

## Mantar enfeksiyonlarının serolojik tanısı

### Serological diagnosis of fungal infections

Asuman BİRİNCİ<sup>1</sup>, Yeliz TANRIVERDİ-ÇAYCI<sup>1</sup>

#### ÖZET

İnvaziv mantar hastalıklarının tanısında, günümüzde kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüğündeki yetersizlikler veya klinik olarak yararlı olabilecek bir sonucun elde edilmesinin çok zaman alması nedeniyle zorluklar yaşanmaktadır. Hasta sonuçlarında, hızlı tanı anahtar noktadır. Kültür testleri dışında, konaktaki özgül antikor yanıtının ölçülmesine dayalı serolojik testlerin, hızlı uygulanabilmesi ve invaziv örnek alım yöntemleri gerektirmemesi bu testleri çekici kılmaktadır. Ancak özellikle immünosupressif durumlar nedeniyle, özgül antikor yanıtı oluşturamayan hastalarda bu testler her zaman invaziv hastalık göstergesi olmamaktadır. Mikrobiyal antijenlerin tespitinin ise genellikle daha fazla miktarda mikrobiyal yük gerektirmesi duyarlılığı kısıtlamaktadır. Yine de çok sayıda başarıyla çalışan antijen tespit sistemleri geliştirilmiştir ve bunların bazıları halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Dolaşımdaki *Aspergillus galaktomannan*ları tespit için sıçan monoklonal EB-A2'leri kullanan emzim immünoassay yöntemi (Platelia) ticari olarak kullanımdadır. Bu test 0,5-1,0 ng/ml düzeyindeki galaktomannanı tespit edebilmektedir. Ayrıca, galaktomannan klinik belirti ve semptomlar oluşmadan invaziv aspergillozun erken safhalarında serumda tespit edilebilmektedir. Ancak, bu testin yanlış pozitif veya negatif sonuçlar gibi dezavantajları bulunmaktadır. (1-3)- $\beta$ -D-glukan *Zygomycetes*'ler hariç mantar hücre duvarının karakteristik bir birleşenidir. İnvaziv enfeksiyonlar sırasında *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, *Acremonium* ve *Pneumocystis jirovecii* içeren birçok mantar tarafından (1-3)- $\beta$ -D-glukan kana salınmaktadır.

#### ABSTRACT

Difficulties are being faced in the diagnosis of invasive fungal diseases due to the lack of sensitivity and specificity of the current diagnostic methods or taking too long time to get a result having clinical importance. Rapid diagnosis is the key point in patient outcomes. Excluding the culture tests, because of its rapid application and no need for invasive sampling, was making the serological tests based on the measurement of response of specific host antibody became attractive. However especially due to immunosuppressive conditions, these tests are not always the indicator of invasive disease in the patients who have no ability to produce specific antibody response. Detection of microbial antigens generally requiring a relatively large microbial burden, limits the assay sensitivity. Nonetheless, several examples of successful antigen detection systems have been developed, and some of these are widely used. To detect circulating *Aspergillus galactomannans* enzyme immunoassay (Platelia) method utilizing the rat monoclonal antibody EB-A2 is commercially in use. This test is able to detect galactomannan in the level of 0.5-1.0 ng/ml. Furthermore, galactomannan could be detected in the serum at a early stage of invasive aspergillosis before clinical signs and symptoms occurred. However, this test has some disadvantages like false positive or negative results. (1-3)- $\beta$ -D-glucan is a characteristic cell-wall component of fungi except for *Zygomycetes*. A broad range of fungi including *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, *Acremonium* and *Pneumocystis jirovecii* during invasive infections (1-3)- $\beta$ -D-glucan is released to the blood by some fungi containing *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*,

<sup>1</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, SAMSUN



İletişim / Corresponding Author : Asuman BİRİNCİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, SAMSUN

Tel : +90 362 312 19 19 - 3036

E-posta / E-mail : abirinci@omu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 06.02.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 23.10.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.74418

Birinci A, Tanrıverdi-Çaycı Y. Mantar enfeksiyonlarının serolojik tanısı. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(2): 175-82.

(1-3)-B-D-glukan konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılan yöntem, atnalı (horsecrab shoe) yengelinin koagülasyon faktörü olan faktör G'nin glukani aktive etmesine dayanmaktadır. Hem Avrupa'da hem de ABD'de (1-3)-B-D-glukan için çeşitli ticari kitler kullanılmaktadır. Mannan invaziv kandidiyazisi bulunan hastalarda dolaşımdaki ana antijendir. Mannana karşı oluşan antikorların tespiti için birçok serolojik test bulunmaktadır. Ancak bu testler, kolonizasyon ve invaziv enfeksiyon ayırımında başarısız olmaktadır. Mannan antijeniyle kombine edilip çalışıldığında, duyarlılık %80 ve özgüllük %93 olmaktadır. Kriptokokkal enfeksiyonların tespitinde serebrospinal sıvıdan veya serumdan kapsüler antijen tespiti kullanılmaktadır. Kapsüler antijen tespiti için hem lateks aglütinasyon hem de enzimimmünoassay testleri bulunmaktadır. Mantar enfeksiyonlarının tanısı için son yıllarda hızla ilerleme kaydedilerek, mantar enfeksiyonlarının erken tespitini sağlayan birçok yeni yöntem geliştirilmiştir. Ancak en iyi yaklaşımın kültür veya mikroskopi gibi konvansiyonel yöntemlerle serolojik yöntemlerin kombine edilmesi olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Mantar enfeksiyonları, galaktomannan, (1-3)-B-D-glukan, mannan

*Acremonium* and *Pneumocystis jirovecii*. The method used for determination of (1-3)-B-D-glucan concentration depends on activation of glucan by factor G, a horsecrab shoe coagulation factor. There are some commercial test kits available for (1-3)-B-D-glucan both in Europe and USA. Mannan is the major circulating antigen in patients who have invasive candidiasis. There are several serological tests for the detection of antibodies formed against mannan. However, these tests are usually failed in discriminating between colonization and invasive infection. When combination with mannan antigen test was performed, it gave sensitivity of 80% and specificity of 93%. In the diagnosis of cryptococcal infections detection of capsular antigen in the both cerebro-spinal fluid or serum, is used. Both latex agglutination and enzymeimmunoassay tests are found to detection of capsular antigen. The diagnosis of fungal infections has moved forward in the past few years and there are many newly developed methods that are likely to provide early detection of fungal infections. However, it seems that best approach is combining both traditional methods like culture or microscopy with serological methods.

**Key Words:** Fungal infections, galactomannan, (1-3)-B-D-glucan, mannan

## GİRİŞ

Son yıllarda mantar enfeksiyonlarının sıklığında ciddi bir artış mevcuttur. Bu enfeksiyonların erken ve doğru tanısı hem antifungal tedaviye zamanında başlanması açısından hem de gerekli değilse başlanmış olan antifungal ajanların kesilerek toksik etkilerinin en aza indirilmesi açısından önemlidir. Fungal etkenlerin tanısında standart olarak kullanılan yöntemler; direk mikroskopi, histopatolojik inceleme ve kültür yöntemleridir. Ancak bu yöntemler kimi zaman yeterli duyarlılığa ve/veya özgüllüğe sahip olmadıklarından kimi zaman da örnekler için invaziv işlemler gerektirdiklerinden tanı açısından yeterli olamamaktadırlar. Bu nedenle invaziv mantar enfeksiyonlarının tanısında bu yöntemler dışında farklı tanı yöntemlerinede ihtiyaç duyulmaktadır (1, 2).

Mantar enfeksiyonlarının tanısında kültür bazlı olmayan serolojik testler geçen yüzyılın ortalarından beri kullanılmaktadır. Seroloji endemik mikozların tanısında oldukça önemli bir parametredir. Mantar enfeksiyonlarının tanısında kullanılan serolojik yöntemler arasında immünodifüzyon (ID), lateks aglütinasyon (LA), kompleman fiksasyon (KF), enzimimmünoassay (EIA) ve radyoimmünoassay (RAI) yer almaktadır (1, 3). Serolojik testlerin kullanımı invaziv mantar enfeksiyonlarının tanısında birçok avantaj sağlamaktadır. Bu avantajlardan biri kültür için örnek alınmadığı veya kültürde üreme gözlenmediği durumlarda pozitif serolojik testlerin yardımcı olmasıdır. Diğer bir avantajı da *Coccidioides* türleri gibi çalışılması dikkat gerektiren mantarlar için

kültür gereksinimini azaltmalarıdır. Ayrıca serolojik testlerin minimal invaziv testler olmaları hastalar açısından kolaylık sağlamaktadır. Ancak serolojik testlerin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bu dezavantajlardan bazıları; düşük duyarlılık ve özgüllük, bazı testlerin zaman alıcı olması, deneyimli personel tarafından çalışılma zorunluluğu, immün sistemi baskılanmış olan hastalarda antikor testlerinden yeterli verim alınamaması ve fungal etkenler arasındaki çapraz reaksiyonlardır. Ayrıca bir serolojik testin negatif olması mantar enfeksiyonu varlığını ekarte ettirememektedir (3).

Bu derlemede özellikle mantar enfeksiyonlarının serolojik tansında yaygın olarak kullanılan galaktomannan, (1-3)-B-D-glukan, mannan ve glukuronoksilomannan saptanmasına yönelik testler üzerinde durulmuştur.

#### **Mantar Enfeksiyonlarının Serolojik Tanısında Kullanılan Antijenler**

##### **Galaktomannan**

Galaktomannan (GM) birçok *Aspergillus* türünün hücre duvarında bulunan bir polisakkarittir. İnvaziv aspergilloz enfeksiyonlarının tanısında uzun yıllar LA, EIA ve RAI olmak üzere farklı serolojik yöntemlerle, insan vücut sıvılarında galaktomannan antijeni araştırılmıştır (4). Ancak bu testlerin rutin kullanımı, tespit sınırlarının yüksek değerler (5-15 ng/ml) olmasından dolayı kısıtlı kalmıştır. Çünkü bu ölçüm değerleri ancak hastalığın ilerlemiş dönemlerinde oluşmakta ve bu dönemde antifungal tedavinin etkinliği de sınırlı kalmaktadır (1). Sytenen ve ark. (5) sıçan monoklonal EB-A2 antikorlarının kullanarak serum örneğinde, dolaşımdaki galaktomannan antijenlerini saptayan sandviç ELISA yöntemini geliştirmişlerdir. Bu testte tespit sınırı eski yöntemlerden yaklaşık 10-15 kat düşük olacak şekilde 0,5-1ng/ml'dir. Bu yöntemde pozitiflik galaktomannan LA testinden daha erken saptanmakta ve LA testi negatifleşse bile hala pozitif kalmaktadır. Test, 1997 yılında ticari olarak Platelia *Aspergillus*® (BioRad Laboratories, İngiltere)

adıyla piyasa sürülmüş ve 2003 yılında da Amerika İlaç Dairesi (FDA)'nden onay almıştır (5). İlk piyasaya sürüldüğünde testin eşik değeri 1,5 ng/ml iken, daha sonra 0.5 ng/ml olarak değiştirilmiştir. Test sonuçları galaktomannan indeksi (GMİ) ya da optik dansite indeksi (ODİ) olarak rapor edilmektedir. Haftada iki serum örneğinin çalışılması önerilmekte, üst üste gelen iki örnekte pozitiflik olması durumunda invaziv aspergilloz açısından anlamlı kabul edilmektedir (6).

Deney hayvanlarıyla yapılan bazı çalışmalarda GM antijenemisinin derecesi ile dokudaki fungal yük arasında doğru orantı olduğu bildirilmiştir (2, 4). Allojenik kök hücre nakli yapılmış 100 hastada GM saptanmasının invaziv aspergillozun erken tanısındaki etkisi araştırılmış ve hastaların %83'ünde antifungal tedavinin erken başlamasını sağlamıştır (2). Ancak farklı eşik değerlerin kullanılması bu testle ilgili olarak kafa karıştırıcı sonuçlara neden olmuştur. Kanseri hastalarında yapılan, eşik değeri >1,5 GMİ olarak kabul eden ve tek bir örnek sonucunu pozitif olarak değerlendiren bir çalışmada duyarlılık %26,1 olarak bulunmuştur. Eşik değeri >0,7 GMİ'ye indirmek duyarlılığı %50'ye çıkarmıştır (7). Eşik değer 1,5'ten 0,5 GMİ'ye çekilmesi erken tanı açısından da önemlidir. Eşik değer, 0,5 GMİ'ye çekilince 6 gün daha erken tanı konulduğu saptanmıştır (8).

Yapılan çalışmalarda yanlış negatif sonuçların nedeni olarak anti-*Aspergillus* antikorlarının varlığı, enfeksiyonun lokalizasyonu ve sınırlı bir alanda olması, *Aspergillus* türleri arasında GM sentez ve salıverilmesindeki farklılıklar ve GM dolaşımının sürekli olmaması üzerinde durulmuştur. Serumların saklanma koşulları da yanlış negatiflik etkenidir. Ayrıca ampirik veya profilaktik olarak antifungal tedavi uygulanması yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir (2).

GM testi için yanlış negatiflik yanında bir diğer sorun da yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmesidir. GM sütte ve tahıllarda da bulunmaktadır ve özellikle kemoterapiye bağlı mukozit nedeniyle intestinal mukozası zarar görmüş kişilerde, tahıllarla

beslenme sonrasında yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmektedir. Ayrıca süt ağırlıklı olarak beslenen pediatrik yaş grubundaki hastalarda da yanlış pozitif sonuçlar görülebilmektedir. Piperasilin-tazobaktam, ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulonik asit gibi mantar kökenli antibiyotiklerin kullanıldığı hastalarda da yanlış pozitiflikler görülebilmektedir (9, 10). Ayrıca diğer fungal etkenlerle (*Penicillium* spp., *Acremonium* spp., *Rhodotorula rubra*, *Geotrichum capitatum*, *Cladosporium* spp., *Botritistulupae*, *Fusarium oxisporum*, *Paecilomyces variotii*, *Walleimia*) enfeksiyon ve immünoglobulinler ile siklofosfamid gibi immün sistem, baskılayıcı ajanların kullanımı da yanlış pozitifliklere neden olmaktadır (2).

İnvaziv aspergilloz tanısında bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında da GM araştırılabilmektedir. Ağca ve ark. çalışmalarında, GMİ değerleriyle, bronkoalveolar lavaj ve bronşial lavaj kültür pozitiflikleri karşılaştırılmış ve GM testinin erken tanıya katkı sağladığı ve eğer GMİ  $\geq 1$  ise kültürde fungal üremenin beklenebileceğini belirtmişlerdir (11). Solid organ transplantasyonu yapılmış 81 hastanın, BAL örneğinde GM araştırılmış ve bu çalışmada GM eşik değeri  $\geq 1$  olduğu zaman duyarlılık %100 ve özgüllük %90,8 olarak saptanmıştır ve BAL GM testinin, serum GM ve BAL sitoloji ve kültüründen daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Ancak akciğer transplantasyonu yapılmış olan 12 hastanın beşinde yanlış pozitif sonuç elde edilmiş, bunun nedeni olarak da bu hasta grubunun transplantasyondan önce solunum yollarının *Aspergillus* spp. türleri ile kontamine olmuş olabileceği belirtilmiştir. Akciğer transplantasyonu yapılan hastalar çıkartıldığında özgüllüğün %92,9'a yükseldiği görülmüştür (12). Fisher ve ark.'nın çalışmasında invaziv pulmoner aspergillozda serum ve BAL'da galaktomannan araştırılmasının erken tanıyı artırdığı ve BAL'daki galaktomannan değerinin antifungal tedaviden etkilenmediğini belirtilmiştir (13). BOS'da GM ile ilgili fazla çalışma bulunmamakla beraber BOS'da indeks değer olarak  $>0,5$  GMİ kabul edilmesinin santral sinir sistemi (SSS) aspergillozu lehine değerlendirilebileceği bildirilmiştir (14).

### (1-3)-B-D-glukan

(1-3)-B-D-glukan (BG), *Zygomycetes*'ler hariç birçok mantar türünün hücre duvar yapısında bulunan non-allerjenik, suda çözülebilir bir polisakarittir. *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, *Acremonium* ve *Pneumocystis jirovecii*'nin neden olduğu invaziv fungal enfeksiyonlarda kana salınmaktadır. Nötrofil, makrofaj ve kompleman aktivasyonu yapmaktadır. BG, *Cryptococcus* türleri ve *Mucorales* ile enfekte hastaların kanında saptanmamaktadır (2, 3). Kanda BG tespiti, atnalı (horseshoe) yengeçlerinden elde edilen faktör G'yi, BG'nin aktive etmesiyle birlikte bir koagülasyon kaskatını başlaması ve bu reaksiyonların türbidometrik veya kolorimetrik bir yöntemle tespitine dayanmaktadır (3, 15). BG tespitine yönelik çeşitli ticari kitler de kullanıma sunulmuştur:  $\beta$ -D-glukan Test (Wako Pure Chemical Industries, Tokyo, Japonya), Fungi Tec (Seikagaku Kogyo Corporation, Tokyo, Japonya), BG-Star (Maruha Corporation, Tokyo, Japonya), Glucatell (Fungitell, Associates of Cape Cod, Falmouth, ABD). Bunlardan, Fungitell testinin FDA onayı bulunmakta ve serum, BAL ve plazma örneklerinden çalışılabilmektedir. Bu test için üretici tarafından belirtilmiş eşik değerler,  $>80$  pg/ml: pozitif, 60-79 pg/ml: ara değer ve  $<60$  pg/ml: negatif'tir (16). Bu testin en büyük avantajı 1 saat gibi kısa bir sürede sonuç verilebilmesidir. Bu testin immün sistemi baskılanmış hastalarda haftada en az iki kez çalışması önerilmiş ve üst üste iki örneğin pozitif olmasının invaziv mantar enfeksiyonu lehine anlamlı olduğu belirtilmiştir (17). Ancak bu testte diğer birçok testte olduğu gibi kısıtlayıcı yönler bulunmaktadır. Testin çalışılması sırasında endotoksin ve glukan içeren cam malzemelerin kullanılmaması gerekmektedir. Ayrıca hemodiyaliz hastalarında kullanılan sellüloz membranlar, cerrahide kullanılan gazlı bezler, i.v. albumin veya gama globulin kullanımı, bakteriyemi yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmektedir (18). Ayrıca BG testinin pahalı bir test olması ve panfungal bir test olduğu için etkeni tam olarak belirleyememesi, testin kısıtlayıcı yönleri arasındadır.

Kanıtlamış invaziv fungal enfeksiyonu olanlarda BG için eşik değer >60 pg/ml olarak kabul edildiğinde kandidoz, aspergilloz ve fusaryoz enfeksiyonu olanlarda duyarlılık sırasıyla %81,3, %80 ve % 100 olarak saptanmış ve BG'nin profilaktik antifungal tedaviden etkilenmediği görülmüştür (2). İnvaziv mantar enfeksiyonu olan (kandidoz, aspergilloz, fusaryoz, trikosporoz) akut myeloblastik lösemi hastalarında BG, klinik tanıdan ortalama 10 gün önce pozitif olarak saptanmış ve negatif prediktif değer %100, özgüllük %90 olarak saptanmıştır (19). Ancak Metan ve ark.'nın çalışmasında otolog hematopoetik kök hücre nakli yapılan 79 hastanın serum örneği BG açısından taranmış ve duyarlılık %27,2, özgüllük %94,4, pozitif prediktif değer %6,2 ve negatif prediktif değer %93,7 olarak saptanmıştır ve bu hasta grubunda BG taramasının kliniğe katkısının sınırlı olduğunu belirtmiştir (20).

*P. jirovecii* enfeksiyonu olan 9 hastanın hepsinde BG pozitif olarak saptanmış ve BG düzeyinin tedavi ile azaldığı görülmüştür (21). Beta glukun testinin kan dışındaki vücut sıvılarında durumunu değerlendiren fazla çalışma olmamakla birlikte mevcut verilerle test ümit vaat etmektedir. Daha geniş çaplı ileriye yönelik araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

#### Mannan

Mannan, *Candida* türlerinin hücre duvarında bulunan polisakkarit yapıda, yüksek immünojenik özellikte bir antijendir ve immünolojik olarak B-glukandan daha aktiftir. Isıya, kaynatmaya, proteinaz etkisine ve asidik pH'a dirençlidir. Kan kültürlerinin pozitifleşmesinden 2-15 gün öncesinde pozitif sonuç alınabilmektedir. Mannan antijeni invaziv kandidozu olan hastalarda kana salınmaktadır. Ticari olarak mannan tespitine yönelik ELISA ve LA temelli testler mevcuttur. ELISA testlerinde duyarlılığın 10 kat fazla olduğu bildirilmiştir. ELISA testi olarak Platelia *Candida* Antibody Test (BioRad, Redman, ABD) kullanımda olan bir testtir. Bu testte sınıır değer 10 AU/ml'dir. Ancak nötropenik olmayan

hastalarda duyarlılığı düşük olarak bulunmuştur (22). Serum dışında diğer klinik örneklerle yapılan çalışmalar sınırlıdır. Testin duyarlılığı türlere göre değişmektedir. Duyarlılık; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* türlerinde %58-70 olarak bildirilirken, *C. parapsilosis*, *C. krusei* *C. kefyr* türlerinde ise %25-30 olarak bulunmuştur. Kandidemisi olan 56 hastanın dahil olduğu bir çalışmada *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii* türlerinde testin başarısız olduğu saptanmıştır (22). Duyarlılıklar arasındaki farkın testte kullanılan monoklonal antikorların (Mab) *Candida* türlerinin mannoz epitoplarına bağlanmasındaki farktan kaynaklandığı düşünülmektedir (23). Mannan dolaşımından çok hızlı temizlendiği için serum konsantrasyonları düşüktür. Bu nedenle birden fazla serum örneğinde çalışılması önerilmektedir. Tek serum örneği ile değerlendirme yapılan çalışmalarda duyarlılık %11'e kadar düşebilmektedir. Enfeksiyonu olmayan ancak kandida ile kolonize olmuş olan hastaların serumlarında da anti-mannan antikorları tespit edilebilmektedir. Bu nedenle, kolonizasyon ve invaziv hastalık ayırımında yararlı olamamaktadır (24). Ancak ardışık testlerde antikor titrelerinin artmasının enfeksiyon/kolonizasyon ayırımında yararlı olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, antikor ve antijen testlerinin birlikte kullanımının daha yararlı olacağı belirtilmiştir (25). İnvaziv kandidoz tanısında mannan antikor ve antijenlerinin ELISA yöntemiyle çalışıldığı 14 çalışma incelendiğinde duyarlılık ve özgüllük sırasıyla; sadece mannan antijeni kullanıldığında %58 ve %93, mannan antikorunu kullanıldığında %59 ve %83, kombine mannan antikorunu/antijeni kullanıldığında %83 ve %86 olduğu görülmüştür (26).

#### Glukuronoksilomannan

Kriptokokkal menenjitin tanısında uzun yıllardır antijen testleri kullanılmaktadır. Lateks aglütinasyon testinde kapsüler bir polisakkarit olan glukuronoksilomannan (GXM) antijenini tespit edilmektedir. Kriptokokkal menenjit sırasında GXM yoğun miktarda hem kan hem de beyin omurilik sıvısında (BOS) bulunmaktadır (3).

Kriptokokkal menenjit tanısında, lateks aglütinasyon ile antijen tespitinin, mikroskopi ve kültür yöntemleri ile karşılaştırılmasında duyarlılık sırasıyla %91,1, %73,2 ve %69,9; özgüllük ise %96,0, %100 ve %100 olarak tespit edilmiş ve antijen tespitinin konvansiyonel yöntemlere göre erken ve hızlı tanı sağladığı belirtilmiştir (27). Kriptokok kapsüller antijenine karşı poliklonal IgG antikoları kullanan lateks aglütinasyon testlerinde yalancı pozitif sonuçlar oluşabilmektedir. Ayrıca romatoid faktör, sistemik trikosporoz, *Capnocytophaga canimorsus* septisemisi ve malignensilere bağlı olarak da yanlış pozitif sonuçlar bildirilmiştir. Ancak bu yanlış pozitiflikler sıklıkla prozon benzeri etki sonucu oluşmakta ve örneğin dilüsyonu ile önlenilmektedir (19). Fare kökenli monoklonal IgM kullanan Murex Cryptococcus testi (Murex Diagnostic, Galler) romatoid faktöre bağlı olarak oluşan yanlış pozitiflik sorununu ortadan kaldırmıştır ancak bu testin duyarlılığı tavşan kökenli poliklonal IgG kullanılan testlere göre daha düşük olarak bulunmuştur (28). Başka bir testte ise EIA yöntemi kullanılmıştır. Bu testin (PREMIER Cryptococcal antijen testi, Meridian Diagnostic) serum ve BOS için duyarlılığı ve özgüllüğü lateks aglütinasyon testlerine benzerdir. Bu testin lateks aglütinasyonlarına göre en önemli avantajı romatoid faktörle reaksiyona girmemesi, yanlış pozitif sonuçların daha az olması ve çok sayıda örneğin çalışılabilmesine imkan sağlamasıdır (29).

*C. neoformans* antijen tespitinde son yıllarda kullanıma giren bir dipstick testi olan Cr Ag lateral flow immünoassay (LFA) özellikle kısıtlı imkanlara sahip kurumlarda kullanım kolaylığı getirmiştir (3).

### Diğer testler

İnvaziv kandidozun tanısında kullanılmak üzere geliştirilen bir test de 230-250 kDa'luk germ tüp mannoproteininin tespitine yönelik indirekt immünofloresan bir test olan CAGTA (*Candida albicans* germ tube antibody) testidir. Bu testin değişik hasta gruplarındaki (intravenöz uyuşturucu kullananlar, kemik iliği alıcıları, hematolojik malignensisi olan hastalar ve yoğun bakım hastaları) özgüllüğü %91-

100 olarak bulunmuştur. *C. albicans* dışında diğer kandidalara (*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii* ve *C. krusei*) bağlı olarak oluşan invaziv kandidozda da CAGTA sonuçları daha düşük titre de olmakla birlikte pozitif olarak bulunmuştur. Ayrıca CAGTA titrelerindeki azalmanın, invaziv kandidozu olan ve antifungal tedavi alan hastalarda tedaviye yanıtın izlenmesinde de yardımcı olacağı bildirilmiştir. CAGTA tespitine yönelik IFA IgG (Vircell Laboratoire, İspanya) adlı ticari kit geliştirilmiştir. Testler sıklıkla anti-*Candida* IgG'nin tespitine yönelik olsa da IgM, IgA ve IgE tespitine yönelik testler de kullanılmıştır. Bunlardan özellikle IgA'nın invaziv kandidoz tanısında yararlı bir belirteç olduğu bildirilmiştir (30).

Kandidalarda hücre duvarında değil de sitoplazmada yer alan ve enzimatik aktiviteye sahip enolaz, aspartil proteinaz ve metallo peptidaz gibi antijenlere karşı oluşan antikoları saptamaya yönelik testler de kullanılmıştır. Bu antijenleri saptamaya yönelik ticari kitler henüz bulunmamaktadır. Enolaza karşı oluşan antikoların araştırıldığı bir çalışmada duyarlılık ve özgüllük immün sistemi sağlam bireylerde sırasıyla %50-92 ve %86-95; immün sistemi baskılanmış bireylerde ise %53 ve %78 olarak tespit edilmiştir (30). *C. albicans* için önemli bir virulans faktörü olan salgısal aspartil proteinaza (SAP) karşı oluşan antikoların araştırıldığı bir çalışmada invaziv kandidozlu hastalarda duyarlılık %69,7 ve özgüllük %76 olarak bulunmuştur (30, 31).

Cand-Tec lateks aglütinasyon testi (Ramco Laboratories, Houston, ABD) ısıya duyarlı antijen tespitine yönelik kullanıma giren ilk ticari testtir. Ancak testin duyarlılığı ve özgüllüğü çalışmalar arasında farklılık göstermektedir ve ayrıca romatoid faktör pozitifliğine bağlı olarak yalancı pozitiflikler de bildirilmiştir (1, 32). Bir başka hedef antijen olan enolazın kandidemili hastalarda serumda bulunurken yüzeysel kolonizasyonu olan hastalarda bulunmadığı tespit edilmiştir. Ancak kandidemi tanısında umut vaat eden bu test, üreticisi (Directigen, Becton Dickenson, ABD) tarafından piyasadan çekilmiştir (1).



**Sonuç**

İnvaziv mantar enfeksiyonlarının sıklığı her geçen yıl giderek artmaktadır. Bu nedenle erken ve doğru tanının konması ve tedaviye başlanması hayati önem taşımaktadır. Ancak laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmakta olan konvansiyonel yöntemler bazen yetersiz kalmaktadır. Yıllar içinde mantar patojenlerinin virulans faktörlerinin ve antijenik determinantlarının tanımlanması invaziv mantar enfeksiyonlarının tanısı için yeni yaklaşımların gelişmesini sağlamıştır. Son yıllarda mantar

enfeksiyonlarının tanısında serolojik testler konusunda ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu testler kimi zaman tanıya çok yardımcı olsa da, duyarlılık ve özgüllük sonuçları kimi zaman yetersiz kalabilmektedir. Ayrıca bu derlemede de belirtildiği üzere çeşitli faktörlerin de serolojik testleri etkileyebilmesi göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak klinik, kültür ve mikroskopik yöntemlerle birlikte serolojik testlerin uygun hasta popülasyonunda ve uygun sıklıkta çalışılmasının invaziv mantar enfeksiyonlarının tanısına katkısının büyük olacağı görülmektedir.

**ÇIKAR ÇATIŞMASI**

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemektedir.

**KAYNAKLAR**

1. Yeo SF, Wong B. Current status of non culture methods for diagnostics of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev*, 2002; 15: 465-83.
2. McLintock LA, Jones BL. Advances in the molecular and serological diagnosis of invasive fungal infection in haemato-oncology patients. *Brith J Hematol*, 2004;126: 289-97.
3. Kozel TH, Wickes B. *Fungal Diagnostics*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2014; doi: 10.1101/cshperspect.a019299.
4. Verweij PE, Meis JFGM. Microbiological diagnosis of invasive fungal infections in transplant recipients. *Transpl Infect Dis*, 2000; 2: 80-7.
5. 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.
6. Mennik-Kersten M, Donnelly JP, Verweij P. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet*, 2004; 4(6): 349-57.
7. Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, Lioure B, Waller J, Campos F et al. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Oncology*, 2002; 20: 1898-906.
8. Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of galactomannan antigenemia by Enzyme Immunoassay for the Diagnosis of invasive Aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis*, 2004; 190(3): 641- 9.
9. Aubry A, Porcher R, Bottero J, Touratier S, Leblanc T, Brethon B et al. Occurrence and Kinetics of False-Positive Aspergillus Galactomannan Test Results following Treatment with beta-lactam Antibiotics in Patients with Hematological Disorders. *J Clin Microb*, 2006; 44: 389- 4.
10. Mattei D, Rapezzi D, Mordini N, Cuda F, Nigro C, Musso M et al. False-Positive Aspergillus Galactomannan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Results In Vivo during Amoxicillin-Clavulanic Acid Treatment. *J Clin Microb*, 2004; 42: 5362-3.
11. Ağca H, Ener B, Yılmaz E, Ursavas A, Kazak E, Özkocaman V et al. Comparative evaluation of galactomannan optical density indices and culture results in bronchoscopic specimens obtained from neutropenic and non-neutropenic patients. *Mycoses*, 2014; 57: 169-75.

12. Clancy CJ, Jaber RA, Leather HC, Wingard JR, Staley B, Wheat LJ et al. Bronchoalveolar Lavage Galactomannan in Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis among Solid-Organ Transplant Recipients. *J Clin Microbiol*, 2007; 45(6): 1759-65.
13. Fisher CE, Stevens AM, Leisenring W, Pergam SA, Boeckh M, Hohl TM. Independent contribution of bronchoalveolar lavage and serum galactomannan in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Transpl Infect Dis*, 2014; 16: 505-10.
14. Cuenca-Estrella M, Bassetti M, Lass-Flörl C, Racil Z, Richardson M, Rogers TR. Detection and investigation invasive mold disease. *J Antimicrob Chemother*, 2011; 66: 15-24.
15. Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, Maesaki S, Tanaka K, Ishikawa N et al. Plasma (1,3)-B-D-Glucan and Fungal Antigenemia in Patients with Candidemia, Aspergillosis, and Cryptococcosis. *J Clin Microbiol*, 1995; 33(12): 3115-8.
16. Sulahian A, Porcher R, Bergeron A, Touratier S, Raffoux E, Menotti J et al. Use and Limits of (1,3)-B-D-Glucan Assay (Fungitell), Compared to Galactomannan Determination (Platelia Aspergillus), for Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol*, 2014; 52(7): 3228-33.
17. Ener B. İnvazif fungal infeksiyonlarda tanısal yaklaşım. *Ankem Derg*, 2013; 27(Ek2): 141-3.
18. Stevens DA. Diagnosis of fungal infections: current status. *J Antimicrob Chemother*, 2002; 49: 11-4.
19. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ et al. B-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; 39: 199-205.
20. Metan G, Koç AN, Kaynar LG, Atalay A, Öztürk A, Eser B et al. What is the role of the (1,3)-b-D-glucan assay in the screening of patients undergoing autologous haematopoietic stem-cell transplantation? *Mycoses*, 2013; 56: 34-8.
21. Koo S, Bryar J, Page JH, Baden LR, Marty FM. Clinical utility of the (1,3)-B-D-glucan assay (BG) in the diagnosis of invasive fungal infections (IFI). Program and abstracts of the 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; September 27-30, 2006; San Francisco, California. Abstract M-1600.
22. Held J, Kohlberger I, Rappold E, Grawitz AB, Häcker G. Comparison of (1,3)-B-D-Glucan, Mannan/anti-Mannan-antibodies and Cand-Tec Candida-Antigen as Serum Biomarkers for Candidemia. *J Clin Microbiol*, 2013;45(6):1158- 64.
23. Sendid B, Poiret JL, Tabouret M, Bonnin A, Caillot D, Camus D, et al. Combined detection of mannanaemia and anti-mannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infections caused by pathogenic *Candida species*. *J Med Microbiol*, 2002; 51: 433- 42.
24. Martínez JP, Gil ML, López-Ribot JL, Chaffin WLJ. Serologic Response to Cell Wall Mannoproteins and Proteins of *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev*, 1998; 11(1):121- 41.
25. Lopez-Ribot JL, Casanova M, Murgui A, Martinez JP. Antibody response to *Candida albicans* cell wall antigen. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2004; 41: 187-96.
26. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, The Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia Group. *Critical Care*, 2010;14 (R222): 2-14.
27. Wang H, Yuan X, Zhang L. Latex agglutination: Diagnose the early *Cryptococcus neoformans* test of capsular polysaccharide antigen. *Pak J Pharm Sci*, 2015; 28 (Suppl): 307-11.
28. Jaye DL, Waites KB, Parker B, Bragg SL, Moser SA. Comparison of two rapid latex agglutination tests for detection of cryptococcal capsular polysaccharide. *Am J Clin Pathol*, 1999; 109: 634-41.
29. Gade W, Hinnefeld SW, Babcock LS, Gilligan P, Kelly W, Wait K, et al. Comparison of the PREMIER cryptococcal antigen enzyme immuno assay and the latex agglutination assay for detection of cryptococcal antigens. *J Clin Microbiol*, 1991; 29: 1616-9.
30. Quindós G, Moragues MD, Pontón J. Is there a role for antibody testing in the diagnosis of invasive candidiasis? *Rev Iberoam Micol*, 2004; 21: 10-4.
31. Ellepola NBA, Morrison CJ. Laboratory Diagnosis of Invasive Candidiasis. *The J of Microbiol*, 2005;43: 65-84.
32. Burnie JP, Williams JD. Evaluation of the Rameo latex agglutination test in the early diagnosis of systemic candidiasis. *Eur J Clin Microbiol*, 1998; 5(4): 98-101.