(1,5)$ -galaktofuranoz rezidülerinden oluşan yan zincirlerden oluşmaktadır (35). GM antijenin Aspergillus enfeksiyonunun ve doku invazyonunun göstergesi olabilecek bir parametre olduğunun anlaşılmasından bu yana enzim immunoassay, radyoimmunoassay ve lateks agglutinasyonu gibi değişik yöntemler geliştirilmiştir.

Lateks Aglütinasyonu

GM'a karşı oluşturulmuş olan monoklonal EB-A2 antikoruna, lateks aglütinasyonu ile serumda GM saptanması için kullanılmıştır. Duyarlılığı %70 ve özgüllüğü %86 dolaylarında bildirilmiştir (36).

ELISA

Lateks aglütinasyonunda olduğu gibi monoklonal antialaktomannan antikoruna EB-A2, *Aspergillus* GM'ının (1→5)-β-D-galaktofuranosid yan zincirini tanıır. Bir GM molekülünde bir çok (1→5)-β-D-galaktofuranosid epitopuna olmasından yola çıkarak monoklonal EB-A2 antikorunun hem yakalayıcı hem de peroksidaz ile işaretleyici olarak iki taraflı kullanıldığı sandviç ELISA yöntemi (Platelia® *Aspergillus*; Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, Fransa) geliştirilmiştir (37). Bu yöntemle GM saptanma eşiği 1.0 ng/mL⁻¹ e kadar düşürülmüş, lateks aglütinasyonuna göre serum GM seviyeleri 10-15 kat daha duyarlı olarak ölçülebilmektedir. Lateks aglütinasyonu ile karşılaştırıldığında yüksek duyarlılığının yanında, özellikle ardı ardına iki pozitiflik kriter alındığında özgüllüğü de yüksektir. Seri örneklemelerde lateks aglütinasyona göre 5 gün kadar daha erken tanı koydurucu olabilir. Ancak duyarlılıktaki artışla beraber yalancı pozitiflik de artmaktadır (36).

2.10.6. Moleküler Tanı

İA olgularındaki yüksek mortalite nedeniyle daha gelişmiş, seçici, duyarlı ve tekrarlanabilir tanısal testler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Böylece hastalara erken tanı konularak uygun tedavi başlanabilecek ve bir yandan da enfeksiyonu olmayan hastaların gereksiz yere empirik tedavi alması önlene-

bilecektir. PCR teknikleri de bu savdan yola çıkılarak klinik uygulamaya girmiştir, ancak standart bir yöntem tanımlanmadığından bu testlerin tekrarlanabilirliği ve karşılaştırılması zordur. Başlangıçta tek bir cins veya türü hedef alan primerler kullanılırken günümüzde panfungus PCR, 18s ribozomal DNA gibi tüm funguslarda korunmuş bir gen sekansı hedeflenerek, hasta serumundaki fungal etkenler belirlenip tür düzeyinde tanımlanabilmektedir (29). Konvansiyonel PCR 10 fg *Aspergillus* DNA'sını tespit edecek kadar duyarlıdır ancak kantitatif bilgi vermez (38). Gerçek zamanlı PCR yönteminde floresan ile işaretlenen amplikonlar eş zamanlı olarak kantitasyona olanak sağlamaktadır. Kantitasyon, floresan sinyalinin bazal sinyali geçtiği eşik değerine göre yapılmaktadır. Sekansa özgü hibridizasyon problemleri ile floresan rezonans enerji transfer sistemi kullanılarak PCR ile özgüllük artırılmaktadır (39).

Kan, idrar, bronko-alveolar lavaj (BAL) sıvısı, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve doku örnekleri gibi değişik örneklerde PCR ile *Aspergillus* DNA'sı saptanabilir. *Aspergillus* DNA'sı, çıplak DNA şeklinde olabileceği gibi nötrofil ve eritrositlere bağlı veya fagositik hücrelerin içinde dolaşabilir (40). Fungal DNA'nın hangi formda salındığı ve kanda dolaştığı tam olarak bilindiği zaman ideal örnek hazırlama ve PCR tekniklerinin geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

Gerçek zamanlı PCR teknikleri sayesinde 13.2 fg *A. fumigatus* genom DNA'sı veya 1-5 CFU/ml tespit edilebilmektedir. Gerçek zamanlı PCR'in İPA tanısındaki değerinin araştırıldığı ilk çalışmada PCR, galaktomannan ELISA ve plasma (1→3)-β-D-glukan ölçümleri karşılaştırılmıştır (41). Duyarlılıklar sırasıyla %79, %58, %67; özgüllükler ise %92, %97 ve %84 olarak bulunmuştur. Gerçek zamanlı PCR'in pozitif ve negatif prediktif değerleri ise sırasıyla %79 ve %92 olarak saptanmıştır. Gerçek zamanlı PCR ile *Aspergillus* DNA'sının kantitasyonu mümkün olduğundan geçici *Aspergillus* antijenemisi ile gerçek İA'nın ayrımı mümkün olabilir (38).

Fungusun ortama büyük miktarlarda antijen saldığı durumlarda GM antijeninin PCR ile DNA tespitinden daha yüksek oranlarda saptandığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu gibi durumlarda GM antijeni ile PCR'ın beraber pozitifliği İA tanısının güvenirliğini arttırabilir (42).

Konvansiyonel PCR ile GM ELISA testlerinin *Aspergillus* enfeksiyonlarının alt gruplarında karşılaştırıldığı bir çalışmada ise İPA'lı hastaların tmninde (n=4) hem PCR hem de ELISA pozitif sonuç verirken aspergillom, *Aspergillus* piyotoraks ve ABPA'da PCR'ın GM ELISA'dan üstün olduğu görülmüştür (43).

İA büyük çoğunlukla primer bir akciğer enfeksiyonu olarak geliştiği için bronkoalveolar lavaj örneklerinde *Aspergillus* DNA tespitinin hem hızlı hem de düşük fungal yükü tespit edebilme avantajı ile etkin bir yöntem olacağı düşünülmüştür (44).

GEREÇ VE YÖNTEM

01 Nisan 2008 tarih, 2008-7/40 no'lu etik kurul kararı ile onay verilen "Hematolojik maligniteli hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların erken tanısında beta-glukan testi etkinliğinin araştırılması" isimli bu çalışmada Nisan 2008 ve Ocak 2009 tarihleri arasında invaziv fungal enfeksiyon riski artmış olan 45 hastadaki 81 ardışık tedavi epizodu prospektif olarak izlendi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri şunlardı;

1. 18 yaş üzeri olanlar
2. Hematolojik malignitesi nedeniyle kemoterapi uygulanan veya immünosüpresif tedavi alan, uygulanan kemoterapi rejimi ile 14 günden uzun nötropeni süresi beklenen olgular
3. Yüksek doz kemoterapi alanlar veya genel durum bozukluğu veya ileri yaş gibi nedenlerle yüksek doz kemoterapiyi tolere edemeyeceği için daha düşük yoğunluklu tedavi planlanan ancak hastalığının seyri nedeniyle nötropenisinin iki haftadan uzun sürmesi öngörülen akut lösemi veya yüksek riskli myelodisplastik sendrom olguları
4. Daha önceden çalışmaya alınmamış olanlar veya daha önceden çalışmaya alınmış olsalar da önceki kemoterapisini başarılı bir şekilde tamamlayanlar
5. İnvaziv fungal enfeksiyon ile ilgili hiçbir klinik, laboratuvar ve görüntüleme bulgusu olmayan ve yeniden konsolidasyon amaçlı kemoterapi verilenler
6. Yazılı onam veren hastalar

Dışlama kriterleri şunlardı;

1. 18 yaş altı olanlar
2. Hematolojik malignite dışında nötropenisi ve ateşi olanlar

3. Standart tedavi alan ve beklenen nütropeni süresi 14 gün ve altında olan lenfoma ve miyelom olguları
4. Düşük yoğunluklu kemoterapi alan, ancak genel durumu bozuk ve beklenen yaşam süresi 1 ayın altında olan hematolojik maligniteli olgular
5. Son 1 ay içerisinde profilaksi veya tedavi amacı ile antifungal ilaç almış olanlar
6. Yazılı onam vermeyen hastalar

Hastalar hastanede yattıkları süre boyunca sinopulmoner semptom ve bulguların tespiti için yakından izlendiler. Bu amaçla günlük fizik muayeneleri yapılarak, günde en az dört kez olmak üzere aksiler ateş ölçümü ve diğer vital bulgu izlemleri yapıldı. Haftada bir kez çekilen göğüs x-ray grafileri, ateşli süre boyunca gerektiğinde daha sık olarak incelendi.

Hastaların ateşli olduğu dönem içerisinde ve klinik endikasyon olduğunda kan, balgam, boğaz, idrar, ve gerekirse dışkı kültürleri alındı. Eğer tomografilerinde infiltrasyon varsa klinik olarak uygun olan hastalardan kültür amaçlı bronko-alveoler lavaj örnekleri alındı.

İnvaziv fungal enfeksiyon klinik şüphesi olan hastalara pulmoner enfeksiyon belirtileri olduğu veya geniş spektrumlu antibiyotiklere rağmen ateşleri devam ettiği dönemde tanı amaçlı yüksek rezolüsyonlu akciğer bilgisayarlı tomografisi veya gerekirse sinüs bilgisayarlı tomografileri (BT) çekildi. İnfiltrasyon saptanan hastalar 15-30 gün ara ile kontrol BT'leri çekilerek izlendiler.

Fungus için kültürler Chromagar veya Sabouraud agar üzerine klinik örnek yayılarak yapıldı ve 2 gün 37 ° C'de ve 19 gün oda ısısında enkübe edildi. Kültür ortamındaki karakteristik özellikleri ve morfolojilerine göre tanımlandı.

Histopatolojik örnekler hifa invazyonunun tespiti için Periodic Acid-Shiff veya Gomori methenamin gümüş boyası ile boyandı.

Tüm hastalardan alınan veriler Avrupa Kanseri Tedavi ve Araştırma Birliği (EORTC) ve Ulusal Allerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü (NIAID) Mantar Enfeksiyonları Çalışma grubunun (MSG) tanı kriterleri doğrultusunda değerlendirildi.

Çalışma boyunca ölen hastaların yakınları ile otopsi izni için konuşuldu. Ancak hiçbir hasta yakınından izin alınamadı.

Hasta epizotları; kemoterapi sonrası nötropeni dönemi ve bu dönemde ortaya çıktı ise ateş ve/veya enfeksiyon belirtisi ve bulgularının sonlanmasına kadar olan periyot olarak tanımlandı.

Hastalar hastaneye yatırıldıkları günden itibaren serum galaktomannan ve BG seviyelerinin ölçümü amacıyla haftada 2 kez serum örnekleri alındı.

Galaktomannan (GM) Antijen Testi: Hastalardan haftada iki kez taburcu olana veya ölene kadar alınan kan örnekleri steril bir şekilde laboratuvara gönderildi. Kan örneklerinin serumları ayrıldı. Serum örnekleri GM testi çalışılana kadar -70 ° C'de saklandı. Toplanan örnekler, üretici firmanın (Platelia ®

Aspergillus; Bio-Rad Laboratories, Marnes-la- Coquette, Fransa) önerisi doğrultusunda tek basamaklı sandviç enzim immün assay (EIA) tekniği ile çalışıldı. İlk işlem olarak, oluşmuş immün kompleksleri çözmek için 300 µl örnekler 100 µl %4'lük EDTA solüsyonu ile karıştırıldı . Üç dakika 100 °C'de inkübe edildikten sonra 10.000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant başka bir tüpe alınarak işleme hazır hale getirildi. Sıçanlardan elde edilmiş monoklonal anti-GM EB-A2 antikoru ile kaplı ELISA plağının çukurlarına, 50 µl hazırlanmış örnekler eklendi. Daha sonra peroksidaz ile işaretli konjugat (anti-GM EB-A2 antikoru) da çukurlara 50 µl olacak şekilde eklendi ve 90 dakika 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra beş kez yıkama yapıldı. Yıkama aşamasından sonra plakların içine 200 µl kromojen-substrat solüsyonu eklendi ve 30 dakika karanlıkta oda ısısında bekletildi. Reaksiyon durdurulduktan sonra sonuçlar 450/620 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Her çalışmada pozitif, negatif ve cut-off kontroller kullanıldı ve örneklerin optik dansitesi cut-off kontrollerin optik dansitesine oranlanarak indeks değeri hesaplandı. İndeks değeri ≥ 0.5 olan örnekler pozitif olarak kabul edildi.

β -D-Glukan (BG) Testi: Hasta grubu ve kontrol grubundan alınan kan örneği steril koşullarda laboratuvara gönderildi. Kan örneğinin serumları ayrıldı. BAL sıvısı ve serum örnekleri çalışılana kadar -70°C 'de saklandı. Toplama, saklama ve çalışma sırasında kullanılan tüp ve diğer malzemelerin entoksin ve BG içermeyen malzeme olmasına dikkat edildi. Daha sonra tüm örnekler üretici firmanın (Fungitell assay; Cape-Cod Inc, USA) önerisi doğrultusunda çalışıldı. Öncelikle test sonuçlarının yorumlanmasında kullanılacak olan grafiğin oluşturulması için gerekli standartlar hazırlandı. Böylece 100pg/ml, 50pg/ml, 25pg/ml, 12.5pg/ml ve 6.25pg/ml BG içeren standart serumlar oluşturuldu. Daha sonra hasta serumları, üçlü heliks şeklinde bulunan BG'ı daha aktif olan tek zincir BG'a çevirmek için işleminden geçirildi. Bu amaçla eşit miktarda 0,25M KOH ve 1,2M KCl kullanıldı. Mikroplak kuyularına 5 µL serum veya BAL örneği ve üzerine 20 µl karışım konarak 10 dakika 37 °C'da tutuldu. Bu karışım, yukarıda bahsedildiği gibi eğer serumda varsa üçlü heliks BG'ı

daha aktif olan tek zincir BG'a çevirdi. Ayrıca bu karışımın pH'sının yüksek olması, serumda bulunabilecek ve yalancı pozitif veya yalancı negatif sonuçların oluşmasına yol açabilecek serin proteaz veya serin proteaz inhibitörlerinin uzaklaşmasını sağladı. Serumun işlenmesi tamamlandıktan sonra hazırlanmış olan standartlar da 25 µl olacak şekilde mikroplak kuyularına kondu. En son aşamada ise BG'ın varlığını gösterecek yapay substrat (Bac-Leu-Gly-Arg-pNA) tüm kuyucuklara 100 µl kondu ve 405nm'de 37 °C'da kinetik olarak okuma yapıldı. Her 30 saniyede bir olmak üzere 40 dakikada 80 okuma yapıldı ve tüm okumaların ortalaması alınarak standartlar ile oluşturulan grafikte denk düştüğü noktaya göre pikogram (pg) cinsinden serumdaki BG miktarları bulunmuş oldu. Pozitif sonuç olarak serum için ≥ 80 pg/ml kabul edildi.

İFE Değerlendirilmesi: İFE tanımlamaları yapılırken EORTC-MSG kriterlerine bağlı kalındı. Mikrobiyolojik, radyolojik ve klinik kriterler gözden geçirilerek hastalar kanıtlanmış, yüksek ve düşük olasılıklı İFE ve İFE'si olmayanlar (non-İFE) olarak ayrıldı. Kanıtlanmış İFE (Proven-İFE) için doku örneklerinde histopatolojik invazyonun gösterilmesi ve/veya kültürde *Aspergillus* türlerinden birinin üremesi; yüksek olasılıklı İFE (Probable-İFE) için bir konak faktörü, bir klinik faktör ve bir mikrobiyolojik faktörün varlığı; düşük olasılıklı İFE (Possible-İFE) için ise mikrobiyolojik bulgu olmadan bir konak ve bir klinik faktörün varlığı arandı.

İstatiksel analiz: Bu çalışma İFE için yüksek riskli olan ardışık hematolojik hasta grubunda, seri olarak BG tayininin tanı değerini tespit etme amacı ile yapıldı. Fakat kesin tanı için doku invazyonunu histopatolojik olarak gösterme ve steril örneklerden alınan kültürde üretme zorunluluğu nedeniyle hastalığın gerçek durumunu çoğu hastada ortaya konamaz. Dolayısıyla bu ve benzeri çalışmalarda herhangi bir non-invaziv tanı testinin sensitivite ve spesifitesi tam olarak tanımlanamaz ve şüphesiz hastaların öne sürülen tanı kriterlerinden dramatik olarak etkilenir. Bu nedenle sensitivite, spesifite ve prediktif

değerlerin hesaplanması için 2 farklı grup belirlendi. Bunlar Metod A ve B olarak isimlendirildi. Bu grupta herhangi bir ipucu olmayan ve kesin İFE olmayan hastalar gerçek negatif olarak dikkate alındı. Çalışmada tanı konulan 2 tane proven sinonazal mukormikozisli olgu çalışılan testin bu grup İFE’de negatif saptanması ve çalışmada da beklendiği gibi testin negatif olması nedeniyle gruplar içine dahil edilmedi. Metod A’ya göre yapılan istatistiksel analizde “gerçek pozitif” olarak proven ve probable İFE olan hastalar ve “gerçek negatif” olarak non-İFE olan hastalar kullanıldı. Metod B’de “gerçek pozitif” olarak proven, probable ve possible İFE olan hastalar ve “gerçek negatif” olarak ise non-İFE grubunda olan hastalar kullanıldı.

Her bir epizot için alınan cut-off değere göre 2 ardışık pozitif örnek varlığında o epizot GM ve BG için “pozitif epizot”, 1 pozitif veya pozitif değeri olmayanlar ise GM ve BG için “negatif epizot” olarak değerlendirilerek sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerler hesaplandı.

PNL<500, PNL<100, yatış süresi açısından İFE olmayan hastaları İFE tanısı konulan hastalarla karşılaştırmak için istatistiksel non parametrik testlerden Mann-Whitney-U testi kullanıldı.

Cinsiyetin İFE için risk faktörü olup olmadığının araştırılmasında Pearson Ki-Kare testi kullanıldı.

Hastalık tanılarının karşılaştırılmasında Fisher’in ki-kare testi kullanıldı.

Hastalık durumunun İFE için risk faktörü olup olmadığının değerlendirilmesi Pearson ki-kare testi kullanıldı.

İFE için risk faktörü olarak düşünölen değişkenlere (İFE sonuç değişkeni olarak kabul edildi. İFE için risk faktörü olarak düşünölen diğer değişkenler bağımsız değişkenler olarak alındı) ileriye dönük lojistik regresyon analizi uygulandı.

BULGULAR

Çalışmadaki Epizotlar

Nisan 2008 ve Ocak 2009 tarihleri arasında 46 hematoloji hastasında ardışık 81 epizot prospektif olarak izlendi. EORTC/MSG kriterlerine göre 2 epizot proven sinonazal mukormikozis (% 2.5), 2 epizot proven sinonazal aspergillozis (%2.5), 14 epizot probable İnvaziv Pulmoner Aspergillozis (İPA) (%17.3), 7 epizot possible İPA (%8.6), 2 epizot possible invaziv kandidoz (%2.5) ve kalan 54 epizot ise invaziv fungal enfeksiyon olmayan (non-İFE) (%66.7) epizot olarak tanımlandı. Non İFE grubu kontrol grubu olarak alındı.

Hasta Karakteristikleri

Ortalama yaş 40.3 ± 13 (18–66) idi. Epizotlardaki altta yatan hastalıklar şu şekilde idi: Akut miyeloblastik lösemi (n: 33), akut lenfoblastik lösemi (n: 8), non-Hodgkin lenfoma (n: 3), refrakter multiple miyeloma (n: 2).

Tüm hastaların primer hastalık durumları değerlendirildiğinde 27 hasta (%33.3) yeni tanı almıştı. 31 hasta (%38.3) remisyonda, 11 hasta (%13.6) nüks, 12 hasta (%14.8) refrakter hastalığa sahipti. Toplam ölen hasta sayısı 18 idi. Tüm hastalardaki ortalama epizot süresi 31.3 ± 13.7 gün (13-81 gün) idi. Nötropenik epizot sayısı 76 (% 93.8) idi ve tüm gruplarda ortalama nötropeni süresi 10 günü geçiyordu. Tüm hastaların özellikleri Tablo 5'de özetlendi.

İFE Tanısı Konan Hastalar

Toplam 81 epizotta 18 (% 22.2) hastaya İFE tanısı konuldu. İFE tanısı konulan 18 epizotun özellikleri Tablo 6'da gösterildi. Bunlardan 4'ü proven İFE, 14'ü probable İFE idi. İFE tanısı konulan 18 hastanın 8'i hastaneye yatışları dönemde öldüler (% 57.1).

Tablo -5 Hasta özellikleri

Hasta Özellikleri	Proven İFE	Probable İFE	Possible İFE	Non İFE	Toplam
Epizot sayısı	4	14	9	54	81
Nötropenik Epizot sayısı	4	14	8	50	76
Hasta sayısı	4	14	9	34	46
Ortalama yaş	47.5±5.3	42.2±13.8	42.0±11.6	41.3±13.9	40.3±13.1
Aralık	42-53	18-66	23-59	18-66	18-66
Ölen hasta Sayısı	0	6	3	9	18
Epizot süresi	35.2±16.4	39.8±18.5	40.6±19.5	27.3±8.7	31.3±13.7
Aralık	14-54	21-81	18-21	13-46	13-81
Altta yatan Hastalıklar					
AML	4	9	9	40	62
ALL	0	4	0	7	11
NHL	0	0	0	4	4
MM	0	1	0	3	4
Konakçı faktörleri					
Steroid kullanılan epizot					
	0	3	0	10	13
PNL<500	24±7.6	19.5±7.4	18.5±6.7	13.3±6.7	15.5±7.5
Aralık	17-32	11-38	10-31	0-28	0-38
Pnl<100	15±3.8	12.2±7.5	14.8±9.3	7.7±4.7	9.7±6.4
Aralık	10-18	3-28	0-31	0-21	0-31

Proven İFE tanısı alan dört olgunun klinik seyirleri özetle şu şekilde idi;

Proven sinonazal mukormikozis tanısı konulan hastalardan ilkinde hastanın yatışının onsekizinci gününde maksiler bölgede şişlik ödem ve hassasiyet gelişti. Paranasal sinüs BT'si nonspesifik mukozal kalınlaşmayı gösteriyordu. Kemik yapılarda destrüksiyon yoktu. Hastanın alınan biyopsi materyalinde Zygomycetea üremesi oldu. Hasta sekonder sebeplerden ötürü eksitus oldu.

İkinci hastada yatışının sekizinci günü solunum sistemi bulguları ön planda idi. Toraks BT'sinde nodüler konsolide alanları mevcuttu. Hastanın takibinin ondördüncü gününde maksiler bölgede hassasiyet, ödem gelişti. Paranasal sinüs BT'sinde kemik yapılarda destrüksiyon mevcuttu. Alınan endoskopik kültüründe Aspergillus üremesi oldu. Antifungal tedaviye yanıt alındı.

Üçüncü hastada yatışının onbirinci gününde maksiler bölgede şişlik hassasiyet gelişti. Çekilen paranasal sinüs BT'sinde nonspesifik mukozal kalınlaşmalar mevcuttu. Alınan örneğin patolojisi mukormikozis ile uyumlu idi. Hasta sepsis nedeniyle eksitus oldu.

Dördüncü hastada yatışının onuncu gününde solunum sistemi semptomatolojisi mevcuttu. Görüntülemeleri nonspesifik enfeksiyon lehine idi. Ondördüncü günde maksiler bölgede ödem gelişti. Paranasal sinüs BT'de kemik yapılarda destrüksiyon mevcuttu. Alınan endoskopik nazal biyopside Aspergillus üremesi oldu. Antifungal tedaviye yanıt alındı.

Hasta epizotlarının özellikleri Tablo 6'da görülmektedir.

Tablo-6 İFE olan epizotların özellikleri

Kasap No	Orn/Vet	Tan	Yaş (ortal)	P/Alt (1-5/00)	GÖRÜLÜTÖRE	Önemli bulgular	Mikroorganizma	Sarıp	GM Zaman (ortal)	BGS Zaman (ortal)
Proven										
1.	43/K	AML	35	18	Sinus BT: Nonspesifik mukozal kalınlaşma	Sinus kavitesi mukozal biyopsi	Zygomycetes spp.	EX	Negatif	Negatif
2.	53/K	AML	54	32	Sinus BT: Kemik yapılarında destrüksiyon	Sinus kavitesi biyopsi (patoloji HÜTür)	Aspergillus flavus	Tab	Negatif	Negatif
3.	43/K	AML	29	17	Sinus BT: Nonspesifik mukozal kalınlaşma	Sinus kavitesi biyopsi	Yok (Histopatoloji; mucormikozis ile uyumlu)	EX	Negatif	Negatif
4.	51/K	AML	38	29	Sinus BT: Kemik yapılarında destrüksiyon	Nazal kavite mukozal biyopsi	Aspergillus flavus	Tab.	Negatif	Pozitif
Probable										
5.	29/E	AML	38	21	Toraks BT: Halo işaret	Yok	Yok	Tab	Pozitif	Pozitif
6.	50/E	ALL L2	21	11	Toraks BT: Buzlu cam	Yok	Yok	EX	Pozitif	Pozitif
7.	18/E	ALL L2	35	14	Toraks BT: Buzlu cam	Yok	Yok	EX	Pozitif	Pozitif
8.	55/K	AML	31	21	Toraks BT: Nodüler oluşum ve buzlu cam	Yok	Yok	Tab.	Pozitif	Negatif
9.	33/E	ALL	35	25	Toraks BT: Nodüler oluşum	İndüklemiş balgam	Aspergillus flavus	EX	Pozitif	Pozitif
10.	66/E	AML	22	21	Toraks BT: Buzlu cam	Yok	Yok	EX	Pozitif	Pozitif
11.	53/K	AML	56	22	Toraks BT: Buzlu cam	Yok	Yok	Tab	Pozitif	Pozitif
12.	54/E	AML	28	15	Toraks BT: Halo sign	Yok	Yok	Tab	Pozitif	Pozitif
13.	54/E	AML	81	14	Toraks BT Halo sign, MO	Yok	Yok	Tab	Pozitif	Pozitif
14.	24/E	ALL L2	31	13	Toraks BT: Halo sign	BAL	Aspergillus terreus	EX	Negatif	Negatif
15.	42/E	AML	35	25	Toraks BT: Nodüler oluşum	BAL	Yok	Tab	Pozitif	Pozitif
16.	48/E	AML	35	29	Toraks BT: Buzlu cam	BAL	Aspergillus Funigatus	Tab	Negatif	Negatif
17.	46/E	AML	77	14	Toraks BT: Kavitasyon	BAL	Aspergillus Funigatus	Tab	Negatif	Pozitif
18.	28/K	ALL L2	38	38	Toraks BT: Kavitasyon	Kan	Yok	EX	Pozitif	Pozitif

Tablo-6 İFE olan epizotların özellikleri

Kazda No	Çevre	Tan	Yaş	MMN	Çözümlenmiş	Öznenen maviye	Mikroorganizma	Sarıç	ÇM Sarıç	90 Sarıç
	Yok		10-14	1-200				Yok	Yok	Yok
Possible										
1.	46/ E	AML M3	24	14	Toraks BT: Nodül + buzlu cam	YOK	YOK	Tab	Negatif	Positif
2.	43/ K	AML M3	32	18	Toraks BT: Buzlu cam	YOK	YOK	Ev	Negatif	Positif
3.	50/ E	AML	32	31	Toraks BT: Buzlu cam	YOK	YOK	Ev	Negatif	Positif
4.	38/ E	AML M2	56	25	Toraks BT: Nodül, Kranial MR: Abse formasyonu	YOK	YOK	Tab	Negatif	Negatif
5.	31/ E	AML M0	18	10	Toraks BT: Nodül	YOK	YOK	Ev	Negatif	Negatif
6.	54/ E	AML M0	59	15	Baht U.SG-BT: Tüm kayrakçer ve dağlık parankimi için dağlık yerleşimli multiple lezyon	Kan	YOK	Tab	Negatif	Positif
7.	34/ E	AML M4	54	24	Toraks BT: Halo işaretli	YOK	YOK	Tab	Negatif	Negatif
8.	23/ E	AML M2	34	14	Toraks BT: Kaviteşyon	YOK	YOK	Tab	Negatif	Negatif
9.	59/ E	MDS, AML	35	17	Toraks BT: Nodüle	YOK	YOK	Tab	Negatif	Negatif

Üç epizotta A.flavus, 2 epizotta A. fumigatus, 1 epizotta A. terreus üremesi oldu. Kan kültüründe Fusarium, bronko alveoler lavaj sıvısında Trichosporon, Candida üremesi olan hastaların üremeleri kontaminasyon olarak değerlendirildi. Bir hastada kan kültüründe C. crusei üremesi, klinikle uyumsuz, kültür üremesi spesifik semptomlar olmadan ve klinik bulgu olmadığı bir dönemde alınan örnekte idi.

Akciğer bilgisayarlı tomografi görüntüleme ile buzlu cam (n: 5), halo belirtisi (n: 4), nodül (n: 3), kaviteleşme (n: 2), gibi bulgular saptandı.

Toplam 81 epizotta 40 hastada takipleri sırasında BT ile akciğer parankiminde lezyon saptandı. Bu hastalar bronkoalveoler lavaj yönünden değerlendirildiler ve 10 hastaya (%12.3) klinik durumları elverdiği için işlem yapıldı. Beş hastanın (%50) BAL sıvısında pozitif üreme mevcuttu.

Proven hasta grubunda 2, probable hasta grubunda 6, possible hasta grubunda 3, non İFE grubunda ise 10 hasta, toplamda 21 hasta epizot sonunda öldü. Ölen tüm hasta yakınlarından post mortem biyopsi için yazılı onam istendi. Ancak hiçbiri kabul etmedi.

İFE için risk faktörleri

Tablo 7’de kanıtlanmış İFE’li hastalar ile kontrol grubu arasındaki risk faktörleri analizi görülmektedir. İFE için risk faktörlerini belirlemek amacıyla İFE olan ve olmayan gruplar yaş ortalamaları, cinsiyet, nötropeni süreleri ve nötropenin derinliği, yatış süreleri yönünden, primer hastalığın akut lösemi olup olmaması ve aktif hastalık varlığı veya primer hastalığın remisyonda

olması bakımından karşılaştırıldı. Yaş ortalamaları İFE olan hastalarda 43.4±12.5 (18-66) erkek/kadın oranı 11/7 idi. İki grup arasında ortalamalar karşılaştırıldığında cins, yaş, primer hastalık ve hastalığın durumu açısından gruplar arasında anlamlı bulunmadı.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda PNL<500 gün sayısı, PNL<100 gün sayısı ve yatış süresi İFE için risk faktörü olarak bulundu (sırasıyla P= 0.002, 0.02, 0.01). Yani nötropenik gün sayısı ve yatış süresi ne kadar uzarsa hastalar İFE yönünden o denli riskli olarak belirlendi.

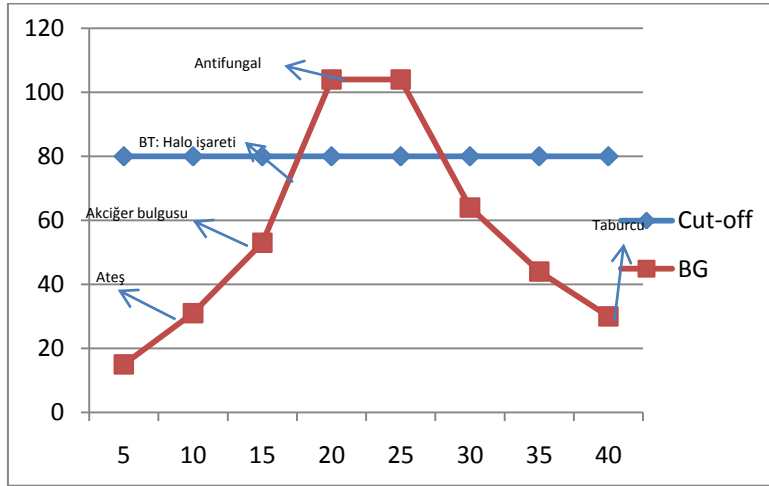
Tablo-7 İFE olan hastalar ve olmayanlar arasındaki risk faktörlerinin karşılaştırması

Faktörler		İFE'li hastalar Proven-probable	Kontrol hastaları	P DE- ĞERİ
Sayı		18	39	
Yaş aralığı (yıl)		43.4±12.5 18-66	39.4±13.1 18-66	P=0.275
Cins	E/K	11/7	25/14	P=0.952
Primer hastalık	Akut lösemi/diğerleri	17/1	35/4	
Primer hastalığın durumu	Remisyon/Aktif hastalık	4/14	27/17	P>0.05
Primer hastalığın durumu	Yeni tanı+ remisyon /Refrakter	12/1	46/11	P>0.05
Nötropeni süresi, (gün) (<500)		20.5±7.5 11-38	14.1±6.9 0-31	P<0.05
Nötropeni süresi, (gün) (<100)		12.8±6.8 3-28	8.7±6.0 0-31	P<0.05
Steroid Kullanımı	Var/Yok	3/15	5/34	P>0.05
Yatış süresi (gün)		39.6±16.8 21-81	29.2±11.7 13-81	P<0.05
Sonuç	Öldü/Hayatta	7/11	13/26	

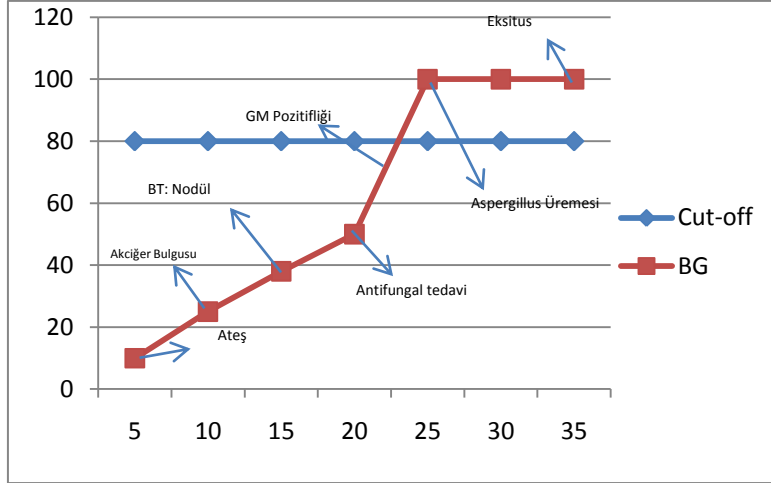
BG sonuçları

Çalışma boyunca toplam 719 serum örneğinde BG antijen düzeyine bakıldı. Tüm epizotlar dikkate alındığında epizot başına ortalama 8.8 serum örneği çalışıldı. Ayrı ayrı dikkate alındığında ise epizot başına proven grup için 10.7, probable grup için 11.5, possible grup için 11.2, non İFE grup için 7.6 serum örneği elde edildi. BG, ardışık 2 serum örneği değerinin ≥ 80 pg/ml olan olgularda pozitif olarak değerlendirildi. Proven tanısı konulan 2 mukormikozisli olguda çalışılan test beklenildiği üzere negatif çıktı. Diğer iki olgudan birinde test negatif saptandı. Probable grupta 4 ve possible grupta 4 yalancı negatiflik mevcuttu. Non İFE grubunda ise 4 epizotta yalancı pozitiflik saptandı.

Aşağıda taburculuk ve eksitus ile sonlanan iki ayrı epizotta BG seyri grafiksel olarak görülmektedir. (şekil 1,2)



Şekil-1 Taburcu ile sonlanan bir epizot sırasında BG seyri



Şekil-2 Eksitus ile sonlanan bir epizot sırasında BG seyri

BG testinin değerlendirilmesinde proven mikormikozisli 2 olgu beklendiği üzere test negatif saptandığı için değerlendirme dışında bırakıldı.

Metod A (proven+probable grupları ile non-İFE karşılaştırması) esas alındığında, sensitivite % 68.75, spesifite % 84.1, PPD (pozitif prediktif değer) % 52.4, NPD (negatif prediktif değer) % 91.4 olarak hesaplandı.

Metod B (proven+probable+possible grupları ile non-İFE karşılaştırması) esas alındığında ise sensitivite % 60, spesifite % 88.9, PPD % 71.4, NPD %82.8 olarak hesaplandı.

Çalışmadaki galaktomannan değerleri incelendiğinde ise (GM için indeks değeri ≥ 0.5 ng GM/ml baz alındı.) metod A esas alındığında sensitivite % 68.75, spesifite % 98.4, PPD % 91.7, NPD %92.5 olarak hesaplandı.

Metod B esas alındığında ise sensitivite % 47.8, spesifite % 98.2, PPD % 91.7, NPD % 82.1 olarak hesaplandı. Sonuçlar tablo 8'de özetlendi.

Tablo-8 BG ve GM sonuçlarının gruplara göre karşılaştırılması

	METOD A	METOD B
BG SENSİTİVİTE	68.75	60
GM SENSİTİVİTE	68.75	47.8
BG SPESİFİTE	84.1	88.9
GM SPESİFİTE	98.4	98.2
BG NPD	91.4	82.8
GM NPD	92.5	82.1
BG PPD	52.4	71.4
GM PPD	91.7	91.7

Metod A : Proven ve probable grupları ile non-İFE karşılaştırması

Metod B : Proven, probable ve possible grupları ile non-İFE karşılaştırması

TARTIŞMA VE SONUÇ

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların tanısı bugün için hala büyük bir problem oluşturmaktadır. Histopatolojik inceleme için doku örneklerinin alınması tanıda altın standart olsa da çoğu zaman bunu yapmak özellikle hematolojik hasta grubunda gerek hastalığın doğal seyri gerek yoğun kemoterapi programları sonucundaki karşılaşılan derin sitopeniler nedeniyle çoğu zaman mümkün olmamaktadır. Öte yandan enfeksiyonu ortaya koymak amacıyla ısrarla doku tanısı elde etmek için zaman kaybetmek ve bu amaçla tedaviye başlamamaksa hastanın hayatını tehdit edeceği için kabul edilebilir bir yaklaşım değildir. Diğer yönden kültür incelemeleri de hem uzun sürede sonuçlanması hem de steril örnek gerektirdiğinden kısa sürede tanıya olanak vermemektedir. Radyolojik olarak fungal enfeksiyonlara spesifik bir görüntü elde edildiğinde ise tedavi başlansa bile başarı elde etmek için çoğu zaman geç kalınmıştır. Bu kadar karmaşık tanı ikilemleri içerisinde göz önünde bulundurulması gereken başka bir nokta, gereksiz tedavilerin ve yaklaşımların da hastaların tedavi maliyetlerini arttırmasıdır. Günümüzde klinik olarak şüpheli olgularda empirik antifungal tedavi uygulanması yaygın olarak kullanılan bir yaklaşımdır. Sonuç olarak pratikte kesin veya güçlü tanı koyabileceğimiz non invaziv teşhis yönteminin boşluğu halen doldurulmaya çalışılmaktadır. Teorik olarak invaziv olan bu fırsatçı enfeksiyonlarda kandaki fungal antijenlerin ölçümü ile bu problemin üstesinden gelmek mümkün olabilir.

BG antijeni *Zygomycetes* ve *Cryptococcus neoformans* dışındaki fungusların hücre duvarında bulunan bir yapıdır (42). Bu antijen günümüzde serum ve diğer vücut sıvılarında tayin edilebilmektedir. Beş yılı aşkın bir süredir dünyada yapılmış çeşitli çalışmalarda yüksek riskli nötropenik hastalarda seri BG antijen tespitinin invaziv fungal enfeksiyon tanısını koymaya yardım edeceği gösterilmiştir. Bu saptamanın bazen klinik semptomların başlangıcından

veya radyolojik işaretlerin ortaya çıkmasından önce olduğu da gösterilmiştir. Yapılmış çeşitli çalışmalarda sensitivite % 55-95, spesifite % 77-96 arasında değişmektedir (45-51). Çalışmalardaki farklılık galaktomannanda olduğu gibi araştırma popülasyonunun heterojenliğine ek olarak pozitifliğin tanımlanmasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Pozitiflik için seçilen farklı sınır değerleri, tek veya ardışık pozitifliğin esas alınması sonuçları değiştirmektedir.

Biz de prospektif olarak dizayn ettiğimiz bu çalışmada İFE için yüksek riskli olan hematoloji hastalarında seri olarak serumdaki BG antijeninin tayininin tanı koymadaki güvenilirliğini değerlendirdik.

Tanısal non invaziv bir testin istatistiksel parametreleri önceden belirlenmiş olan cut-off değerlerinden dramatik olarak etkilenir. Üstüne bir de hastalığın tanımlanmasının zorluğu ve bununla ilgili belirsizlikler eklenince, sonuçlar ister istemez bundan da etkilenecektir. Cut-off değerleri olsun tanımlanmadaki kriterler olsun parametrelerden herhangi birindeki en ufak oynama hasta gruplarını ve sonuçta test sonuçlarını etkileyeceği için testin güvenilirliği ile ilgili yorumlar da bundan etkilenecektir.

Çalışmamızda metod A ve metod B olarak iki ayrı gruptandırmayla BG için 80 pg/ml'lik, GM için ise 0.5 ng/ml cut-off değerlerini kullandık. Ardışık 2 örnek pozitifliğini pozitif değer olarak kabul ettik. Antijenemi seviyesinin fungal yükle orantılı olduğunu ve kanıtlanmış İFE'li hastalarda zamanla antijenemide bir artışın olacağını düşünürsek düşük cut-off değerlerinin erken teşhisteki yerinin önemi açıktır. Aslında düşük cut-off değerli hastalar ve possible tanımlanmasındaki hastalar birlikte değerlendirildiğinde bu hastaların çoğunun empirik veya profilaktik antifungal tedavi aldıkları ve bu tedavilerin invaziv fungal enfeksiyonlar arasında yer alan bir çok durumda tedavi edici nitelikte olduğu görülür. Bu gruptaki olgularda fungal enfeksiyonlar fırsatçı

enfeksiyonlara neden olsa da zaten tedavilerini alıyor olmaları hastaların saptanan serum değerlerindeki oynamalara yol açmakta ve takiplerindeki bu serum değerlerindeki oynamaların yorumunu güçleştirmektedir. Bu olgularda empirik veya profilaktik olarak başlanan bu antifungal tedavi rejimleri klinik bulguları kısmen veya tümüyle maskeleyebileceğinden testin değerlendirilmesi zorlaştırmaktadır. Ayrıca gram pozitif bakteremili hastalarda yalancı pozitiflik diğer bir zorluğu oluşturmaktadır. Çünkü hematolojik hastalardaki derin nötropeni genel olarak bakteremiye kolaylaştırmaktadır. Kesin ve muhtemel İFE tanısı konulan hastaların azlığı değerlendirmeyi güçleştiren bir diğer faktördür (44).

Hasta popülasyonu ile ilgili güçlüklerin yanı sıra, teknik bazı sorunlar BG testi sonuçlarını değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Endotoksinsiz, glukansız cam eşya kullanma zorunluluğu, albumin, immünglobulinlerle yalancı pozitiflik, bazı ilaçlarla çapraz reaksiyon bunlar arasındadır (33).

Tüm bu zorluklar non-invazif test sonuçlarını etkileyeceğinden, hastaların olgu bazında klinik, radyolojik ve diğer mikrobiyolojik veriler ile ayrı ayrı irdelenmesi gerekmektedir.

Yapılan çok merkezli bir çalışmada 163 İFE'li (proven İFE + probable İFE) hasta değerlendirilmiş, BG için cut-off değeri 60 pg/ml alındığında sensitivite %69.9, spesifite %87.1, PPD 83.8, NPD %75.1 saptanmış; cut-off değeri 80 pg/ml'ye çekildiğinde sensitivite % 64.4'e düşerken spesifite %92.4'e yükselmiş. PPD, NPD ise sırasıyla %89, %73 olmuştur; 163 hastanın proven olarak değerlendirilerek antifungal tedavi başlanan 118'inde BG cut-off değeri 60 pg/ml alındığında %72.9'u pozitif sonuç vermiş; aynı hastalarda cut-off değeri 80 pg/ml alındığında ise oran %69.5'e düşmüştür (45).

Doksanaltısı hematolojik malignite ve 9 proven, 2 probable, 13 possible İA içeren 146 hastalık seride GM için sensitivite %100, spesifite %93, PPD %55, NPD %100 bulunmuştur. Cut-off 60 pg/ml olarak BG için sensitivite %55, spesifite %93, PPD %40, NPD %96 saptanmıştır. PCR ile aynı değerler sırasıyla sensitivite %55, spesifite %93, PPD %40, NPD %96 bulunmuştur (46).

BG'in tanı değerinin araştırıldığı kandidemik, bakteremik ve sağlıklı kan donörlerini içeren bir çalışmada 15 kandidemik hastanın 13'ünde 25 bakteremik hastanın 14'ünde testin pozitif olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada BG için sensitivite %93.3, spesifite %77.2, PPD %51.9, NPD %97.8 bulunmuştur (47).

BG için cut-off değeri 60 pg/ml ve tek serum örneğinin pozitif kabul edildiği başka bir çalışmada ise proven ve probable İFE'lu hasta grubunda tanıdan 10 gün önce %100 pozitiflik saptanmış, spesifite %90 bulunmuştur (48).

Yüzde 52'si hematolojik maligniteli olan 456 otopsi olgusunun incelendiği bir çalışmada 54 hastada İFE saptanmış (proven), bunların %70'ini aspergillus enfeksiyonu oluşturmuştur. Bu hastaların 41'inde BG için cut-off değeri 30 pg/ml baz alındığında enfeksiyon belirtilerinden 2 hafta öncesinden pozitif olduğu saptanmıştır. Aynı cut-off değerinde bu hastalarda sensitivite ve spesifite sırasıyla %95.1, %85.7 bulunmuştur. Altmış pg/ml baz alındığında aynı değerler sırasıyla %85.4, %95.2, 80 pg/ml baz alındığında ise %78.0, %98.4 saptanmıştır. PPD ve NPD ise cut-off değeri 30 pg/ml alındığında %41.1, %99.2, 60 pg/ml alındığında %70.4, %98.0, 80 pg/ml alındığında ise %86.7, %97.1 saptanmıştır. Çalışmanın başka bir kolunda fungal yünden pozitif kan kültürüne sahip olan 21 hasta kültür pozitifliğinden 2 hafta öncesi ve 4 hafta sonrasına kadar BG serum örnekleri çalışılarak izlenmiş; cut-

off değeri >60 pg/ml alındığında test 17 hastada (%81) pozitif, 4 hastada negatif (<30 pg/ml) saptanmıştır (49).

190 nötropenik epizodun incelendiği başka bir çalışmada ise 30 proven, probable İFE'li (13 aspergillozis, 15 kandidiyazis, 2 mikst İFE) hasta saptanmış ve BG'nin sensitivite, spesifite, PPD, NPD sırasıyla %63, %96, %79, %91 saptanmıştır (50).

Kırk tedavi epizotunun incelendiği başka bir çalışmada ise 5 proven, 3 probable, 3 possible invaziv aspergillozisli hastada BG değerlendirilmiş; sensitivite, spesifite, PPD, NPD sırasıyla %87.5, %89.6, %70, %96.3 saptanmıştır (51).

BG'ın tanı değerinin incelendiği çalışma sonuçları Tablo 9'da özetlenmiştir.

Yaptığımız bu prospektif çalışmada BG için Metod A esas alındığında, sensitivite %68.75, spesifite %84.1, PPD %52.4, NPD %91.4 olarak hesaplandı. Metod B esas alındığında ise sensitivite %60, spesifite %88.9, PPD %71.4, NPD %82.8 olarak hesaplandı.

Çalışmadaki galaktomannan değerleri incelendiğinde ise Metod A esas alındığında sensitivite %68.75, spesifite %98.4, PPD %91.7, NPD %92.5 olarak hesaplandı. Metod B esas alındığında ise sensitivite %47.8 spesifite % 98.2, NPD %82.1, PPD %91.7 olarak hesaplandı

(Galaktomannan için indeks değeri ≥ 0.5 ng GM/ml baz alındı)

Tablo 9 BG ile ilgili çalışma sonuçları

Çalışmalar	Çalışılan Test	Sensitivite	Spesifite	PPD	NPD	
Ostrosk Z L (45)	BG (60 pg/ml)	69.9	87.1	83.8	75.1	
Ostrosk Z L (45)	BG (80 pg/ml)	64.4	92.4	89	73	
Kawazu M (46)	GM	100	93	55	100	
Kawazu M (46)	PCR DNA	55	93	40	96	
Kawazu M (46)	BG (60 pg/ml)	55	93	40	96	
Obayashi T (49)	BG (30 pg/ml)	95.1	85.7	41.1	99.2	
Obayashi T (49)	BG (60 pg/ml)	85.4	95.2	70.4	98	
Obayashi T (49)	BG (80 pg/ml)	78	98.4	86.7	97.1	
Senn L (50)	BG	63	96	79	91	
Pazos C (51)	BG	87.5	89.6	70	96.3	
Mevcut mamız	Çalış- mamız	<u>BG (Metod A)</u>	<u>68.7</u>	<u>84.1</u>	<u>52.4</u>	<u>91.4</u>
Mevcut mamız	Çalış- mamız	<u>BG (Metod B)</u>	<u>60</u>	<u>88.9</u>	<u>71.4</u>	<u>82.8</u>

Yaptığımız çalışmada toplam 81 epizotta BG'ın yalancı pozitif olduğu beş epizot mevcuttu. Bu hastalar incelendiğinde bir hastada klinik enfeksiyonu olmadan mikrobiyolojik olarak kan kültüründe Corynebacterium üremesi, bir hastada tiftitis ile birlikte kan kültüründe E. coli üremesi, diğer hastalarda etken izole edilememekle birlikte klinik olarak birinde tiftitis, diğerinde klinik olarak pnömoni mevcuttu; 1 hastada klinik olarak hiçbir semptom yoktu. Yalancı negatif saptanan 12 hasta mevcuttu. Bu hastalardan 10'unda GM için de test negatif saptandı. Bunların dışında kalanlardan birisi proven grubunda sinonazal aspergillozisli hasta idi. Doku tanısı olmasına karşın hastanın sinonazal görüntülemesinde kemik destrüksiyonu olmaması ve beraberinde galaktomannan negatifliği de hastada sistemik olarak antijenemi olmadan erken tanımlanmış bir sinonazal enfeksiyon olabileceğini düşündürdü. Diğerleri ise probable olarak değerlendirdiğimiz grupta idi. Yalancı pozitif veya negatif hastaların tanı gruplarını otopsi ile doğrulayamamız bizim bu çalışmadaki verilerimizi bu anlamda oldukça etkilemekte ve yoruma açık kılmaktadır.

Sonuç olarak yapılan bir çok çalışmada BG sensitivite ve spesifitesi için yukarıda bahsettiğimiz gibi çelişkili bir çok sonuç bildirilmektedir. İFE tanımlaması içerisinde hasta gruplarının heterojenitesi bu sonuçlarda etkilidir. Bunun yanı sıra test sonuçları istatistiksel analizlerde İFE gruplarının tanım-

laması ve alınan referans değerleri gibi bir çok değişkenlerden de etkilenmektedir. Başlangıçta GM çalışmalarında olduğu gibi, sensitivitenin BG için de çok yüksek olduğu ve farklı çalışmalarda farklı sonuçların ortaya çıktığını görmekteyiz. Günümüzde halen %100 sonuç veren bir non invaziv yönteme gereksinim devam etmektedir. BG için de sonuç olarak hasta sayısının ve değerlendirmenin daha rahat yapılacağı geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu aşıkardır. Yine de mevcut literatür verileri ve bizim verilerimiz bu hasta gruplarında BG testinin yardımcı bir non invaziv yöntem olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Mackenzie DW. Aspergillus in man. In:Vanden Bossche H, Mackenzie DWR, Cauwenbergh G, eds. Proceedings of the Second International Symposium on Topics in Mycology. Antwerp, Belgium:University of Antwerp; 1987; Clinical Mycology:1-8.
2. Rankin N. Disseminated aspergillosis and moniliasis associated with agranulocytosis and antibiotic therapy. Br Med J 1953;183: 918-9.
3. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systemic review of the literature. Clin Infect Dis 2001; 32: 358-66.
4. Kaiser L, Huguenin T, Lew PD, Chapuis B, Pitlet D. Invasive aspergillosis: Clinical features of 35 proven cases in a single institution. Medicine 1998; 77: 188-94.
5. Denning WD. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. Clin Infect Dis 1996;23: 608-15.
6. Kume H, Yamazaki T, Abe M, Tanuma H, Okudaira M, Okayasu I. Increase in aspergillosis and severe mycotic infection in patients with leukemia and MDS: Comparison of the data from the Annual of the Pathological Autopsy Cases in Japan in 1989, 1993 and 1997. Pathol Int 2003; 53: 744-50.
7. Kantarcıoğlu A.S, Yücel A. Aspergillus Cinsi Mantarlar ve invaziv Aspergilloz: Mikoloji, Patogenez, Laboratuvar tanımı, Antifungallere direnç ve duyarlılık deneyleri. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2003; 34: 140-57.
8. Patterson TF. Aspergillus species. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases Vol 2 6th ed., Churchill, Livingstone, 2004, s. 2958-73.
9. Ansorg R, Boom R, Rath PM. Detection of galactomannan antigen in foods and antibiotics. Mycoses 1997; 40: 353-57.

10. Sigler L, Verweij PE. Aspergillus, Fusarium and other opportunistic Moniliaceous fungi. Manual of Clinical Microbiology 8th ed. Vol 2 (Ed. Murray P, Baron EJ, Faller MA, Tenover FC, Tenover JC) de, American Society of Microbiology Press, Washington DC, 2003, s.1726-60.
11. Vartivarian SE. Virulence properties and nonimmune pathogenetic mechanisms of fungi. Clin Infect Dis 1992;14 (suppl 1):30-6.
12. Kontoyiannis DP, Bodey GP. Invasive aspergillosis in 2002: An update. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21: 161-72.
13. Ng TT, Robson GD, Denning DW. Hydrocortisone-enhanced growth of Aspergillus spp.: Implications for pathogenesis. Microbiology. 1994 Sep;140 (Pt 9):2475-9.
14. Ribaud P, Chastang C, Latge JP et al. Survival and prognostic factors of invasive aspergillosis after allogeneic bone marrow transplantation. Clin Infect Dis 1999; 28: 322-30.
15. Denning DW. Invasive aspergillosis. Clin Infect Dis. 1998;26(4):781-803.
16. Gerson SL, Talbot GH, Hurwitz S, Strom BL, Lusk EJ, Cassileth PA. Prolonged granulocytopenia: The major risk factor for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. Ann Intern Med 1984;100(3):345-51.
17. Guiot HFL, Fibbe WE, van't Wout JW. Risk factors for fungal infection in patients with malignant hematologic disorders: Implications for empirical therapy and prophylaxis. Clin Infect Dis 1994;18:525-32.
18. Wald A, Leisenring W, Burik JA, Bowden RA. Epidemiology of aspergillosis in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. J Infect Dis 1997; 175(6): 1459-66.
19. Ho PL, Yuen KY. Aspergillosis in bone marrow transplant recipients. Crit Rev Oncol Hematol 2000; 34(1): 55-69.

20. Rhame FS, Streifel AJ, Kersey JH Jr, McGlave PB. Extrinsic risk factors for pneumonia in the patient at high risk of infection. *Am J Med.* 1984; 15;76(5A):42-52.
21. Stevens DA, Kan VL, M. A. et al. Practise Guidelines for Diseases Caused by *Aspergillus*. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 696-709
22. Caillot D, Casasnovas O et al. Improved Management of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Neutropenic Patients Using Early Thoracic Computed Tomographic Scan and Surgery. *J Clin Oncol* 1997; 15: 139-47
23. Ascoglu S, Rex JH, Pauw B, ve et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants. An international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 7-14.
24. Ben De Pauw, Thomas J. Walsh, Peter Donnelly et al. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Inf Dis* 2008; 46: 1813-21.
25. Stevens DA. Diagnosis of fungal infections: current status. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49 (suppl s1): 11-19.
26. Caillot D, Couaillier JF, Bernard A, et al. Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. *J Clin Oncol* 2001;19:253-59.
27. Hauggaard A, Ellis M, Ekelund L. Early chest radiography and CT in the diagnosis, management and outcome of invasive pulmonary aspergillosis. *Acta Radiol* 2002; 43: 292-98.
28. Won HJ, Lee KS. Invasive Pulmonary Aspergillosis: Prediction at thin section CT in Patients with Neutropenia: A Prospective study. *Radiology* 1998; 208: 777-82

29. Erjavec Z, Verweij PE. Recent progress in the diagnosis of fungal infections in the immunocompromised host. *Drug Resist Updat* 2002; 5: 3-10.
30. Reiss E, Obayashi T, Orle K, Yoshida M, Zancope RM. Non-culture based diagnostic tests for mycotic infections. *Medical Mycol* 2000;38(suppl 1):147-59.
31. Stevens D, Kan V, Judson MA, et al. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. *Clin Infect Dis* 2000;30: 696-709.
32. Obayashi T, Yoshida M, Mori T, et al. Plasma (1-->3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet* 1995;345(8941):17-20.
33. Maertens J, Deeren D, Dierickx D, Theunissen K: Preemptive Antifungal Therapy: Still a way to go. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19(6): 551-6.
34. Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH et al: Multicenter Clinical Evaluation of the (1,3) Beta-D-glucan Assay as an Aid to Diagnosis of Fungal Infections in Humans. *Clin Infect Dis* 2005; 41(5):654-9.
35. Bernard M, Latge JP. *Aspergillus fumigatus* cell wall: Composition and biosynthesis. *Med Mycol* 2001;39(Suppl 1):9-17.
36. Verweij PE, Stynen D, Rijs AJ, de Pauw BE, Hoogkamp-Korstanje JA, Meis JF. Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay compared with Pastorex latex agglutination test for diagnosing invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* 1995;33(7):1912-4.
37. Monique A S H Mennink-Kersten, J Peter Donnelly, Paul E Verweij. Detection of Circulating Galaktomannan for the Diagnosis and Management of Invasive Aspergillosis. *The Lancet infectious diseases* 07/2004; 4(6): 349-57.
38. Yamakami Y, Hashimoto A, Yamagata E, et al. Evaluation of PCR for detection of DNA specific *Aspergillus* species in sera of patients with various forms of pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1998;36(12):3619-23.

39. Spiess B, Buchheidt D, Baust C et al. Development of a Light Cycler PCR assay for detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* DNA in clinical samples from neutropenic patients. *J Clin Microbiol* 2003;41(5):1811-18.
40. Dupont B, Richardson M, Verweij PE, Meiss FGM. Invasive aspergillosis. *Med Mycol* 2000;38 (suppl 1): 215-24.
41. Costa C, Costa JM, Desterke 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(6):2224-27.
42. Buchheidt D, Baust C, Skladny H, et al. Detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples from immunocompromised patients by means of 2-step polymerase chain reaction: Clinical results. *Clin Infect Dis* 2001;33:428-35.
43. Gerson SL, Talnot GH, Hurwitz S, Lusk EJ, Strom BL, Cassileth PA. Discriminant scorecard for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Am J Med* 1985;79:57-64.
44. Uzun Ö, Akalin HE, Hayran M, Ünal S. Factors influencing prognosis in bacteremia due to Gram-negative organisms: Evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. *Clin Infect Dis* 1992;15:866-73.
45. Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD et al. Multicenter clinical evaluation of the (1→3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis* 2005 Sep 1;41(5): 654-9. Epub 2005 Jul 21.
46. Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y et al. Prospective Comparison of the Diagnostic Potential of Real-time PCR, Double-sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Galactomannan, and a (1→3)-beta-D-glucan Test in Weekly Screening for Invasive Aspergillosis in Patients with Hematological Disorders. *J Clin Microbiol* 2004 Jun; 42(6): 2733-41.
47. Pickering JW; Sant HW; Bowles CA; Roberts WL; Woods GL. Evaluation of a (1→3)-beta-D-glucan Assay for Diagnosis of Invasive Fungal Infections. *J. Clin Microbiol.* 2005 Dec; 43(12): 5957-62.

48. Odabası Z; Mattiuzzi G; Estey E et al. Beta-D-glucan as a Diagnostic Adjunct for Invasive Fungal Infections: Validation, Cutoff Development, and Performance in Patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Clin Infect Dis* 2004 Jul 15; 39(2): 199-205. Epub 2004 Jun 28.
49. Obayashi T, Negishi K, Suzuki T, Funata N. Reappraisal of the Serum (1→3)-beta-D-glucan Assay for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections: a Study Based on Autopsy Cases from 6 Years. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun 15;46(12): 1864-70.
50. Senn L, Robinson JO, Schmidt S, Knaup M et al. 1,3- Beta-D-glucan Antigenemia for Early Diagnosis of Invasive Fungal Infections in Neutropenic Patients with Acute Leukemia. *Clin Infect Dis*. 2008 Mar 15; 46(6): 878-85.
51. Pazos C, Ponton J, Del Palacio A. Contribution of (1→3)-beta-D-glucan Chromogenic assay to Diagnosis and Therapeutic Monitoring of Invasive Aspergillosis in Neutropenic Adult Patients: a Comparison with Serial Screening for Circulating Galactomannan. *J Clin Microbiol*. 2005 Jan; 43(1): 299-305.

TEŞEKKÜR

Gerek bu tezin hazırlanması, gerekse tüm asistanlık eğitimim süresince bana çok emekleri ve katkıları bulunan, hem hekimlik, hem de bir insan olarak pek çok yönüyle örnek aldığım, Hematolojiyi bana sevdiren saygıdeğer tez hocam Prof. Dr. Fahir Özkalemkaş'a ve saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ahmet Tunalı'ya, Prof. Dr. Rıdvan Ali'ye, Doç.Dr. Vildan Özkocaman'a, Yrd.Doç.Dr. Tülay Özçelik'e, Anabilim Dalı Başkanımız saygıdeğer Prof. Dr. Şazi İmamoğlu ve Anabilim Dalımızdaki tüm saygıdeğer hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tezim boyunca yardımını esirgemeyen ve bilgilerinden yararlandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Beyza Ener'e ve tezimde emeği geçen İç Hastalıklarında çalışan tüm asistan arkadaşlarım, hemşire ve personele desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Ayrıca bu günlere gelebilmem için her türlü fedakarlığı yapan bana hep destek olan ailem ve eşime teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Ankara'da doğdum. İlkokul'u Şanlıurfa, orta okul ve lise öğrenimi Malatya'da tamamladıktan sonra 1994 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde öğretime başladım. Tıp doktoru ünvanını 2001 yılında aldım. İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 2001-2004 yılları arasında Çocuk Cerrahisi asistanı olarak çalıştım. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2004 yılında araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Evli ve bir kız çocuk babasıyım.