

# İNVAZİV ASPERGİLLOZUN TANISINDA (1,3)-BETA-D GLUKAN VE GALAKTOMANNANIN TANISAL DEĞERİ

Hatice Tuna Hörmet Öz,<sup>1</sup> A. Nedret Koç,<sup>1</sup> M. Altay Atalay,<sup>1</sup> Bülent Eser,<sup>2</sup> Orhan Yıldız,<sup>3</sup> Leyla Gül Kaynar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

<sup>3</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

## ÖZET

**Amaç:** İnvaziv aspergillozis (İA) yüksek mortalite oranlarına sahip bir hastalıktır. Erken tanı çok önemli iken konvansiyonel yöntemlerle bunu yapmak çok zordur. Bu nedenlerle, alternatif tanı yöntemleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada İA'da galaktomannan (GM) ve 1,3 β-D gluklan (BDG) antijen testlerinin tanısai değerini araştırılması amaçlandı.

**Materyal ve Metod:** Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Hastaneleri kliniklerinde takip edilen İA şüpheli 87 hastadan alınan çeşitli klinik örnekler çalışmaya dahil edildi. Klinik örnekler kültür ve direkt mikroskopi ile değerlendirildi. Aspergillus antijeni serum örneklerinde GM (Platelia Aspergillus, BioRad, France) ve BDG (Fungitell; Associates of Cape Cod) yöntemleri ile araştırıldı.

**Bulgular:** Çalışmada 87 hastanın 57'si İA'lı bunların 3'ü kesin, 33'ü yüksek olasılıklı ve 21'de düşük olası-

lıklı ve 30'u kontrol grup olarak sınıflandırıldı. İA'lı 57 hastanın %68'inin BDG testi ve %38'inin GM testi pozitif. BDG ve GM testlerinin birlikte kullanımı ile duyarlılık %71,9'a yükselirken özgüllük %91'e düşmüştür. Bu hastaların 16'sının kültüründe Aspergillus türleri (13'ünde A. fumigatus, ikisinde A. flavus ve birinde A. niger) üredi. Kültürü pozitif hastalarda ise GM testinin duyarlılıkları (cut off ≥0,5) %68 iken BDG testinin (cut off ≥80 pg/ml) duyarlılıkları tek, ardışık örnekte sırasıyla %93, %62 olarak belirlendi.

**Sonuç:** Yüksek riskli İA tanısında BDG testi tanıma en yüksek duyarlılığı sahip olduğu ve iki testin birlikte kullanımı ile duyarlılığın arttığı saptanmıştır. Bundan dolayı İA tanısında iki testin birlikte kullanılması gerektiği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Aspergillus, (1,3)-β-D-glukan, galaktomannan, invaziv aspergilloz Nobel Med 2014; 10(2): 44-49

## THE DIAGNOSTIC VALUE OF THE GLACTOMANNAN AND (1, 3)- BETA-D-GLUCAN IN DIAGNOSIS OF INVASIVE ASPERGILLOSIS

### ABSTRACT

**Objective:** Invasive aspergillosis (IA) is associated with an unacceptably high mortality rate. Early diagnosis is critical to a favourable outcome, but it is difficult to achieve with conventional methods. For these reasons, a range of alternate diagnostic strategies have been investigated. It was aimed to evaluate the diagnostic potential of the galactomannan (GM), 1, 3 beta-D-glucan (BDG) for IA.

**Material and Methods:** Various clinical specimens of the 87 patients with suspected IA infections and 30 control patients in Erciyes University Gevher Nesibe Hospitals clinics were included in this study. Culture and direct microscope of clinical specimens were performed. Aspergillus antigen was investigated in sera specimens by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for GM (Platelia Aspergillus, BioRad, France) and an assay for BDG (Fungitell; Associates of Cape Cod).

**Results:** A total of 87 patients 57 patients with IA and 30 control patients were included in this study and of the 57 patients 3 had proven IA cases, 33 probable IA cases and 21 possible invasive fungal infections. Fifty-seven patients had proven, probable and possible IA that were positive in 68% for BDG assay and in 38% for GM assay. The use of a combination of the BDG and the GM assay increased the sensitivity to 71.9%, decreased the specificity to 91%. Cultures of 16 patients was isolated in Aspergillus species (13 *A. fumigatus*, *A. flavus*, and one of two *A. niger*). Diagnostic performance of GM test at different cutoff values and BDG test, respectively for cultures of 16 patients were in 68% for the GM test (cut off  $\geq 0.5$ ) in 93%, 62% for BDG test (cut off  $\geq 80$  pg/ml) (single and consecutively example).

**Conclusion:** Among these screening tests for IA, BDG test was the most sensitive at predicting the diagnosis of IA in high-risk patients and a combination of two tests would improve the diagnosis of IA. Therefore, the diagnosis of IA should be considered by the use of both tests.

**Key Words:** Aspergillus, (1,3)- $\beta$ -D-glucan, galactomannan, invasive aspergillosis *Nobel Med 2014; 10(2): 44-49*

### GİRİŞ

İnvaziv mantar hastalıkları risk altındaki hasta sayısındaki artış ile giderek daha da önem kazanmıştır. İnvaziv mantar hastalıklarından özellikle *Aspergillus* türlerinde belirgin bir artış olmuştur.<sup>1</sup> İnvaziv aspergilloz (İA) immün yetmezliği olan hastalarda, özellikle kemik iliği transplantasyonu (KİT) olmuş ve hematolojik maligniteli hastalarda görülürken, son zamanlarda immün yetmezliği olmayan kişilerde de bildirilmektedir.<sup>1,2</sup>

İA tanısı klinik bulgularla laboratuvar verilerinin birleştirilmesine dayanır. Klinik bulgular çoğunlukla özgül değildir ve başka hastalıklarla karışabilir.<sup>2</sup> Laboratuvar tanısında kullanılan direkt mikroskopi ve kültür yöntemleri gibi klasik yöntemler, altın standart olup tanıdaki önemini korumaktadır. Hematolojik malignitesi olan hastalarda nötropeni ve trombositopeni gibi hemostaz kusuru oluştuğunda invaziv tanı yöntemleri yeterince uygulanamamaktadır. Üstelik kültür sonuçları çıkana kadar geçen süre tedavide önemli gecikmelere yol açmaktadır. Bu nedenle serolojik yöntemler erken tanı için geliştirilen testler olup özellikle kritik hastalarda tedavinin yönlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.<sup>3,4</sup> Antijen saptamaya yönelik kullanılan ilk test, kanda ve vücut sıvılarında *Aspergillus* türlerinin ekzoantijeni olan galaktomannan (GM) antijeni saptanmasıdır. GM, İA'nın erken tanısında bir tarama testi olarak kullanılabilir.<sup>5,6</sup> *Aspergillus* türleri-

nin hücre duvarında bulunan bir diğer komponentte (1-3)- $\beta$ -D-glucan (BDG)'dir. Tanı sistemi, 'horseshoe crab'dan (Kuzey Amerika Atlantik sahilindeki bir arthropod) pürifiye edilen, proteolitik koagülasyon kaskadının aktivasyonuna dayalıdır. Bu test BDG'nin pikogram düzeyinde miktarını ölçebilmekte ve sistemik fungal enfeksiyon sırasında bu polisakkaridin varlığını göstermek için kullanılabilir. GM'nin tersine normal olarak fungal hücreden salınmazlar. İmmünolojik molekül olmamasına rağmen tanıda kullanılmaktadır. Testin en önemli dezavantajı belli bir mantar türüne özgü olmamasıdır.<sup>6-12</sup>

Bu çalışmada, İA düşünülen hastaların klinik örneklerinde kültür, GM ve BDG yöntemleri kullanılarak mikrobiyolojik tanının değerlendirilmesi amaçlandı.

### MATERYAL ve METOD

**Hasta ve örnekler:** Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kliniklerinde yatarak takip edilen immün yetmezlikli ve İA şüpheli hastalardan alınan klinik örnekler çalışmaya alındı. Hastalar hematolojik malignitesi nedeni ile, kemoterapi (KT) verilmiş, nötropenik veya uzun süredir immünsupresif ilaç kullanan pediyatrik ve erişkin hastalardan oluşmaktadır. Klinik örnekler balgam, bronkoalveoler lavaj (BAL), akciğer biyopsi dokusu, plevra, paranazal sinüsten alınan materyal ve kandi. Klinik olarak geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine →

İNVAZİV ASPERGİLLOZUN TANISINDA (1,3)-BETA-D GLUKAN VE GALAKTOMANNANIN TANISAL DEĞERİ

rağmen düşmeyen ateşi, öksürük, göğüs ağrısı olan hastalardan kan örnekleri alındı. Kan örneklerinden serum ayrıştırılarak BDG ve GM testlerinin çalışılması için -20 °C'de saklandı.

Klinik olarak sınıflamada EORTC/MSG (Avrupa Kanseri Araştırma ve Tedavi Organizasyonu /Mikoz Çalışma Grubu)'nin belirlediği kriterler uygulandı.<sup>13,14</sup>

#### Klinik örneklerin mikolojik değerlendirilmesi:

Hastalardan alınan balgam, BAL, akciğer biyopsi dokusu, plevra, paranazal sinüsten alınan materyal örneklerinin %10'luk KOH, Gram, Giemsa ve kalkanoflor beyazı boyama ile direkt mikroskopik incelemeleri yapıldı. Bu klinik örnekler antibiyotikli ve antibiyotiksiz Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerlerine ekildi. Biri 37°C'de, diğerleri de 25°C'lik etüvlerde 3 hafta inkübe edildi. İlk hafta her gün daha sonra haftada 3 kere üreme olup olmadığı değerlendirildi.

Kültürde küf üreyen kolonilerin makroskopik ve mikroskopik morfolojisine göre cins ve tür tanımlanması yapıldı.<sup>15</sup>

**BDG Test:** Fungitell test kiti (Fungitell kit; Associates of Cape Cod, East Falmouth, MA) ile çalışıldı. BDG testi üretici firmanın önerdiği şekilde yapıldı. Test çalışıldıktan sonra 37°C ısısında 405 nm ile 490 nm arasında değişen 40 dakika süren okuma cihazında okunması sağlandı (BioTek ELX808). BG testi, hastaların serumlarında en az birinde 80 pg/ml olursa pozitif olarak kabul edildi.<sup>4,8,16,17</sup>

**GM test:** Platelia Aspergillus ELISA testi (Bio-Rad, France) ile üretici firmanın önerdiği şekilde yapıldı. Sonuçlar ardışık örneklerde cut off  $\geq 0,5$  pozitif olarak kabul edildi.<sup>5,17</sup>

**İstatistiksel analiz:** Nitel veriler %100 olarak tanımlandı. Tanı kriteri olarak duyarlılık ve özgüllük hesaplamaları yapıldı. Testler arasındaki istatistiksel farklılığa McNemar testi kullanılarak bakıldı. Testler arasındaki uyuma ise kappa katsayısı hesaplanarak bakıldı. Anlamlılık seviyesi 0,05 olarak alındı.

## BULGULAR

**Hasta özellikleri:** Çalışmaya alınan 87 hastanın 57'si İA tanısı aldı. İA tanısını alan 57 hastanın 3'ü kesin, 33'ü yüksek olasılıklı, 21'i düşük olasılıklı olarak sınıflandırılırken; İA olmayan 30 hasta kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Çalışmada İA tanısı alan 57 hastanın 36 (%63,2)'sini erkek, 21 (%36,8)'i kadındı ve yaş ortalamaları 43,3 ( $\pm 18,3$ ) idi. Yine İA olmayan 30 hastanın 14 (%46,6)'ü

Hasta bilgileri	Kesin İA	Yüksek olasılıklı (İA)	Düşük olasılıklı (İA)	İA Olmayan
Cinsiyet (E/K)	3E	22/11	11/10	14/16
Hasta sayısı	3	33	21	30
Alt yatan hastalıklar				
AML*	1	15	12	16
ALL*	-	6	3	9
AA*	-	2	3	1
Lenfoma	-	3	2	2
Diğer*	2	5	2	2
Nötropeni	-	15	6	23
Kemoterapi tedavisi (KT)	-	7	4	7
Nötropeni+KT	1	7	10	-
Steroid tedavisi alanlar	1	4	1	-
BDG** Pozitif hasta	2	28	8	2
GM*** Pozitif hasta	2	13	5	1
Kültür pozitif hasta	3	11	2	2****

\* AML: Akut miyeloid lösemi, ALL: akut lenfoblastik lösemi, AA: aplastik anemi, diğer: Sistemik lupus eritematozus, multiple myeloma, mezotelyoma, 3 kronik obstrüktif akciğer hastalığı, 2 si tüberküloz, Wegener granülomatozu, \*\*BDG testi için cut off değeri: Tek örnekte 80 pg/ml, \*\*\*GM testi için cut off değeri: 0,5 ng/ml, \*\*\*\*İA olmayan hastaların 2'sinin kültüründe C. albicans üredi

TESTLER	GM*	BDG**	BDG***	GM+BG
Duyarlılık	%49	%40	%68	%71,9
Özgüllük	%96	%93	%93	%91
PPD	%96	%92	%95	%93
NPD	%50	%45	%60	%65

\*GM cut off: 0,5 ng/ml, \*\*İki örnekte BDG cut off 80 ng/ml, \*\*\*Tek örnekte cut off 80 ng/ml, PPD: Pozitif prediktif değer NPD: Negatif p prediktif değer

erkek, 16 (%53,3)'sini kadın, yaş ortalamaları 45,2 idi. İA olan hasta grubunda altta yatan hastalıklar olarak en sık, 28 (%49)'ünde akut miyeloid lösemi (AML), 9 (%15)'ünde akut lenfoblastik lösemi (ALL), 5'inde aplastik anemi (AA), 5'inde lenfoma mevcuttu. Diğer altta yatan hastalıklar daha az sıklıkla gözlemlendi. İA olmayan hasta grubunda ise altta yatan hastalıklar olarak en sık, 16 (%53,3)'sında AML ve 9 (%30)'unda ALL mevcuttu (Tablo 1).

İA hastalardan 39 hasta nötropenik olup, 29 hastaya KT verilmişti ve 5 hasta da kortikosteroid kullanımı vardı. Nötropenisi olan hastaların 17'sinde ayrıca KT kullanımı da vardı. Kesin İA olan üç hastanın biri AML hastası olup KT almış, diğerinde kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) olup uzun süre kortikosteroid almıştı. Üçüncü hasta da ise herhangi bir altta yatan hastalık yoktu.

İA grubuna dahil edilen 57 hastanın 31 (%52)'inin kültürü yapılabildi. Bu hastaların 16'sının kültüründe →

*Aspergillus* türleri [*A. fumigatus* (n=13), *A. flavus* (n=2) ve *A. niger* (n=1)] üredi. İA olmayan iki hastanın BAL ve balgam örneklerinde *C. albicans* üredi. Diğer örneklerde üreme olmadı.

**GM test sonuçları:** İA olan hastalardan alınan 114 serum, bir BAL, bir plevra örneğinde GM antijeni arandı. İA olan 57 hastanın cut off değeri 0,5 ng/ml iken pozitifliği 28 (%49) olarak belirlendi (Tablo 2).

GM antijenemi testi, iki hastanın serum örneğinde negatif iken, bu hastalardan birinin plevra, diğerinin BAL örneğinde pozitifliği. Bu iki değerde 1 ng/ml'nin üzerindeydi. İA olmayan hastaların ise sadece birinin tek serum örneği pozitifliği (0,8 ng/ml). Bu hasta AML tanısı ile nötropenik durumda ateş nedeniyle ampisilin-sulbaktam tedavisi alan hastaydı. Testin duyarlılığı, özgüllüğü, pozitif prediktif değeri (PPD), negatif prediktif değeri (NPD) sırasıyla %38, %95, %95, %44 olarak belirlendi.

BDG test sonuçları İA olan hastalarda BDG antijen varlığı tek ve ardışık serumlarda olmak üzere sırasıyla 39 (%68) ve 23 (%40) hastada gösterildi. İA olmayan 2 hastanın ardışık serum örneklerinde BDG antijeni gösterildi. Hastaların kültürlerinde ise *C. albicans* üremesi oldu. Testin duyarlılığı, özgüllüğü, PPD, NPD sırasıyla %68, %93, %95, %60 olarak belirlendi.

#### **Kültür pozitif hastalarda GM ve BDG testlerin karşılaştırılması:**

Kültürü pozitif hastalarda GM ve BDG testleri değerlendirilmesinde ise GM testinin duyarlılıkları %68 iken, BDG testinin duyarlılıkları tek, ardışık örnekte sırasıyla %93 ve %62 idi. GM ve BDG testleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan fark vardı (p<0,05). İki test arasındaki uyum ise düşük düzeydeydi (kappa:0,26).

#### **TARTIŞMA**

Hematolojik maligniteli hastalarda sistemik mantar enfeksiyonu gelişimi en sık AML ve ALL hastalarında görülmektedir. Pagano ve ark. sistemik mantar enfeksiyonu gelişiminin en sık AML hastalarında görüldüğünü bildirmişlerdir.<sup>18</sup> Benzer olarak bizim çalışmamızda, 57 hastanın 28'inin AML, 9'unun ALL olduğu belirlendi. Hematolojik maligniteli ve KİT hastalarında fungal enfeksiyonların epidemiyolojisinde değişim görülmektedir.<sup>18</sup> Bu hasta grubunda mantar enfeksiyonlarının özellikle de küf mantarlarının görülme sıklığı artmaktadır. Sistemik küf enfeksiyonlarında en sık etken *A. fumigatus* başta olmak üzere *Aspergillus* türleridir.<sup>18</sup>

Hematolojik maligniteli ve transplant hastaları aspergilloz açısından riskli gruplar olmakla beraber bu grup dışında immün yetmezliği olmayan ağır hastalarda da (yoğun bakım hastaları) *Aspergillus* enfeksiyonu

meydana gelmektedir. Yoğun bakım hastalarındaki insidans %6,9 olduğu bildirilmiştir.<sup>19</sup>

Yoğun bakım dışı hastane kökenli pnömonisi olan 165 hastanın değerlendirildiği, aktif sürveyans çalışmasında mikrobiyolojik olarak değerlendirilmiş 60 pnömoni olgusunda *Streptococcus pneumoniae* (%27) ve *Legionella pneumophila* (%12)'dan sonra *Aspergillus* türleri 3. sıklıkta saptanmıştır. Pulmoner aspergilloz olan 7 hastanın yalnızca 2'si nötropenik bulunmuş, diğer 4'ünde risk faktör steroid tedavisi olarak rapor edilmiştir.<sup>20</sup> Otopsi sonuçlarının ele alındığı bir çalışmada, 6 hastada İA saptanmış, bu hastaların 5'inin KOAH nedeniyle mekanik ventilasyon ve steroid tedavisi almakta olduğu bildirilmiştir.<sup>21</sup> Literatürde hafif ya da minimal immün yetmezlik (diabetes mellitus, reaktif tüberküloz, düşük doz steroid kullanımı gibi) ve hatta bağışıklığı yeterli kişilerde bile sistemik mantar enfeksiyon olguları tanımlanmıştır.<sup>22</sup>

Bu çalışmada da 57 hastanın 49'u hematoloji onkoloji hastası iken 5 tanesi kortikosteroid alan KOAH, SLE ve Wegener granülomatosisi, iki hasta tüberküloz hastasıydı. Bir hastada ise alta yatan hastalık belirlenemedi. Mortalitesi yüksek olan bir hastalık olmasına rağmen klinik radyolojik bulguların spesifik olmaması ve laboratuvarında kullanılan kültür ve mikroskopi gibi konvansiyel yöntemlerin duyarlılığının düşük olması erken tanıya yaşanan en önemli sorunlardır.<sup>5</sup> Bu işlemlerin yerine örnek alması kolay, daha hızlı, klinik ve radyolojik bulguların ortaya çıkmasından önce kullanılacak, güvenli testlerin gereği ortaya çıkmıştır. Tanıda serolojik yöntemler kullanılmaya başlanmıştır.<sup>10-12,23-36</sup> Maertens ve ark. İA açısından şüpheli 71 hastanın otopsi, kültür ve histolojik değerlendirme sonucu 27'si kesin İA tanısı alan 27 hastada GM testinin duyarlılığı ve özgüllüğü cut off 0,6 iken sırasıyla %92,6 ve %95,4 olarak bulunduğu, testin hematolojik maligniteli hastalarda duyarlı olduğu ve ampirik tedavi gereksinimini azalttığını bildirmişlerdir.<sup>28</sup>

Herbrecht ve ark. hemato-onkolojik hastalarla yaptıkları çalışmada, klinik olarak 31'i kesin, 67'si yüksek olasılıklı ve 55'i de düşük olasılıklı hastalarda GM testinin duyarlılıkları sırasıyla %64,5, %16,4, %25 olarak bildirilmiştir.<sup>29</sup> İA şüpheli hematoloji ve yoğun bakım ünitelerinde takip edilen, kesin ve yüksek olasılıklı olarak sınıflandırılan 34 hastanın GM testinin (cut off ardışık örneklerde >1 ng/ml) duyarlılığı %50 iken özgüllüğü %99,6 olarak saptanmıştır.<sup>29</sup> Benzer bir çalışmada İA şüpheli 41 hastanın kesin ve yüksek olasılıklı olarak sınıflandırılan 26'sında GM testinin duyarlılığı %75,2 olarak rapor edilmiştir.<sup>31</sup> Maertens ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada nötropenisi olan İA şüpheli 104 hematolojik hastanın, kesin ve yüksek olasılıklı 29 hasta grubunda GM testi cut off →

değeri 1,5 iken duyarlılık ve özgüllük %82,7 ve 100, cut off 0,5 iken %96,5 ve %85,1 ve cut off 0,5 de ardışık örnekte duyarlılık ve özgüllük %96,5 ve %98,6 olarak bildirilmiştir.<sup>32</sup>

Bu çalışmada, İA hastalardan 114 serum, bir BAL bir plevra örneğinde GM antijeni arandı. Toplam 57 hastanın cut off 0,5 ng/ml iken pozitifliği %49 olarak belirlendi. Sadece kesin ve yüksek olasılıklı 36 hastada GM testinde cut off 0,5 ng/ml iken pozitiflik %55 iken; kültürü pozitif 16 hastada duyarlılık %68 olarak belirlendi. GM antijen duyarlılığının ve özgüllüğün kesin, yüksek olasılıklı ve kültür pozitif hasta grubunda arttığı görüldü.

Çalışmalardaki duyarlılık ve özgüllük de bu farklılıkların; alınan örneğin sayısı ve tipine (seri örnek alınması, tek örnek alınması), kan, BAL örneğin enfeksiyonun hangi zamanında alındığına, kabul edilen cut off değerlerin farklı olmasına, profilaktik yada ampirik antifungal tedavi alıp almadığına bağlı geliştiği düşünülmüştür. Klinik olarak İA düşündüren hastalarda serolojik pozitif sonuç, yüksek oranda enfeksiyonu düşündürmektedir. Ancak negatif sonuç enfeksiyonu dışlamamaktadır.<sup>32</sup> Bir diğer serolojik tanı yöntemi ise mantar hücre duvarı komponentlerinden  $\beta$ -D-glukanın serumda tanınmasıdır. Ancak bu komponent tek bir mantar türü için spesifik olmayıp *Zygomycetes* ve *Cryptococcus* türleri dışında çoğu mantarda bulunmaktadır. BDG bakterilerde ve virüslerde bulunmayan bir polisakarit olduğundan, bunun kan ve diğer steril vücut sıvılarında saptanabilmesinin sistemik mikozların belirlenmesinde iyi bir gösterge olduğu bildirilmektedir.<sup>7</sup> Hayvan deneylerinde de BDG testinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %60 ve %75 olarak gösterilmektedir.<sup>7</sup> İnvaziv mantar hastalıkları tanısı alan hasta grubu ile yapılan çalışmalarda BDG testinin duyarlılığının %50-%100, özgüllüğünün %44-%98 olduğu bildirilmektedir.<sup>9,35</sup>

Benzer bir çalışmada sadece kesin ve yüksek olasılıklı hasta grubunda BDG testinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %87,5 ve %89,6 olarak bildirilmiştir.<sup>9</sup> Vlioger ve ark. yaptığı çalışmada 47 invaziv mantar hastalıkları tanısı alan hasta grubunun 14'si İA, 33'ü kontrol hastalarda BDG testinin (cut off: 80 pg/ml) duyarlılık, özgüllüğü, PPV ve NPD sırasıyla %85,7, %36,4, %36,4 ve %85,7 olarak saptamışlardır.<sup>35</sup> Bu çalışmada da BDG testin (tek örnekte cut off 80 ng/ml) kesin, yüksek olasılıklı ve düşük olasılıklı 57 hastadaki duyarlılığı, özgüllüğü, PPD ve NPD sırasıyla %68, %93, %95 ve %60 olarak bulundu. Kesin ve yüksek ola-

sıllık hasta grubundaki 36 kişideki ise BDG testinin duyarlılığı %86, iken kültürü pozitif 16 hastada testin duyarlılığının %93'e yükseldiği belirlendi. Çalışmalarda duyarlılığın ve özgüllüğün yüksek olmasından dolayı 2008 EORTC sınıflamasında mikrobiyolojik kriterler arasında yer almıştır.<sup>14</sup>

GM ve BDG testlerinin birlikte yapıldığı bir hayvan deneyinde testlerin duyarlılığı sırasıyla %60 ve %80 olduğu rapor edilmiştir.<sup>8</sup> GM ve BDG testinin birlikte kullanıldığı bir klinik çalışmada İA olan 22 hastanın GM ve BG duyarlılıkları ve özgüllükleri sırasıyla %38, %100 ve %67, %90 olduğu ve GM testinin özgüllüğünün, BDG testinin ise duyarlılığının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir.<sup>36</sup> Benzer olarak iki testin birlikte çalışıldığı 33 İA kesin tanısı almış hasta grubunda, GM ve BG testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla; %58, %97 ve %67, %84 olarak bildirilmiştir.<sup>37</sup> Badiie ve ark. GM ve BDG testlerini birlikte değerlendirdikleri çalışmalarında, kesin ve yüksek olasılıklı hasta grubunda duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler sırasıyla; %90, %92, %81,8, %96 ve %50, %46, %26, 70,6 olarak bildirmişlerdir.<sup>38</sup> Kawazu ve ark. İA için risk altındaki 96 hematolojik maligniteli hasta grubunda GM ve BDG testlerini birlikte değerlendirdikleri bir çalışmada, GM testinin duyarlılığının BDG testine göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.<sup>39</sup>

İA için risk altındaki hasta gruplarında, GM ve BDG testlerinin birlikte yapıldığı çalışmalarda, testlerde duyarlılık değişkendir ancak testleri birlikte kullanımının duyarlılığı artırdığı bildirilmektedir.<sup>10-12</sup> Benzer olarak bu çalışmada da GM ve BG testlerinin duyarlılıkları ve özgüllükleri sırasıyla %49, %96 ve %68, %93 olduğu, ikisinin birlikte kullanımı ile duyarlılığın arttığı (%71,9) görülmüştür.

## SONUÇ

Sonuç olarak, İA ön tanılı hastaların laboratuvar tanısı için kültür altın standart iken testin duyarlılığı %50'yi geçmemektedir. Bu hastalarda hızlı ve özgül tanı için GM ve BDG testleri kullanılabilir. Bu çalışmada, BDG testinin duyarlılığı, GM testinin özgüllüğü yüksek olarak belirlendi. Ayrıca iki testin birlikte kullanılmasının duyarlılığı yükselttiği bulundu. Bundan dolayı İA ön tanılı hastaların laboratuvar tanısında GM ve BDG testi birlikte çalışılması gerektiği belirlenmiştir.

\* Yazarlar herhangi bir çıkar ilişkisi içinde bulunmadıklarını bildirmektedir.

i	İLETİŞİM İÇİN: A. Nedret Koç Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye <a href="mailto:anedret@erciyes.edu.tr">anedret@erciyes.edu.tr</a>
✓	GÖNDERDİĞİ TARİH: 19 / 03 / 2013 • KABUL TARİHİ: 30 / 05 / 2014

## KAYNAKLAR

1. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillus case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 358-366.
2. Bodey GP, Chemaly R, Tarrand JJ, et al. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica* 2006; 91: 986-989.
3. 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: 5517-5522.
4. Becker MJ, Marie S, Willemsse D, Verbrugh HA, Bakker-Woudenberg IA. Quantitative galactomannan detection is superior to pcr in diagnosing and monitoring invasive pulmonary aspergillosis in an experimental rat model. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1434-1438.
5. Aquino VR, Nagel F, Andreolla HF, et al. Performance of Real-Time PCR, Galactomannan, and Fungal Culture in the Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Ventilated Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Mycopathologia* 2012; 174: 163-169.
6. Metan G, Koc AN, Atalay MA, et al. What should be the optimal cut-off of serum 1,3- $\beta$ -D-glucan for the detection of invasive pulmonary aspergillosis in patients with haematological malignancies? *Scand J Infect Dis* 2012; 44: 330-336.
7. Marty FM, Koo S. Role of [1 $\rightarrow$ 3]- $\beta$ -D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol* 2009; 47: 233-240.
8. Hashimoto A, Yamakami Y, Kamberi P, et al. Comparison of PCR, [1 $\rightarrow$ 3]-beta-D-glucan and galactomannan assays in sera of rats with experimental invasive aspergillosis. *J Clin Lab Anal* 1998; 12: 257-262.
9. Pazos C, Pontón J, Del Palacio A. Contribution of [1 $\rightarrow$ 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; 43: 299-305.
10. Beirão F, Araujo R. State of the art diagnostic of mold diseases: a practical guide for clinicians. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32: 3-9.
11. Lu Y, Chen YQ, Guo YL, et al. Diagnosis of invasive fungal disease using serum [1 $\rightarrow$ 3]- $\beta$ -D-glucan: a bivariate meta-analysis. *Intern Med* 2011; 50: 2783-2791.
12. Xu PF, Zhou JY, Zhou H, Shen P. Serum antigens assay combined with chest CT scan in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2012; 41: 332-338.
13. Aşcıoğlu S, Rex JH, Pauw de B, et al. On behalf of the invasive fungal infections cooperative group of the european organization for research and treatment of cancer and mycoses study group of the national institute of allergy and infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2000; 34: 7-14.
14. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, 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/mcg) consensus group. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1813-1821.
15. Verweij PE and Brandt ME. Aspergillus, Fusarium, and other opportunistic moniliceous fungi. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, and Pfaller MA (eds). *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed) vol. 2. ASM Press, Washington 2007; 1802-1838.
16. Metan G, Koc AN, Agkuc S, et al. Can bacteraemia lead to false positive results in 1,3-beta-D-glucan test? Analysis of 83 bacteraemia episodes in high-risk patients for invasive fungal infections. *Rev Iberoam Micol* 2012; 29: 169-171.
17. Metan G, Ağkuş C, Buldu H, Koc AN. The interaction between piperacillin/tazobactam and assays for Aspergillus galactomannan and 1,3-beta-D-glucan in patients without risk factors for invasive fungal infections. *Infection* 2010; 38: 217-221.
18. Pagano L, Caira M, Candoni A, et al. Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study. *Haematologica* 2010; 95: 644-650.
19. Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer A, et al. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 621-625.
20. Sopena N, Sabrià M. Multicenter study of hospital-acquired pneumonia in non-ICU patients. *Chest* 2005; 127: 213-219.
21. Dimopoulos G, Piagnerelli M, Berre J, et al. Disseminated aspergillosis in intensive care unit patients: an autopsy study. *J Chemother* 2003; 15: 71-75.
22. Kristan SS, Kern I, Music E. Invasive pulmonary aspergillosis. *Respiration* 2002; 69: 521-525.
23. Latgé JP. Aspergillus fumigatus and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 99; 12: 310-350.
24. Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, et al. Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1242-1250.
25. Zeng SY, Liu T, Meng WT, Chen YN. The significance of serum GM and BG antigens assay for invasive fungal infections in hematological malignancies patients. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 2011; 32: 43-46.
26. Acosta J, Catalan M, del Palacio-Pérez-Medel A, et al. Prospective study in critically ill non-neutropenic patients: diagnostic potential of [1,3]- $\beta$ -D-glucan assay and circulating galactomannan for the diagnosis of invasive fungal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 721-731.
27. Bellanger AP, Grenouillet F, Henon T, et al. Retrospective assessment of  $\beta$ -D-[1,3]-glucan for presumptive diagnosis of fungal infections. *APMIS* 2011; 119: 280-286.
28. Maertens J, Verhaegen J, Demuyck 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: 3223-3228.
29. 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: 1898-1906.
30. Pinel C, Fricker-Hidalgo H, Lebeau B, et al. Detection of circulating Aspergillus fumigatus galactomannan: Value and limits of the platelia test for diagnosing invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2184-2186.
31. Challier S, Boyer S, Abachin E, Berche P. Development of a serum-based taqman real-time PCR assay for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 844-846.
32. Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, et al. Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br Haematol* 2004; 126: 852-860.
33. Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, et al. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis* 2004; 190: 641-649.
34. Wheat LJ. Approach to the diagnosis of invasive aspergillosis and candidiasis. *Clin Chest Med* 2009; 30: 367-377.
35. Vlieger GD, Lagrou K, Maertens J, et al. Beta-D-glucan detection as a diagnostic test for invasive aspergillosis in immunocompromised critically ill patients with symptoms of respiratory infection: an autopsy-based study. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3783-3787.
36. Hachem RY, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, et al. Utility of galactomannan enzyme immunoassay and [1,3]- $\beta$ -D-Glucan in diagnosis of invasive fungal infections: low sensitivity for Aspergillus fumigatus infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 129-133.
37. 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: 1504-1512.
38. Badiee P, Alborzi A, Karimi M, et al. Diagnostic potential of nested PCR, galactomannan EIA, and Beta-D-glucan for invasive aspergillosis in pediatric patients. *J Infect Dev Ctries* 2012; 6: 352-357.
39. 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 $\rightarrow$ 3]-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2733-2741.