

İnvaziv Fungal İnfeksiyonlarda Erken Tanı

Zekaver ODABAŞI*

* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

Nötropenik hasta grubunda fungal infeksiyonların sıklığı son yıllarda ciddi bir artış göstermiş ve en önemli morbidite-mortalite sebeplerinden biri olmuştur^[1,2]. Hematolojik kanser/transplant vakalarında özellikle uzun nötropeni süresi, organ hasarı (mukozit, graft versus host hastalığı, organ yetmezliği) ve önceden fungal infeksiyon ve/veya kolonizasyon öyküsü olan yüksek riskli hasta gruplarında invaziv fungal infeksiyon (İFİ) gelişme riski %15-25'tir (Tablo 1)^[3,4]. Gelişen fungal infeksiyonların %90'ından çoğunda *Candida* ve *Aspergillus* türleri etkindir, ancak *Tric-*

hosporon, *Pseudallescheria*, *Fusarium* ve *Scedosporium* türlerine bağlı nadir görülen mantar infeksiyonlarında da artış gözlenmektedir^[5-7].

Nötropenik hastalarda *Candida* infeksiyonlarında mortalite %50, *Aspergillus* infeksiyonlarında ise %100 gibi yüksek düzeylerde seyredilmektedir^[8-11]. Daha önceki çalışmalarda nötropenik hastalarda fungal infeksiyon tedavisine ne kadar erken başlanırsa prognozun da o kadar iyi olacağı gösterilmiştir, bu sebeple bu infeksiyonların erken tanı ve tedavisi çok önem taşımaktadır^[12,13].

Günümüzde İFİ'lerin erken tanısı açısından bize yardımcı olacak yeterli hassasiyet ve özgüllüğe sahip oturmuş bir tanı yöntemi henüz yoktur. Halen hastalardan alınan doku örneklerinde mantar hücrelerinin gösterilmesi veya bu örneklerin kültürlerinde etken mantarın üretilmesi tanıda altın standarttır. Oysa febril nötropeni grubu hastalarda, trombositopeni ve genel durum bozuklukları sebebiyle biyopsi ve derin doku örneklemeleri genelde pek mümkün olmamaktadır. Genel olarak İFİ'lerde tanı yöntemleri, kültüre dayalı ve kültür dışı yöntemler olmak üzere iki ayrı grupta ele alınabilir (Tablo 2).

İFİ'lerde kan kültürleri her zaman pozitif olmayabilir; *Candida* ve *Fusarium* infeksiyonlarında %50, *Aspergillus* infeksiyonlarında ise en fazla %5 civarında pozitif olabilmektedir^[14-18]. Balgam kültürü ve bronkoalveoler lavaj (BAL) gibi solunum yolu sekres-

Tablo 1. Hematolojik kanser/transplant vakalarında fungal infeksiyon sıklığı^[4].

Hastalık	Fungal infeksiyon sıklığı
• AlloBMT, PBSCT	%15-25
• Akut miyelojenik lösemi	%10-15
• Akut lenfositik lösemi	%5-10
• Autolog BMT, PBSCT	%2-6

BMT: Bone marrow transplantation, PBSCT: Periferik Blood Stem Cell Transplantation.

Early Diagnosis of Invasive Fungal Infections

Key Words: Mycoses, Diagnosis, Early diagnosis

Anahtar Kelimeler: Mikoza, Tanı, Erken tanı

Tablo 2. İnvaziv fungal infeksiyonlarda tanı yöntemleri.

Kültüre dayalı tanı yöntemleri	Kültür dışı tanı yöntemleri
Doku-sekresyon kültürleri (kan, bronkoalveoler lavaj, balgam, idrar, apse drenajı, cilt, derin doku-organ biyopsileri)	Serolojik ve moleküler tanı yöntemleri Galaktomannan Beta-glukan Polimeraz zincir reaksiyonu Mannan, enolaz, D-arabinitol, hsp60 Diğer İnce kesitli tomografik inceleme (YRBT) Patolojik inceleme

YRBT: Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi.

yonlarının kültürü özellikle *Aspergillus* infeksiyonlarında %50 veya daha az vakada tanıya yardımcı olmaktadır^[19,20]. Nötropenik olmayan vakalarda solunum yolu sekresyonlarında mantar üretmenin çok fazla bir anlamı olmamakla birlikte, sigara öyküsü olmayan nötropenik vakalarda fungal üreme anlamlı kabul edilmelidir^[21]. Daha önce belirttiğimiz gibi hastalar çoğunlukla trombositopenik olduklarından derin doku biyopsisi genellikle mümkün olmamaktadır. Pulmoner infeksiyonlarda diğer tanı yöntemleri ile tanı konulmadığında transbronşiyal biyopsi veya açık akciğer biyopsisi denenebilir. Hastanın durumunda ciddi kötüleşme varsa ve ampirik tedaviye yanıt vermiyorsa açık akciğer biyopsisi denenebilir, bu işlemin komplikasyon oranı %10-15 civarındadır^[22]. Açık akciğer biyopsisi sonucunda %20-40 vakada tanıya yardımcı olmayan, belli bir özellik göstermeyen patolojik bulgulara rastlanırken, önemli sayıda vakada da yapılan BAL bulgularıyla uyum göstermeyen farklı biyopsi bulguları görülmektedir. Diğer taraftan, tipik radyolojik görüntü itibarıyla pulmoner fungal infeksiyon düşünülen vakalarda yapılan bir çalışmada, bu vakaların açık akciğer biyopsileri sonucunda sadece %51'inde fungal infeksiyon gösterilebilirken, diğer yarısında fungal infeksiyon dışı infeksiyöz/noninfeksiyöz etyolojiler tespit edilmiştir^[23]. Kemik iliği nakli vakalarında açık akciğer biyopsisinin tedavi edilebilir bir sebep bulma açısından etkinliği zayıftır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, pulmoner infiltrasyonları olan ve bir etken bulunamayan 12 kemik iliği transplant vakasında açık akciğer biyopsisi yapılmıştır. Sonuçta bilateral pulmoner nodülü olan hastaların sadece dördünde tedavi edilebilir infeksiyöz bir sebep bulunmuşken, diğer sekiz hastada herhangi bir özellik göstermeyen fibrozis ve benzeri değişiklikler saptanmıştır^[24]. Trombosit sayıları 50.000'in üzerinde ise transbronşiyal biyopsi denenebilir. Son zamanlarda özellikle transtorasik bi-

yopsi yöntemi yüksek duyarlılık düzeyleri ile ön plana çıkmaya başlamıştır. Bu yöntemin komplikasyon oranları %10 civarındadır. Allojenik kemik iliği transplantasyonu (KİT) hastalarında yapılan bir çalışmada, bilgisayarlı tomografi (BT) veya ultrasonografi yardımıyla yapılan pulmoner biyopsilerde 21 vakanın 14 (%67)'ünde fungal infeksiyon gösterilmiştir^[25]. Hematolojik malignitesi olan ve radyolojik olarak pulmoner infiltrasyonları olan hastalarda yapılan başka bir çalışmada da transtorasik ince iğne aspirasyon biyopsisinin fungal infeksiyonları göstermede duyarlılığı %70,5, pozitif prediktif değeri %100 olarak tespit edilmiştir^[26]. Bu çalışmalar gösteriyor ki perkütan ince iğne biyopsisi, açık akciğer biyopsisine göre daha az invaziv ve oldukça etkin bir tanı yöntemidir. Akciğer dışında karaciğer, cilt gibi diğer organlarda da şüpheli lezyonlar varsa yapılacak biyopsiler tanıya yardımcı olabilir. Alınan her türlü sekresyon, doku ve tüm diğer örneklemelerin usulüne uygun transportu ve uygun şartlarda incelenmesi çok önemlidir. Doku parçaları gerekirse homojenize edilerek kültüre ekilmeli, BAL materyalleri alındıktan sonra +4°C'de tutularak nakledilmeli ve en geç dört saat içerisinde değerlendirilmiş olmalıdır^[22]. Biyopsi materyalleri fungal yapıları tanıyan deneyimli patologlarca ve uygun boyama teknikleri ile değerlendirilmelidir.

Febril nötropeni grubu hastaların %15-25'inde takipleri esnasında pulmoner infiltrasyonlar ortaya çıkabilir ve bunların 2/3'ünde ateş ortaya çıktıktan ortalamada beş gün sonra radyolojik incelemede lezyonlar görüntülenebilir. Ateş sebebiyle ampirik antibiyotik almalarına rağmen yeterli ateş yanıtı alınamayan febril nötropenik hastaların konvansiyonel X-ray grafi ile ancak %10'unda akciğer infiltrasyonu tespit edilebilmesine rağmen, aynı anda yapılan BT incelemede bu vakaların %50'sinde bariz veya şüpheli pulmoner infiltrasyonlar gösterilebilir^[27-32]. Özellikle BT

incelemesinde Halo işareti ve Air-crescent bulguları pulmoner aspergillozis açısından önemli ipucu verir. Halo işareti; akciğerde nodüler bir infiltrasyon ve bunu çevreleyen kanama ve ödeme bağlı daha az yoğunluktaki buzlu cam manzarasıdır, pulmoner aspergillozisin erken dönemlerinde ortaya çıkar. Halo işareti pulmoner aspergillozisin üç, yedi ve ondördüncü günlerinde ortalama %68, %22 ve %19 ihtimalle görülebilir, dikkat edilirse hastalığın erken döneminde Halo işaretinin tespit edilme ihtimali daha yüksektir^[33]. Halo işareti febril nötropenik bir hastada özellikle pulmoner aspergillozisi düşündürse de sadece bu hastalığa özgü bir bulgu değildir, diğer küf mantarı infeksiyonlarında, nodüler malignitelere, hemorajik pulmoner nodüller ve Wegener's hastalığı gibi diğer hastalıklarda da görülebilir. Air-crescent (hava-hilal) işareti ise pulmoner aspergillozisin geç döneminde nodül veya infiltratta gelişen kavitasyona bağlı hilal şeklindeki bulgudur. Özellikle nötropeniden çıkmaya yakın dönemde belirginleşir ve pulmoner aspergillozisin geç dönem radyolojik bulgusudur. Air-crescent işareti hastalığın üç, yedi ve ondördüncü günlerinde %8, %25 ve %63 ihtimalle görülebilir^[33]. Air-crescent işareti pulmoner aspergillozis dışında, kavitasyona sebep olan diğer infeksiyonlarda da görülebilir. Özellikle son dönemlerde, febril nötropenik olup da ampirik antibiyotik tedavisine rağmen ateşi 72-96 saati aşkın süredir devam eden vakalarda fungal infiltrasyonları saptamadaki üstünlüğü nedeni ile pulmoner BT görüntüleme yapılması önerilmektedir^[22]. Erken dönem yapılan BT görüntüleme pulmoner fungal infeksiyonların erken tanısında yardımcı olabilir, erken antifungal başlanması ile bu vakalarda prognoz daha iyi olduğu gösterilmiştir^[34]. BT görüntülemede spiral BT'den ziyade ince kesitli yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) ile inceleme tercih edilmelidir.

İfî'lerin tanısında kullanılabilen diğer yöntemler serolojik ve moleküler tanı yöntemleridir. Galaktomannan antijen testi, beta-glukan testi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi üzerlerinde en çok çalışılan yöntemlerdir. Bunlar arasında özellikle galaktomannan antijen testi birçok merkezde rutin kullanıma girmeye başlamıştır. Galaktomannan, *Aspergillus* türlerinin de içinde olduğu *Hyalohyphomycetes* grubu küf mantarlarının hücre duvar yapısında bulunan bir moleküldür. *Aspergillus* infeksiyonları nötropenik hastalarda invaziv seyreder, özellikle damarsal yapılara karşı afinitesi vardır ve çevre damarları invaze eder, ürettiği ortama galaktomannan antijeni salgılar. Galaktomannan antijeni lateks aglutinasyon veya ELISA yöntemi ile hasta kanında veya sekresyonlarında tespit edilebilir, ELISA testi lateks ag-

lutinasyon test metoduna göre daha üstün olduğundan son yıllarda tamamen ELISA yöntemi kullanılmaktadır^[35-39]. ELISA testinde fare EB-A2 monoklonal antikorları ile galaktomannanın yan zinciri olan (1→5)-β-D-galaktofuranoz molekülü tespit edilir. Farklı çalışmalarda, nötropenik hasta gruplarında pulmoner aspergillozis tanısına yönelik olarak kullanıldığında testin duyarlılığı %67-100, özgüllüğü ise %81-99 oranlarında bulunmuştur^[35,36,40,41]. Bu çalışmalarda nötropenik hastalarda düzenli aralıklarla galaktomannan antijen testi yapıldığında pulmoner aspergillozis gelişmesinden ortalama üç-dört gün kadar önce serumda antijen pozitifliği gösterilebilmektedir. Ayrıca, pulmoner aspergillozisli vakaların takiplerinde serum galaktomannan antijen testi, uygulanan antifungal tedavinin başarı düzeyi ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Galaktomannan antijeni serumdan kısa sürede uzaklaştırdığı için haftada iki veya daha fazla sıklıkta bakılması önerilmektedir, iki veya daha fazla sayıda ardışık serum örneğinin pozitif olması testin duyarlılığını daha da arttırmaktadır^[36]. Bu test açısından en önemli handikap yetişkinlerde %6-14 arasında değişen, pediatrik popülasyonda ise %83'lere kadar varan yüksek yalancı pozitiflik düzeyleridir^[36-38,40,42-45]. Galaktomannan çeşitli besin ürünlerinde (süt ve süt ürünleri, tahıllar, besin katkı maddeleri) bulunabildiğinden muhtemelen bu maddelerin bağırsaklardan translokasyonu yalancı pozitiflikte rol oynamaktadır; piperasilin-tazobaktam alan hastalarda da bu antibiyotiğin muhtemelen üretim bandında galaktomannan ile kontamine olması sebebiyle yalancı pozitiflikler olabilmektedir^[44,46,47]. Özellikle neonatal yaş grubunda, süt ve süt ürünlerinin yoğun alınmasının yanında bu yaş grubunda bağırsaklarda yoğun olarak bulunan *Bifidobacterium* türlerinin yalancı pozitiflikte rol oynayabileceği gösterilmiştir^[45]. Diğer taraftan oral alımı olmayan ve tamamen parenteral beslenen KİT hastalarında yoğun mukozite rağmen yalancı pozitiflik olmadığı gösterilmiştir^[48]. Yapılan bir başka çalışmada da özellikle anti-*Aspergillus* antikor oluşumunun yalancı negatifliğe sebep olabileceği gösterilmiştir, bu vakalarda testin "cut-off" değerlerinin düşürülmesi yalancı negatifliği azaltmaktadır^[42]. Galaktomannan antijen testi serum örnekleri dışında BAL, trakeal sekresyon, beyin omurilik sıvısı gibi çeşitli vücut sıvı ve sekresyonlarında da bakılabilmektedir. Özellikle BAL ve trakeal sekresyonlarda yapılan testler umut verici olmakla birlikte henüz serum testi kadar oturmuş bir kullanımları yoktur^[49]. BT ile tespit edilen ve etyolojisi belirlenemeyen nötropenik pnömoni hastalarında alınan BAL sıvıları test edildiğinde tüm pulmoner aspergillozisli vakalar galaktomannan

pozitif bulunurken, ardışık serum testi takiplerinde pulmoner aspergillozisi vakaların sadece yarısında galaktomannan testi pozitif bulunmuştur^[50]. Son olarak, bu test "European Organisation for Research and Treatment of Cancer/National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycosis Study Group (EORTC-MSG)" tarafından belirlenen fungal infeksiyonların tanı kriterleri arasında yer almaktadır^[51]. Ancak unutmamak lazım ki EORTC-MSG kriterleri hasta takibinde kullanılmaktan ziyade İFİ'lerin tanımlanması ve sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Galaktomannan testi ile nötropenik hasta takibinde prospektif olarak yapılmış etkinlik testlerine ihtiyaç vardır.

Fungal infeksiyonların tanısında kullanılan bir diğer serolojik test yöntemi de beta-glukan testidir. (1→3)-β-D-glukan *Candida* ve *Aspergillus* türleri başta olmak üzere birçok maya ve küf mantarının hücre duvar yapısında bulunan bir moleküldür^[52]. Denizde yaşayan ve Horseshoe crab olarak bilinen bir canlıdan izole edilen faktör G, beta-glukan ile temas ettiğinde kimyasal bir reaksiyon verir; beta-glukan testi bu kimyasal etkileşim temelinde geliştirilmiş bir testtir^[53-55]. Bu konuda ilk geliştirilen test Japonya orijini Fungitec-G™ beta-glukan testidir (Seikagaku Corporation, Tokyo, Japan). Bu test ile 1995 yılında yapılan bir çalışmada, testin duyarlılığı %90, özgüllüğü %100 olarak tespit edilmiştir^[56]. Bu test yöntemi ile geliştirilen bir diğer kit ise Amerika Birleşik Devletleri orijini Glucate™ beta-glukan testidir (Associates of Cape Cod, Falmouth, MA, US). Bu kit ile AML/MDS grubu nötropenik hastalarda yapılan çalışmada fungal infeksiyonların tanısında kanıtlanmış İFİ'lerde testin duyarlılığı %100, özgüllüğü %90, negatif prediktif değeri %100 olarak bulunmuştur^[57]. İki veya daha fazla sayıda ardışık serum örneği pozitif olduğunda testin özgüllüğü %96-100'lere varırken, pozitif prediktif değeri %40'lardan %98-100'e çıkmaktadır. Hastaların düzenli serolojik takiplerinde klinik olarak fungal infeksiyon tanısından 10 gün önce (median) testin pozitifleşmeye başladığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda beta-glukan testi ile *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Trichosporon* türleri gibi farklı fungal etkenlere bağlı İFİ'ler gösterilebilmiştir. Beta-glukan testinde diğer serolojik yöntemlere göre yalancı pozitiflik değerleri oldukça düşüktür (\leq %7) ve test sonucu iki saatte alınabilmektedir; 5 µL serum test için yeterli olmaktadır. Bu test ile yalancı pozitifliğe sebep olan durumlar selüloz hemodializ membranları ve bazı immünglobulin preparatlarıdır^[58,59]. Testin dezavantajı sayılabilecek nokta ise fungal infeksiyonların tanısı açısından belli bir mantar türüne özgü olmamasıdır. Hücre duvarında

beta-glukan düzeyi çok düşük düzeyde olan *Zygomycetes* infeksiyonlarında ve *Cryptococcus* infeksiyonlarında test negatif sonuç vermektedir^[52,60,61]. Genel olarak beta-glukan testi etkinliği açısından ümit verici olmakla birlikte bu yöntemle yapılmış daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Son olarak yakın zamanda Fungitell adı altında ticari kullanım için "Food and Drug Administration (FDA)" onayı almıştır.

Moleküler tanı yöntemi olan PCR ile fungal DNA yapısını tespit edilebilmektedir. Bu konuda geliştirilen ve deneme sürecinde olan birçok PCR yöntemi olmasına rağmen henüz pratik kullanıma giren standart bir PCR protokolü yoktur. Pan-fungal primerler (örneğin; 18S ribozomal DNA) ya da *Aspergillus* gibi belli bir mantar türüne yönelik primerler aracılığıyla hasta serum ya da BAL sıvısında fungal infeksiyon araştırması yapılabilmektedir^[62-67]. Bu yöntem ile özellikle pulmoner aspergillozis tanısına yönelik çalışmalarda testin duyarlılığı %75-100, özgüllüğü ise %90'ların üzerinde bulunmuştur^[68,69]. Bu çalışmalarda galaktomannan antijen testinde olduğu gibi haftada iki kez veya daha fazla alınan serum örnekleri ile düzenli test edildiğinde klinik infeksiyon başlamadan ortalama dokuz gün önce testin pozitifleşmeye başladığı gösterilmiştir. Test açısından en önemli handikap ise yüksek yalancı pozitiflik ve buna bağlı düşük pozitif prediktif değerleridir (%42-44). Yalancı pozitiflik değerleri özellikle BAL sıvısı test edildiğinde fungal kolonizasyon riski nedeniyle daha sık olmaktadır^[70]. Son zamanlarda geliştirilen RT-PCR yöntemi ile fungal yük miktarının hassas bir şekilde gösterilmesi sağlanmıştır, ancak bu yöntem ile yapılan çalışmalarda da yalancı pozitiflik sorun olmaya devam etmektedir^[71-73]. Kemik iliği nakli hastalarında BAL sıvılarında aspergilloz tanısına yönelik olarak galaktomannan ve PCR testlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, galaktomannan testinin duyarlılığı %76 özgüllüğü %94 bulunurken, PCR testinin duyarlılığı %67, özgüllüğü ise %100 olarak bulunmuştur^[74].

Yukarıda belirttiğimiz tanı yöntemleri dışında, özellikle kandida infeksiyonlarının tanısında kullanılan diğer serolojik yöntemler; mannan antijeni, sitoplazmik antijenler (enolaz, hsp60) ve hifal kandida formlarınca üretilen antijenlerin tespitine dayanan testlerdir. Bu antijenlere karşı gelişen spesifik antikorları tespit eden testler genelde başarısızlıkla sonuçlanmıştır, yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflikler ciddi sorun olarak bu testleri geri plana itmiştir. Syscan3 adında geliştirilen bir ELISA yöntemi ile nötropenik hastalarda yapmış olduğumuz bir çalışmada (kandida mannan antikor testi) testin duyarlılığı

ğı %14, özgüllüğü ise %83 olarak bulundu, bu değerler beklentileri karşılamaktan uzaktı^[75].

Mannan antijeni oldukça özgün bir antijen olmasına rağmen serum yarı ömrünün çok kısa olması ve antikorlara hızla bağlanması nedeniyle serodiagnostik tanı açısından yeterli sonuç sağlamamaktadır. *Candida* kolonizasyonu ve infeksiyonu ayırımında bu testlerde sıkıntılar olduğu görülmüştür. Enolaz sitoplazmik antijeni özellikle invaziv kandida infeksiyonlarında serumda tespit edilebilir, ancak duyarlılığı %54 civarında olan enolaz testi de istenen düzeyde tanıda yardımcı bulunmamıştır^[76]. D-arabinitol *Candida* türlerine özgü bir metabolittir ve serumda tespiti invaziv kandida infeksiyonu tanısında kullanılabilir. Ancak *Candida krusei* ve *Candida glabrata* türlerince arabinitol üretilmemektedir. Bu metabolit böbrek üzerinden atıldığı için böbrek yetmezliğinde artabildiğinden test amaçlı kullanıldığında D-arabinitol/kreatinin oranı kullanılır. Bu yöntemle 274 kanser hastasında yapılan çalışmada, fungemili hastalarda testin duyarlılığının %74, sadece derin doku tutulumu olan ve biyopsiyle tanısı konmuş 10 invaziv kandida hastasında ise %40 olduğu gösterilmiştir^[77].

Özet olarak nötroopenik hastalarda fungal infeksiyonların erken tanı ve tedavisinin prognozu ciddi düzeyde etkilemesi sebebiyle günümüzde kullandığımız klasik tanı yöntemlerinin yanında etkin erken tanı yöntemlerine ihtiyaç vardır. Belirttiğimiz serolojik testler ve YRBT incelemesi bu konuda ümit vericidir. Erken YRBT incelemenin pulmoner infeksiyonların tanısında etkinliğinin gösterilmesi sebebiyle özellikle ampirik antifungal başlanması öncesinde febril nötroopenik hastalarda rutin olarak yapılması önerilmektedir. Mevcut serolojik tanı yöntemleri erken tanı oldukça faydalı gibi görünse de bu testlerin prospektif olarak tedavide ve prognozda etkinliklerini değerlendiren çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Bow EJ, Loewen R, Cheang MS, Schacter B. Invasive fungal disease in adults undergoing remission-induction therapy for acute myeloid leukemia: The pathogenetic role of the antileukemic regimen. *Clin Infect Dis* 1995; 21:361-9.
- Groll AH, Shah PM, Mentzel C, et al. Trends in the post-mortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infection* 1996;33:23-32.
- De La Rosa G, Champlin R, Kontoyiannis D. Risk factors for the development of invasive fungal infections in allogeneic blood and marrow transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2001;4:3-9.
- O'Brien SN, Blijlevens NM, Mahfouz TH, Anaissie EJ. Infections in patients with hematological cancer: Recent developments. *Hematology* 2003;438-72.
- Fleming RV, Walsh TJ, Anaissie EJ. Emerging and less common fungal pathogens. *Infect Dis Clin North Am* 2002;16:915-33.
- Singh N. Trends in the epidemiology of opportunistic fungal infections: Predisposing factors and the impact of antimicrobial use practices. *Clin Infect Dis* 2001;33:1692-6.
- Walsh TJ, Groll AH. Emerging fungal pathogens: Evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. *Transpl Infect Dis* 1999;1:247-61.
- Abbasi S, Shenep JL, Hughes WT, Flynn PM. Aspergillosis in children with cancer: A 34-year experience. *Clin Infect Dis* 1999;29:1210-9.
- Pagano L, Antinori A, Ammassari A, et al. Retrospective study of candidemia in patients with hematological malignancies. Clinical features, risk factors and outcome of 76 episodes. *Eur J Haematol* 1999;63:77-85.
- Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, et al. Candidemia in cancer patients: A prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 1999;28:1071-9.
- Wallace JM, Lim R, Browdy BL, et al. Risk factors and outcomes associated with identification of *Aspergillus* in respiratory specimens from persons with HIV disease. *Chest* 1998;114:131-7.
- Aisner J, Wiernik PH, Schimpff SC. Treatment of invasive aspergillosis: Relation of early diagnosis and treatment to response. *Ann Intern Med* 1977;86:539-43.
- von Eiff M, Roos N, Schulten R, Hesse M, Zuhlsdorf M, van de Loo J. Pulmonary aspergillosis: Early diagnosis improves survival. *Respiration* 1995;62:341-7.
- Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1997;24:1122-8.
- Berenguer J, Buck M, Witebsky F, Stock F, Pizzo PA, Walsh TJ. Lysis-centrifugation blood cultures in the detection of tissue-proven invasive candidiasis. Disseminated versus single-organ infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993;17:103-9.
- Boutati EI, Anaissie EJ. *Fusarium*, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: Ten years' experience at a cancer center and implications for management. *Blood* 1997;90:999-1008.
- Girmenia C, Jaalouk G. Detection of *Candida* in blood smears of patients with hematologic malignancies. *Eur J Haematol* 1994;52:124-5.
- Duthie R, Denning DW. *Aspergillus* fungemia: Report of two cases and review. *Clin Infect Dis* 1995;20:598-605.
- Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Med* 1996;100:171-8.
- Raño A, Agustí C, Jimenez P, et al. Pulmonary infiltrates in non-HIV immunocompromised patients: A diagnostic approach using noninvasive and bronchoscopic procedures. *Thorax* 2001;56:379-87.
- Yu VL, Muder RR, Poorsattar A. Significance of isolation of *Aspergillus* from the respiratory tract in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: Results from a three-year prospective study. *Am J Med* 1986;81:249-54.
- Maschmeyer G, Beinert T, Buchheidt D, et al. Diagnosis and antimicrobial therapy of pulmonary infiltrates in febrile neutropenic patients. *Ann Hematol* 2003;82:118-26.

23. Kim K, Lee M, Kim J, et al. Importance of open lung biopsy in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *Ann Hematol* 2002;71:75-9.
24. Shaikh ZHA, Torres A, Walsh GL, Champlin RE, Kontoyiannis DP. Open lung biopsy in bone marrow transplant recipients has poor diagnostic yield for a specific diagnosis. *Transpl Infect Dis* 2001;4.
25. Jantunen E, Piilonen A, Volin L, et al. Radiologically guided fine needle lung biopsies in the evaluation of focal pulmonary lesions in allogeneic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:353-6.
26. Nosari A, Anghilieri M, Carrafiello G, et al. Utility of percutaneous lung biopsy for diagnosing filamentous fungal infections in hematologic malignancies. *Haematologica* 2003;88:1405-9.
27. Barloon TJ, Galvin JR, Mori M, Stanford W, Gingham RD. High-resolution ultrafast chest CT in the clinical management of febrile bone marrow transplant patients with normal or nonspecific chest roentgenograms. *Chest* 1991;99:928-33.
28. Feusner J, Cohen R, O'Leary M, Beach B. Use of routine chest radiography in the evaluation of fever in neutropenic oncology patients. *J Clin Oncol* 1988;6:1969-702.
29. Heussel C, Kauczor H, Heussel G, et al. Pneumonia in febrile neutropenic patients and in bone marrow and blood stem-cell transplant recipients: Use of high-resolution computed tomography. *J Clin Oncol* 1999;17:796-805.
30. Heussel C, Kauczor H, Heussel G, Fischer B, Mildemberger P, Thelen M. Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients: Use of thin-section CT. *Am J Roentgenol* 1997;169:1347-53.
31. Janzen D, Padley S, Adler B, Muller N. Acute pulmonary complications in immunocompromised non-AIDS patients: Comparison of diagnostic accuracy of CT and chest radiography. *Clin Radiol* 1993;47:159-65.
32. Jochelson M, Altschuler J, Stomper P. The yield of chest radiography in febrile and neutropenic patients. *Ann Intern Med* 1986;105:708-9.
33. 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;19:253-9.
34. Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, 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.
35. Maertens J, Verhaegen J, Demuynck H, et al. Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1999;37:3223-8.
36. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Bogaerts M. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: A prospective validation. *Blood* 2001;97:1604-10.
37. Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latge JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1995;33:497-500.
38. Verweij PE, Latge JP, Rijs AJMM, et al. Comparison of antigen detection and PCR assay using bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in patients receiving treatment for hematological malignancies. *J Clin Microbiol* 1995;33:3150-3.
39. Verweij PE, Stynen D, Rijs AJMM, de Pauw BE, Hoogkamp-Korstanje JAA, Meis JFGM. Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay compared with Pastorex latex agglutination test for diagnosing invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* 1995;33:1912-4.
40. Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, Leblanc T, Lacroix C, Derouin F. Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study. *Cancer* 2001;91:311-8.
41. Williamson ECM, Oliver DA, Johnson EM, Foot ABM, Marks DI, Warnock DW. *Aspergillus* antigen testing in bone marrow transplant recipients. *J Clin Pathol* 2000;53:362-6.
42. Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, et al. *Aspergillus* galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Oncol* 2002;20:1898-906.
43. Rohrlach P, Sarfati J, Mariani P, et al. Prospective sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for serum galactomannan: Early predictive value and clinical use in invasive aspergillosis. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:232-7.
44. Swanink CMA, Meis JFGM, Rijs AJMM, Donnelly JP, Verweij PE. Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *Aspergillus* galactomannan. *J Clin Microbiol* 1997;35:257-60.
45. Verweij P, Klont R, Warris A, Op Den Camp H, Mennink-Kersten M. Cross-reactivity of antigalactomannan antibody EB-A2 with lipoteichoic acid (LTA) of *Bifidobacterium bifidum* spp. *pennsylvanicum*, p. Abstract: M-1027, page 462, 43rd ICAAC Abstracts, American Society for Microbiology, September, 2003, Chicago, IL.
46. Ansoerg R, van der Bloom R, Rath P. Detection of *Aspergillus* antigen in food and antibiotics. *J Clin Microbiol* 1997;40:353-7.
47. Sulahian A, Touratier S, Leblanc T, Rouselot P, Derouin F, Ribaut P. False positive *Aspergillus* antigenemia related to concomitant administration of tazocillin, p. Abstract: M-2062a. 43rd ICAAC Abstracts, American Society for Microbiology, September, 2003, Chicago, IL.
48. Blijlevens N, Donnelly J, Meis J, Verweij P, de Pauw B. *Aspergillus* galactomannan antigen levels in allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients given total parenteral nutrition. *Transpl Infect Dis* 2002;4:64-5.
49. Ruhnke M, Scheer C, Otto K, Maschmeyer G, Schwartz S. Value of galactomannan detection (platelia *Aspergillus*) from bronchoalveolar lavage samples for diagnosis of aspergillosis, p. Abstract: M-1029, page 462. 43rd ICAAC Abstracts, American Society for Microbiology, September, 2003, Chicago, IL.
50. Becker M, Lugtenburg E, Cornelissen J, van Der Schee C, Hoogsteden H, De Marie S. Galactomannan detecti-

- on in computerized tomography-based broncho-alveolar lavage fluid and serum in haematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. *Br J Haematol* 2003;121:448-57.
51. Ascioğlu S, Rex JH, de Pauw B, 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.
 52. Odabasi Z, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, McGinnis MR, Ostrosky-Zeichner L. Differences in beta-glucan (BG) levels in culture supernatants of a variety of fungi. Program and abstracts of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; September 14-17, 2003, Chicago, IL.
 53. Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, Maesaki S, Tanaka K, Hara K. (1→3)-beta-D-glucan in culture fluid of fungi activates factor G, a limulus coagulation factor. *J Clin Lab Anal* 1995;9:334-9.
 54. Morita T, Tanaka S, Nakamura T, Iwanaga S. A new (1→3)-β-D-glucan-mediated coagulation pathway found in limulus amebocytes. *FEBS Lett* 1981;129:318-21.
 55. Ohki M, Nakamura T, Morita T, Iwanaga S. A new endotoxin sensitive factor associated with hemolymph coagulation system of horseshoe crab (Limulidae). *FEBS Lett* 1980;120:217-20.
 56. 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: 17-20.
 57. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cut-off development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis* 2004;39:199-205.
 58. Ikemura K, Ikegami K, Shimazu T, Yoshioka T, Sugimoto T. False-positive result in Limulus test caused by Limulus amebocyte lysate-reactive material in immunoglobulin products. *J Clin Microbiol* 1989;27:1965-8.
 59. Kato A, Takita T, Furuhashi M, Takahashi T, Maruyama Y, Hishida A. Elevation of blood (1→3)-beta-D-glucan concentrations in hemodialysis patients. *Nephron* 2001; 89:15-9.
 60. Jojima H. Early diagnosis and treatment of pulmonary opportunistic infection by using polymerase chain reaction and beta-glucan in patients with hematological neoplasms. *Kurume Med J* 2001;48:117-27.
 61. Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, et al. Plasma (1→3)-β-D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. *J Clin Microbiol* 1995;33:3115-8.
 62. Bretagne S, Costa JM, Marmorat-Khoung A, et al. Detection of *Aspergillus* species DNA in bronchoalveolar lavage samples by competitive PCR. *J Clin Microbiol* 1995;33:1164-8.
 63. Einsele H, Hebart H, Roller G, et al. Detection and identification of fungal pathogens in blood by using molecular probes. *J Clin Microbiol* 1997;35:1353-60.
 64. Melchers WJ, Verweij PE, van den Hurk P, et al. General primer-mediated PCR for detection of *Aspergillus* species. *J Clin Microbiol* 1994;32:1710-7.
 65. Skladny H, Buchheidt D, Baust C, et al. Specific detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples of immunocompromised patients by two-step PCR. *J Clin Microbiol* 1999;37:3865-71.
 66. Van Burik JA, Myerson D, Schreckhise RW, Bowden RA. Panfungal PCR assay for detection of fungal infection in human blood specimens. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1169-75.
 67. Walsh TJ, Francesconi A, Kasai M, Chanock SJ. PCR and single-strand conformational polymorphism for recognition of medically important opportunistic fungi. *J Clin Microbiol* 1995;33:3216-20.
 68. Hebart H, Löffler J, Meisner C, et al. Early detection of *Aspergillus* infection after allogeneic stem cell transplantation by polymerase chain reaction screening. *J Infect Dis* 2000;181:1713-9.
 69. Lass-Flörl C, Aigner J, Gunsilius E, et al. Screening for *Aspergillus* spp. using polymerase chain reaction of whole blood samples from patients with haematological malignancies. *Br J Haematol* 2001;113:180-4.
 70. Raad I, Hanan H, Huaranga A, Sumoza D, Hachem R, Albitar M. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis using polymerase chain reaction-based detection of *Aspergillus* in BAL. *Chest* 2002;121:1171-6.
 71. Kami M, Fukui T, Ogawa S, et al. Use of real-time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2001;33:1504-12.
 72. Loeffler J, Henke N, Hebart H, et al. Quantification of fungal DNA by using fluorescence resonance energy transfer and the light cycler system. *J Clin Microbiol* 2000;38:586-90.
 73. Pham A, Tarrand JJ, May G. Diagnosis of invasive mold infections by real-time quantitative PCR. *Am J Clin Pathol* 2003;119:38-44.
 74. Musher B, Fredricks D, Leisenring W, et al. *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay and quantitative PCR for diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol* 2004;42:5517-22.
 75. Philip A, Odabasi Z, Mattiuzzi G, Paetznick V, Rex J, Ostrosky-Zeichner L. SysCan3 for the detection of anti-*Candida* antibodies for the diagnosis of invasive candidiasis (IC)., p. M-2060, p. 479. 43rd ICAAC, 2003, Chicago.
 76. Walsh TJ, Hathorn JW, Sobel JD, et al. Detection of circulating *Candida* enolase by immunoassay in patients with cancer and invasive candidiasis. *N Engl J Med* 1991;324:1026-31.
 77. Walsh TJ, Merz WG, Lee JW, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis by rapid enzymatic detection of serum D-arabinitol. *Am J Med* 1995; 99:164-72.

Yazışma Adresi:

Uzm. Dr. Zekaver ODABAŞI
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İSTANBUL

Makalenin Geliş Tarihi: 13.05.2005

Kabul Tarihi: 20.05.2005