



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ ANABİLİM DALI

SERUM VE BRONKOALVEOLER LAVAJ SIVISI GALAKTOMANNAN VE
B-D-GLUKAN DÜZEYLERİNİN BAĞIŞIKLIĞI BASKILANMIŞ
HASTALARDA İNVAZİV PULMONER ASPERGİLLOZ TANISINDAKİ
ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DR. BAŞAK BURGAZLIOĞLU

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2009



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ ANABİLİM DALI

SERUM VE BRONKOALVEOLER LAVAJ SIVISI GALAKTOMANNAN VE
B-D-GLUKAN DÜZEYLERİNİN BAĞIŞIKLIĞI BASKILANMIŞ
HASTALARDA İNVAZİV PULMONER ASPERGİLLOZ TANISINDAKİ
ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DR. BAŞAK BURGAZLIOĞLU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN: PROF. DR. ESRA UZASLAN

BURSA – 2009

İÇİNDEKİLER:

Türkçe Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	27
Bulgular.....	35
Tartışma ve Sonuç	49
Kaynaklar	62
Teşekkür	70
Özgeçmiş	72

ÖZET

Bağıışıklığı baskılanmış hastalarda yüksek mortaliteyle seyreden invaziv pulmoner aspergilloz (IPA) insidansı son iki dekatta artış göstermiştir. Başarılı sonuçlar için erken tanı oldukça önemlidir ancak mevcut yöntemlerle pek kolay olmamaktadır. Genel durumu bozuk olan hastalardan derin doku örneklerinin alınması oldukça zordur. Bu nedenle moleküler veya serolojik teknikler gibi alternatif tanı stratejileri geliştirilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, IPA açısından yüksek risk taşıyan bağıışıklığı baskılanmış hastalarda, serum ve bronkoalveoler lavajda (BAL) (1-3)-beta-d-glukan (BG) and galaktomannan (GM) düzeylerinin tanı değerinin araştırılmasıydı.

Galaktomannan ve BG testleri, 45 hasta grubu, 22 kontrol grubu olmak üzere toplam 67 hastanın serum ve BAL sıvılarında çalışıldı. Hastalar Avrupa Kanseri ve Mikoziş Araştırma ve Tedavi Çalışma grubunun (EORTC/MSG) konsensus kriterlerine göre 17 yüksek olasılıklı IPA, 22 düşük olasılıklı IPA ve 6 non-IPA olarak sınıflandırıldı. Yüksek olasılıklı IPA grubu için serumda GM ve BG duyarlılık sırasıyla %70.5, % 35.3, özgüllük %98, %88 iken BAL için GM ve BG duyarlılığı %100, %82.5 ve özgüllüğü %78 ile %80 olarak saptandı. Bronkoalveoler lavaj için kesim değeri henüz netleşmemiştir. Yaptığımız ROC analizi sonucu BAL'da GM için kesim değerini 1.2 olarak hesapladık. Kesim noktası ≥ 1.2 olarak alınarak yeniden hesaplanan BAL GM duyarlılık ve özgüllük değerleri %94.1 ve %90 olarak izlendi.

Sonuç olarak bağıışıklığı baskılanmış IPA açısından yüksek riskli hastalarda tanıda bu iki testten GM, BG'a göre, testlerin BAL'da çalışılması da serumda çalışılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Gereksiz antifungal tedavi uygulanmasından kaçınmak ve tanısai tetkiklerin yükünü azaltmak için BAL GM için bulduğumuz 1.2 kesim değerinin kullanılmasını öneriyoruz.

Anahtar kelimeler: Bağışıklığı baskılanmış hastalar, invaziv pulmoner aspergilloz (IPA), serum, bronkoalveoler lavaj (BAL), galaktomannan (GM), β -d-glukan (BG).

SUMMARY

Evaluation of The Diagnostic Value of Serum and Bronchoalveolar Lavage β -D-Glucan and Galactomannan Levels in Immunocompromised Patients with Invasive Pulmonary Aspergillosis

The incidence of invasive pulmonary aspergillosis (IPA) which is associated with a high mortality, has increased over the last two decades, especially among immunocompromised patients,. Early diagnosis is critical to a favourable outcome, but is difficult to achieve with current methods. Deep tissue diagnostic specimens are often difficult to obtain from critically ill patients. For these reasons, alternate diagnostic strategies have been investigated, such as molecular and serological diagnostic techniques.

The aim of this study was to evaluate the diagnostic value of serum and bronchoalveolar lavage (BAL) (1-3)-beta-d-glucan (BG) and galactomannan (GM) antigen levels in immunocompromised patients with high risks of IPA.

The results of GM and BG tests, performed at serum and bronchoalveolar lavage were analyzed for 67 patients (45 study group, 22 control group) who were diagnosed 17 probable IPA, 22 possible IPA and 6 non-IPA according to the European Organization for Research and Treatment of Cancer criteria. For the probable IPA group, the GM and BG assay had 70.5% and 35.3% sensitivity and specificities of 98% and 88% at serum samples and 100% and 82.5% sensitivity and 78% and 80% spesifity at bronchoalveolar lavage. For GM, BAL cut -off value has not defined yet. Analyzing the receiver-operating characteristic (ROC), we calculated cut-off value of 1.2 pg/mL for BAL GM tests. With the cut off \leq 1.2, the GM assay had 94.1% and 90% sensitivity and specificity at BAL samples, respectively.

In conclusion, among these two tests, GM test was most sensitive than BG and performing these tests at BAL samples was better than serum samples at predicting the diagnosis of IPA in high-risk at immunocompromised patients. We suggest BAL GM cut-off value \leq 1.2 for not

giving unnecessary antifungal therapy and reduce the burden of diagnostic methods.

Keywords: Immunocompromised patients, invasive pulmonary aspergillosis (IPA), serum, bronchoalveolar lavage (BAL), galaktomannan (GM), β -d-glukan (BG).

GİRİŞ

I. Bağışıklığın Baskılanması

Konakta yabancı bir antijene verilen yanıtın normalin altında olması bağışıklığın baskılanması olarak tanımlanabilir (1). Bağışıklığı baskılanmış hastaların (BBH) sayısı son yıllarda artmıştır. Solid tümörü veya hematolojik malignitesi olup kemoterapi alan olgular; organ transplantasyon alıcıları; malignite dışındaki hastalıkları nedeniyle kortikosteroid, immünmodülatörler veya kemoterapötik ajan kullananlar; doğumsal ve edinsel olarak (*Human Immunodeficiency Virus –HIV-* enfeksiyonu gibi) bağışıklığı baskılanmış olan olgular bu hasta grubu içinde sayılabilir (2, 3, 4) .

Bağışıklık Baskılanmasının Türü: Bağışıklığı baskılanmış hastalarda akciğer sorunlarına hızla tanı koymak ve tedaviye başlamak gereklidir. Ancak ayırıcı tanı listesi çok geniştir ve kesin tanı için ileri incelemeler gerekebilir. Öte yandan bu hastalar genel durumlarının bozuk olması nedeniyle ileri incelemelere dayanamayacak veya sonucunu bekleyemeyecek durumda olabilir. Bu nedenle çoğu zaman ampirik tedavi başlamak gerekmektedir. Ampirik tedavi başlarken klinik ve radyolojik ipuçlarından yararlanılmalıdır. Öncelikle bağışıklık yetmezliğinin türü belirlenmelidir.

Bağışıklık sisteminin 3 bileşeninden (nötrofiller, hücresel bağışıklık, salgısal bağışıklık) herhangi birinde sorun olduğunda enfeksiyon olasılığı artar ve bağışıklık baskılanmasının türüne göre olası etkenler değişir (Tablo–1) (2, 5, 6, 7, 8, 9) .

Tablo-1: İmmun yetmezlik türüne göre olası enfeksiyon etkenleri

Konak savunma defekti	Enfeksiyon etkeni
Nötropeni	Enterik gram negatif bakteriler <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> , Koagülaz negatif staphylococlar Sptreptokoklar,Enterokoklar <i>Aspergillus</i> , <i>Candida</i>
Humoral yetmezlik	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H.influenta</i>
Hücreyel yetmezlik	Mikobakteriler,Funguslar, <i>Pneumocystis jirovecii</i> Virusler, <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Strongyloides stercoralis</i>

I.1. Nötropenik Olgular: Nötrofil sayısının $500 / \text{mm}^3$ 'ün altında olması nötropeni ($0.5 \times 10^9 / \text{L}$), $100 / \text{mm}^3$ 'ün ($1.0 \times 10^9 / \text{L}$) altında olması ise derin nötropeni olarak tanımlanır. Nötrofil sayısı 500-1000 arasında olan, ancak bu sayının 48 saat içinde $500 / \text{mm}^3$ 'ün altına düşmesinin beklendiği olgular da nötropenik olarak değerlendirilir. Bu grupta etken ve prognozun belirlenmesinde nötropenin süresi ve derinliği önem taşır. Nötrofil sayısının $100/\text{mm}^3$ 'ün altında olması ve 10 günden uzun sürmesi beklenen olgular yüksek risk grubu olarak değerlendirilir. Febril nötropeni, nötropenik bir hastada ateşin bir kere 38.3°C 'nin üzerine çıkması ya da bir saat süreyle 38°C ya da üzerinde ateş olması olarak tanımlanır (2, 5, 8, 10). Bu olgularda en sık rastlanan etkenler Gram negatif bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* gibi) , *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, viridans streptokoklar ve *Aspergillus*'tur. *Aspergillus* başta olmak üzere mantarlar nötropenik hastalarda sık pnömoni yapan ve yaşamı tehdit eden etkenler arasında yer almaktadır (2, 8, 10, 11, 12, 13).

I.2. Hücreyel İmmün Yetmezlikli Olgular: T lenfosit fonksiyon bozukluğu olan bu olgu grubunda virüsler, *P.jirovecii*, mantar enfeksiyonları, bakteriyel pnömoniler (*Legionella*, *Nocardia*, mikobakteriler) ve paraziter enfeksiyonlar görülebilir (5, 6, 7, 8).

I.3. Humoral İmmün Yetmezlikli Olgular: B lenfosit fonksiyon bozukluğu olan olgularda ve fonksiyonel ya da anatomik dalak yokluğunda humoral immünite bozulur. Bu grupta kapsüllü bakterilerin neden olduğu pnömoniler sık görülür (5, 6, 7, 8).

Akciğer komplikasyonları bağışıklığı baskılanmış olgular için önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir. Sık görülen ve yaşamı tehdit eden bu sorunların erken tanı ve tedavisi gerekir. Ancak bu hasta grubunda klinik ve laboratuvar bulguların silik olması, özgül olmaması, geç olarak ortaya çıkması, infeksiyöz ve infeksiyon dışı nedenlerin birlikte görülebilmesi, birden fazla infeksiyon etkeninin birlikte bulunabilmesi, klinik örneklerin alınabilmesi için invaziv işlemlerin gerekmesi ancak hastaların genel durumu ve altta yatan hastalığın bu tür tanısal girişimlere izin vermemesi nedeniyle tanı güçlükleri yaşanmaktadır

İmmünsüpresif hastalarda mortalite oranı, altta yatan hastalığa, gelişen komplikasyonun türüne ve infeksiyon etkenine göre değişmekle birlikte çok yüksektir (6, 14, 15). Altta yatan hastalığın ciddiyeti ve tanı koymadaki güçlükler nedeni ile bu hastalara erken ampirik tedavi başlanması gerekmektedir (2, 5, 11, 16). Hastalarda akciğer problemi ortaya çıktığı zaman dahiliye uzmanının yanı sıra göğüs hastalıkları, infeksiyon hastalıkları, radyoloji, mikrobiyoloji, patoloji, göğüs cerrahisi ve yoğun bakım uzmanlarından oluşan bir ekibin de desteği gerekmektedir.

Akciğer Komplikasyonlarına Neden Olan İnfeksiyöz Nedenler:

Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda görülen pulmoner infeksiyon etkenleri, konaktaki savunma defektinin türüne göre değişmektedir. Pek çok organda bu savunma defektlerinin birkaçının bir arada bulunabilir (6, 7, 17).

a) Bakteriyel etkenler: BBH'da hastane kökenli infeksiyon etkenleri olarak *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* başta olmak üzere Gram negatif basiller, kalıcı intravenöz kateteri olanlarda ise *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklar görülmektedir (5, 11, 17). Bu etkenlerin % 85'i *S. pneumonia*, *Hemofilus influenza*, *Moraxella. catarrhalis* iken % 15'i atipik etkenler olan *Legionella spp* ve *Chlamydia pneumonia*'dir (8, 18).

b) Viral etkenler: Hücresel bağışıklığın baskılanması durumunda, özellikle transplant alıcılarında viral pnömoninin en önemli nedeni sitomegalovirus'tür (CMV). Preemptif tedavi yaklaşımının uygulanması ile CMV pnömonisi sıklığı azalmıştır. Ancak ciddi hastalık tablolarına yol açabilir

ve immünmodülatör virüs olduğu için diğer patojenlerle (*P.jirovecii*, enterik Gram negatif basiller vb) birlikte bulunabilir (2).

c) Fungal etkenler: En önemli fungal pnömoni etkenleri *Aspergillus spp.*, *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans* ve *Mucor spp.* dir. İzole, primer *Candida* pnömonisi ve *Mucor spp.*' ye bağlı pnömoni nadirdir. Kriptokok özellikle CD4+ hücre sayısı < 100 olan HIV pozitif ve ağır T hücre disfonksiyonu olan hastalarda sorun olur.

Özellikle yüksek riskli hastalarda (hematolojik maligniteli, allogeneik hematopoetik kök hücre alıcıları, akciğer transplant alıcıları ve derin nötropenik olgular) en önemli fungal pnömoni nedeni *Aspergillus*'tur. Bu olgularda invaziv girişimlerin güçlüğü ve yüksek mortalite nedeniyle, doku invazyonu gösterilmeden de, solunum sekresyonlarında *Aspergillus* saptanması tedavi endikasyonu olarak kabul edilebilir; buna karşılık, *Aspergillus* saptanmaması tanıyı reddettirmez (2, 19, 20, 21, 22),. İnvaziv pulmoner aspergillozlu (IPA) olguların üçte birinde solunum semptomları radyolojik bulgulardan sonra çıkabilir (19).

II. Aspergillus

Aspergillus türleri, doğada yaygın olarak bulunan hiyalen yapıda küf mantarlarıdır. Kuzey yarım kürede özellikle sonbahar ve kış ayları başında toprakta, gübrede, çürüyen bitkilerde, havada, tahıl ambarları gibi kapalı mekanlarda, inşaat alanları ile nemli ve tozlu ortamlarda sayıları hızla artar. *Aspergillus* genellikle zararsız, saprofitik olarak yaşayan küf mantarıdır ancak uygun koşullar sağlandığı zaman patojen hale geçer ve çeşitli hastalıklara sebep olur (23). Üreme hız ve kapasiteleri yüksektir. Atmosfere dağılan konidyumları havada asılı kalabilir, toz ve diğer parçacıklarla her yere taşınabilir.

Aspergillus ilk kez 1729 yılında Micheli tarafından tanımlanmış, ancak hastalık olguları 19. yüzyıldan itibaren izlenmeye başlanmıştır (24). Son yıllarda hava kaynaklı potansiyel patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsanlarda sinüs ve bronşlarda kolonize olabildiği gibi, toksikozlara, atopik

kişilerde alerjik hastalıklara, kaviteli ortamlarda kitlelere ve immunsüpresif hastalarda ciddi mortaliteyle seyreden invaziv infeksiyonlara neden olabilir. İleri tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile invaziv aspergilloz (IA) insidansında artış olmuştur (25).

Aspergillus Türlerinin Özellikleri: *Aspergillus*, 2–4 µm genişliğinde, sık septalı, hifleri 45°lik açılarla dallanan bir küf mantarıdır. İnvaziv aspergilloza yol açan türlerin görülme sıklıkları ve mikrobiyolojik özellikleri aşağıda belirtilmiştir (26):

Tablo–2: Aspergillus türleri

Aspergillus türleri	Sıklık
<i>Aspergillus fumigatus</i>	%90
<i>Aspergillus flavus</i>	%10
<i>Aspergillus niger</i>	%2
<i>Aspergillus terreus</i>	%2
<i>Aspergillus nidulans</i>	<%1

Aspergillus türlerinin birçoğu aseksüel olarak sporlarla çoğalır. Patojen türler kolay ve hızlıca rutin bakteriyolojik ve mikolojik ortamlarda üreyebilir. En hızlı büyüyen tür *A. fumigatus*'tur. In vitro ortamda saatte 1-2 cm hızla hif uzaması olur. *A. fumigatus*'un izolatları düşük oksijen basınçlarında (%0.1 O₂) ve nadiren anaerobik olarak üreyebilir. Hızlı ilerleyen hastalıkta hifler değişik genişlikte olabilir. Akciğer ve sinüs gibi hava içeren organlar dışında dokuda sporulasyon olmadığından doku örneğinde histopatolojik olarak diğer mantarlardan ayrılması mümkün olmayabilir. *A. fumigatus*'un itrakonazole karşı in vivo ve in vitro direnci korelasyon gösterir ancak amfoterisin B direnci açısından in vitro direnç her zaman klinik direnç ile korele değildir. *A. terreus* ise amfoterisin B' ye karşı hem in vitro ortamda dirençlidir hem de klinik olarak tedaviye yanıtı ve prognozu kötüdür (26,27).

Aspergillus Hücre Duvarı Organizasyonu: Hücre duvarı, mantar hücresinin çevresi ile tüm alışverişini süresince bir elek ve konak hücreleri ile temas sürecinde rol alan enzimler , antijenler açısından da bir kaynak olarak

davranır(28). Hücre duvarı oldukça katı bir katman olup, miçelyum ve konidiyayı fagositlerin öldürücü etkilerinden ve diğer çevresel olumsuzluklardan korur(29). *Aspergillus* hücre duvarı temel olarak polisakkarit, protein ve lipidlerden oluşur. Başlıca polisakkaritler, β -(1,3) glukoz, kitin, kitin- β (1,3) glukoz, α (1,3) glukoz, galaktofuran ve galaktomannandır (30). Bu polisakkaritlerden duvarın dayanıklılığında sorumlu olan galaktomannan, kitin ve β -(1,3) glukoz alkalide çözünmez (29).

III. Aspergilloz

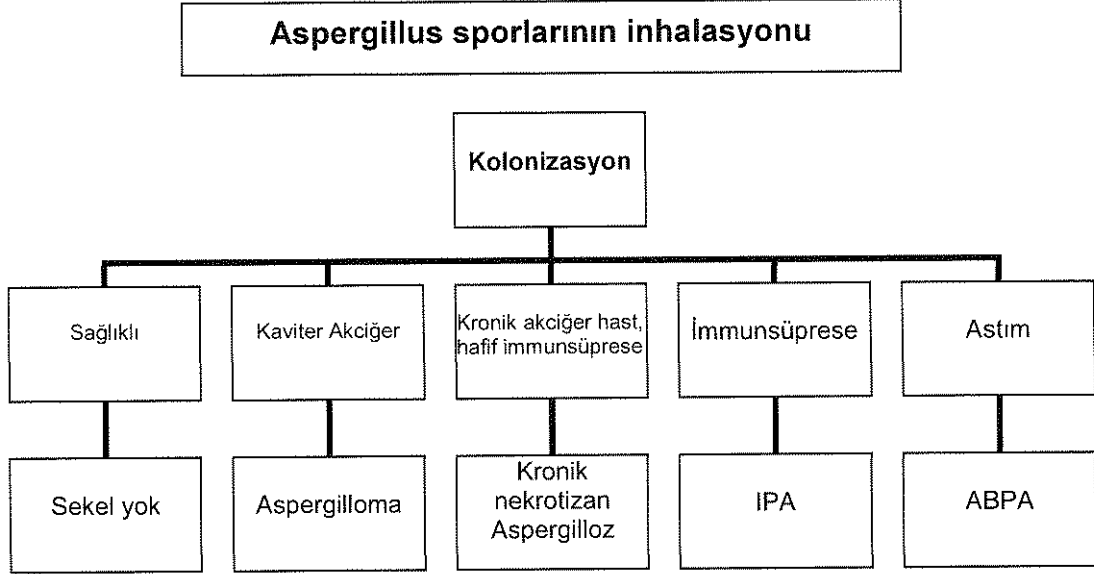
Aspergillus insanda çeşitli hastalık tabloları oluşturabilen küf mantarıdır. İnsanda ilk aspergilloz olgusu, 1842 yılında tüberküloz kavitelerinde gelişen aspergillomu olan bir hastanın balgamında etkeni gören Bennett tarafından bildirilmiştir. İmmun sistemi baskılanmış hastalarda IA ise ilk kez 1953 yılında fırsatçı bir enfeksiyon olarak tanımlanmıştır.

Aspergillus türleri dünyanın her tarafında yaygın olarak bulunur. Bodrum ve kilerde, saksı bitkilerinde ve baharatlarda *A. fumigatus* yoğunluğu yüksektir. Hastanelerde, inşaat faaliyeti sırasında havaya bol miktarda mantarın dağıldığı ve immün sistemi baskılanmış hasta grubunda salgınlara yol açtığı bilinmektedir. (11,16)

Aspergillus cinsi içinde 180'den fazla tür tanımlanmıştır. Bunların ancak çok az bir kısmı insanda hastalık yapmaktadır (7). *Aspergillus spp*'nin akciğerlerde yaptığı hastalıklar geniş bir spektrum göstermekte olup, paranasal sinüslerde kolonizasyon, bağışıklığı baskılanmış kişilerde invaziv ve yaşamı tehdit eden *Aspergillus* enfeksiyonlarına kadar değişmektedir. *Aspergillus spp*'nin neden olduğu akciğer hastalıkları aşağıdaki tablo ve şemada özetlenmiştir(31).

Tablo– 3: *Aspergillus* türlerinin neden olduğu hastalıkların sınıflandırılması
(1, 24, 32)

- 1. Allerjik aspergilloz**
 - a. Allerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA)
 - b. Allerjik *Aspergillus* sinüziti
- 2. Saprofitik aspergilloz**
 - a. Pulmoner aspergilloma
 - b. Sinüslerde fungus topu (sinüslerde aspergilloma)
- 3. Yüzeysel aspergilloz**
 - a. Otomikoz
 - b. Onikomikoz
 - c. Kutanöz aspergilloz (immonosüprese olmayan konakçıda)
- 4. Doku hasarı, cerrahi veya yabancı cisimle ilişkili infeksiyon**
 - a. Keratit ve/veya endoftalmit
 - b. Deri veya yumuşak doku infeksiyonu (ör: yanık yarasında)
 - c. Cerrahi alan infeksiyonu (ör: protektik kapak endokarditi, karaciğer transplantasyonu sonrası yara infeksiyonu, subdural ampiyem)
 - d. Yabancı cisimle ilişkili (Hickman kateteri veya diğer intravenöz kateterler, vasküler graft infeksiyonu, sürekli ambulator diyaliz kateteri)
- 5. İmmünsüprese konakçıda infeksiyon**
 - a. Primer kutanöz veya muköz membran aspergillozu
 - b. Pulmoner aspergilloz
 - i. Akut invazif aspergilloz
 - ii. Kronik nekrotizan aspergilloz
 - c. Hava yolları aspergillozu
 - i. Tıkayıcı bronşiyal aspergilloz
 - ii. İnvazif *Aspergillus* trakeobronşiti
 - d. Nazal veya paranasal sinüzit (rinosinüzit)
 - e. Dissemine aspergilloz, özellikle serebral aspergilloz



Şekil– 1: *Aspergillus spp*'nin neden olduğu akciğer hastalıkları (31)

III.1. Allerjik Bronkopulmoner Aspergilloz (ABPA): Allerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA) duyarlı kişilerde bronşiyal sekresyonlarda *Aspergillus* sporlarının yerleşmesi sonrası oluşan bir hipersensitivite reaksiyonudur (33, 34). *Aspergillus*'a maruz kalımdan 4-8 saat sonra öksürük, nefes darlığı, ateş üşüme-titretilme, kas ağrıları ve halsizlik ortaya çıkar. Tekrarlayan ataklar granülomatöz hastalıklara ve pulmoner fibroze yol açabilir. Çeşitli kriterler tanı konmasında yardımcı olmaktadır (Tablo 4) (1).

Tablo–4: ABPA tanı kriteri

1. Epizodik bronş obstrüksiyonu (astma)
2. Periferik kanda eozinofili (1000/ml'den az)
3. *Aspergillus* antijenlerine tip I deri reaksiyonu
4. *Aspergillus* antijenlerine karşı presipite edici antikorlar (presipitanlar)
5. Serumda yüksek IgE konsantrasyonu
6. Serumda *A. fumigatus*'a özgü yüksek IgG ve IgE antikor düzeyleri
7. Pulmoner infiltrasyon öyküsü
8. Santral bronşiektazi

Tedavide oral kortikosteroidler kullanılır. Sistemik ve yüksek doz inhale steroid kullanımı alevlenmeleri büyük oranda engeller(1).

III.2. Aspergilloma: *Aspergillus*'la ilişkili akciğer hastalıkları içinde en iyi tanımlanmış ve en yaygın görülen formdur (31). Aspergilloma, pulmoner veya maksiller ve etmoid sinüs kavitelerinde *Aspergillus*'un saprofitik kolonizasyonu ile gelişir. Bu mantar topunu hifal elemanlar, fibrin, mukus, konakçının dejenere olmuş dokusu ve az sayıda inflamatuvar hücre oluşturur. Aspergilloma *Aspergillus*'un daha önceden mevcut olan bir kavitede çoğalmasına ve drene edilememesine bağlıdır (1). Akciğer kavitesi başta tüberküloz olmak üzere sarkoidoz, histoplazmoz, bakteriyel akciğer apsesi, bronşiektazi, bronşiyal kist, bül, ankilozan spondilit ve akciğer infarktı zemininde gelişebilmektedir (31).

Yıllarca asemptomatik seyredabilen hastalıkta en sık rastlanan semptom hemoptizidir (%75-90). Tanı genellikle tesadüfen çekilen akciğer grafileriyle ya da hemoptiziyle başvuran hastada yapılan tetkikler sonucu konulur. Tipik radyolojik görünüm, üst lobları tutan, periferik, çoğunlukla tek, 3-5 cm boyutlarında, değişen duvar kalınlığı gösteren bir kavite içinde radyolüsent bir hilal ile kısmen çevrelenen (*Monod belirtisi*) yuvarlak veya oval bir kitle şeklinde görülür. Kitle, kavite duvarlarına yapışık değilse farklı pozisyonlarda çekilen grafilerde kavite içinde hareket ettiği saptanabilir. Hastaların %90'ında serumda *Aspergillus* IgG antikorları pozitifdir.(1)

III.3. Kronik Nekrotizan Pulmoner Aspergilloz (Semi-İnvaziv Aspergilloz): *Aspergillus* türleri ile oluşan akciğer destrüksiyonu söz konusudur. Aspergillomadan akciğer dokusuna invazyon olması ve daha önceye ait kavitenin olmamasıyla ayrılır. İnvaziv aspergillozdan farkı ise kronik bir süreçte meydana gelmesi ve vasküler yayılım yani diğer organ tutulumlarının olmamasıdır (31).

Bazı hastalarda HIV/AIDS, kronik granümatöz hastalık, diabetes mellitus, alkolizm, kronik akciğer hastalığı için kortikosteroid kullanımı gibi predispozan faktörler saptanmasına karşın hastaların çoğunda altta yatan immünsüpresyon yoktur. Semptomların başlaması haftalar, hatta aylar öncesine dek uzanır. Kronik prodüktif öksürük, hafif veya orta şiddette

hemoptizi, genelde çok yüksek olmayan ateş, halsizlik ve kilo kaybı söz konusudur. (1, 32).

III.4. Akut İnvazif Pulmoner Aspergilloz (IPA): İmmün sistemi baskılanmış hastalarda en sık rastlanan hastalık tablosudur. Hastaların büyük çoğunluğu sitotoksik kemoterapi sonrası uzun süreli nötropeni gelişen ve yüksek doz kortikosteroid alan kişilerdir. Nadir bir genetik hastalık olan kronik granülomatöz hastalıkta fagositlerin hidrojen peroksit ve *Aspergillus* gibi katalaz oluşturan organizmaların duyarlı olduğu mikrobisidal oksidanları oluşturma yeteneği yoktur ve IA gelişebilir (1).

III.4.a. Epidemiyoloji ve Patogenez:

Aspergillus konidyaları inhalasyon yoluyla vücuda alınır. İn hale edilen ve alveollere kadar ulaşabilen *Aspergillus* konidyasına karşı konakçıdaki ilk savunma noktası alveoler makrofajlardır. Makrofaj disfonksiyonunun olması ve konidyaların yoğun olarak inhalasyonu ile ya da tekrarlayan kemoterapiler sonrasında makrofajların sayıca azalması sonucu normalde makrofajlar tarafından etkisiz hale getirilen konidyalar, savunma mekanizmalarından kaçır ve çoğalıp hif formunu oluştururlar (35).

In vitro insan alveol modelleriyle yapılan çalışmalarda fungal invazyon ve galaktomannan seviyeleri arasında anlamlı ilişkiler gösterilmiştir (35,36). *Aspergillus* hifalarının oluşumunu, kompleman aktivasyonuna ve nötrofil kemotaktif faktörlerin salınımına sekonder gelişen nötrofillerin çoğalması izler. Yeni gelişen nötrofiller hifalara yapışıp, yapısını bozabilirler. Hifal gelişim sırasında fungus tarafından hifayı konakçı savunmasından koruyacak kompleman inhibitörleri, proteazlar, gliotoksin ve aflatoksin gibi mikotoksinler salınır (35, 37, 38). Hifaların konakçı savunmasından kaçmasını sağlayan faktörlerle, endobronşiyal proliferasyon gelişmeye başlar.

Histopatolojik olarak hiflerin endobronşial proliferasyonunu, pulmoner arteriollere ve akciğer parankimine invazyon ve sonunda dokuda gelişen iskemik nekroz izler. *Aspergillus* hiflerinin kan damarlarını invaze etme özelliği, tromboz ve hemorajik infarktlarla seyreden hematojen yayılımdan sorumludur (1, 39).

III.4.b. Risk Faktörleri:

Funguslar her yerde yaygın şekilde bulunmaktadırlar ancak bağışıklığın baskılandığı durumlarda hayatı tehdit eden ciddi infeksiyonlarla karşımıza çıkabilirler. İnvaziv pulmoner aspergillozis için risk faktörleri; uzamış derin nötropeni (>3hafta) veya nötrofil disfonksiyonu, uzamış ve yüksek doz kortikosteroid tedavisi, kemik iliği ve solid organ transplantasyonu, hematolojik maligniteler, sitotoksik tedaviler, AIDS, kronik granülomatöz hastalıklar ve solid tümörlerdir (22, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43).

Solid tümör gelişen hastalarda bağışıklık sistemi hafif baskılanmış olmasına ve diğerlerine göre daha nadir görülmesine rağmen IPA gelişimleri bildirilmiştir (35).

Risk faktörlerini *Aspergillus*'a ait virülans faktörleri ve hastaya ait konak risk faktörleri olarak da sınıflandırabiliriz.

• ***Aspergillus*'a ait Virülans Faktörleri:**

Mantarın virülans faktörleri infeksiyon gelişmesinde rol oynar. *Aspergillus* türlerinde çeşitli virülans faktörleri söz konusudur (44).

- **Toksinler:** *A. flavus* ve *A. fumigatus*'un hücre duvarında yer alan glikoproteinler endotoksin benzeri aktivite gösterir. *Aspergillus* infeksiyonlarında izlenen kanama ve nekrozdaki bu toksinler sorumlu olabilir.
- **Enzimler:** *Aspergillus* infeksiyonu sırasında salınan proteazlar pulmoner epitelin dökülmesine ve proinflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açabilir.
- **Demir metabolizması:** Demir, *Aspergillus* türleri için gerekli bir mikro besindir. Demir yükü fazla olan kişilerde fungal infeksiyonlara yatkınlık görülmesi, demirin *Aspergillus*'un virülansında rol oynayabileceğini göstermektedir.

Genel olarak IA'a en sık yol açan tür *A. fumigatus*'tur. Sporları küçük (3–5 µm) olduğu için akciğere daha kolay ulaşması, büyüme hızının yüksek olması, laminin ve fibrinojene daha kolay bağlanması *A. fumigatus*'a patojenliğini veren özelliklerdir (26):

- **Hastaya ait Risk Faktörleri**

Aspergillus infeksiyonlarına karşı immün sistemin kullandığı savunma mekanizmaları çeşitlidir (26). Bunların başında; makrofajların konidya ve sporları fagosite etmesi, polimorfonükleer lökositlerin (PMN) hifleri öldürmesi, hiflerin ekstraselüler ortamda öldürülmesi ve özellikle kronik hastalıkta T hücre fonksiyonu gelir.

İnvaziv aspergillozda en önemli savunma mekanizması nötrofil fonksiyonu ve oksidatif öldürülmedir. Bu nedenle, PMN disfonksiyonu olan AIDS ve kronik granülomatöz hastalık gibi hastalıklarda IA insidansı artmıştır. Son zamanlarda T hücrelerin *Aspergillus*'a karşı immün cevaptaki rolleri de belirginleşmeye başlamıştır. Nötrofillerin uyarısıyla oluşan yardımcı T (Th) hücre cevabı, fagositik aktiviteyi artırarak fungal infeksiyonun sınırlandırılmasına yardımcı olur (45). Bunun yanında Th-2 aktivitesi, özellikle IL-4 ve IL-10 aracılığıyla, makrofaj ve nötrofil aktivitesini baskılayarak invazyonun ilerlemesine yol açabilir.

Hastanın kortikosteroid kullanımı IA açısından önemli bir risk faktörüdür. Kortikosteroidlerin *Aspergillus*'un büyümesini in vitro şartlarda %30-40 hızlandırdığı gösterilmiştir (46).

Allojeneik kök hücre transplantasyonu yapılmış hastalar IA açısından yüksek risk altındadır ve bu hasta grubunda insidans artmaktadır (47). Aktif akut veya kronik greft versus host hastalığı (GVHH) ve kortikosteroid tedavisi bu hastaların IA riskini daha da arttırmaktadır. Otolog kök hücre nakli alıcılarında IA insidansı düşüktür (48, 49)

III.4.c. Klinik:

Değişik *aspergillus* türlerinin yaptığı infeksiyonları klinik olarak ayırt etmek mümkün değildir. İnvaziv aspergilloz, akut ve progresif gelişen infeksiyon tablosuyla karşımıza çıkar. Semptom ve bulgular ise tutulan anatomik alana göre değişiklik gösterir (35, 50).

Hastaların bir kısmında bu hastalığa ilişkin semptom ve bulgular yoktur. Başlangıçta kuru öksürük ve ateş saptanan dozlarda hastalık ilerledikçe diğer semptomlar da ortaya çıkar. Ancak kortikosteroid alan hastalarda ateş olmayabilir. Genellikle plöretik tarzda göğüs ağrısı vardır;

bazen plevral frotman duyulabilir. Başlangıç döneminde hemoptizi nadirdir. Plöretik göğüs ağrısı, dispne ve hemoptizinin birlikte olduğu durumda pulmoner emboli benzeri tablo ile karşımıza çıkabilir ancak trombositopeninin eşlik ettiği nötropenik hastalarda, fungal infeksiyonlara bağlı vasküler invazyon akılda tutulmalıdır (35, 51). Nötropenik hastalarda pnömotoraks oluşabilir. Pulmoner zigomikozdan ayırt edici hiçbir semptom veya bulgu yoktur (1, 52, 53).

Fokal hastalık dissemine ve bilateral hastalıktan daha iyi prognoza sahiptir. Rezeksiyon uygulanabildiği gibi seyri de daha yavaştır. Diffüz hastalığı olanlarda hipoksemi, bazen hipokapni saptanır. Lökosit sayısı ve serum biyokimya değerleri normal olabilir ve bilirubin ile laktat dehidrogenaz değerleri yükselebilir. Koagülopati gelişebilir. Akut lösemili hastalarda serum fibrinojen değeri yükselebilir (1).

İnvaziv aspergilloz akciğer grafisinde çok çeşitli görünümler izlenebilir. Hastalığın başlangıç döneminde akciğer grafileri tamamen normal olabileceği gibi noduler lezyonlar, yamalı infiltrasyonlar veya kaviter lezyonlar görülebilir(35,54) Kavitasyon ve tabanı plevraya oturan kama şeklindeki lezyonlar invaziv aspergilloz için tipiktir (1).

Bilgisayarlı tomografik inceleme (BT) ile normal olarak izlenen akciğer grafisine rağmen lezyonlar görülebilir. Nötropenik konakçıda beklenen görünüm, küçük nodüller ve/veya tabanı plevraya oturan keskin sınırlı, çevresi buzlu cam görünümünde lezyonlardır. Bu radyolojik görünüm " Halo Sign Bulgusu" olarak adlandırılır (22, 55). Nodül etrafındaki buzlu cam görünümü, fungal lezyonun etrafındaki hemorajinin radyolojik yansımasıdır.

Antifungal tedavi ve nötropeninin düzelmesiyle infeksiyon kontrol altına alınmaya başlar ve bu aşamada nodüller kaviteleşir ve "hilal belirtisi" (air crescent sign) ortaya çıkar. Patolojik bulgular hilal belirtisinin akciğer dokusundaki nekrozu ve infarktı gösterdiğini ortaya koymuştur. Akciğer grafisinde ve bilgisayarlı tomografide izlenebilir. Kavitede bakteriyel süperinfeksiyon gelişebileceği akılda tutulmalıdır.

Halo ve hilal belirtilerine tipik olarak *Aspergillus* infeksiyonunda rastlansa da zigomikoz, trikosporoz ve blastoşizomikoz infeksiyonlarında

da gelişebilir. Bu görünümünün enfarkt alanlarını temsil ettiğini göstermiştir (1, 55, 56).

III.4.d. Tanısal Yaklaşım:

İnvaziv pulmoner aspergillozda erken tanı ve antifungal tedavinin prognoza büyük etkisi olmasına rağmen rutin klinik kullanım için özgün ve duyarlı bir metot henüz geliştirilmemiştir. Bu nedenle IPA tanısında anamnez, fizik muayene bulguları ve radyolojik incelemelerin yanısıra, invaziv ya da noninvaziv yöntemlerle elde edilen solunum yolları örneklerinin mikrobiyolojik ve patolojik açıdan incelenmesi önem taşımaktadır (2, 58, 59). Solunum yollarına ait kültürler IPA için yüksek özgüllük ve düşük duyarlılığa sahiptirler (60, 61, 62).

III.4.d.i. Solunum yollarına ait örneklerin incelenmesi:

I. Balgam incelemesi: Nitelikli balgam örneği x100 büyütmede, her sahada 25' ten çok nötrofil, 10' dan az epitelyum hücresi içermelidir. Ancak, nötropenik olgularda balgamda yeterli nötrofil görülemeyebileceği unutulmamalıdır (6, 11). Balgamın olası etkenlere yönelik fungal kültürleri yapılmalıdır. Bu amaçla nebulizatör aracılığıyla %3'lük NaCl solutularak indüklenmiş balgam örnekleri elde edilebilir.

II. Bronkoskopik Örnekler:

• **Bronkoalveolar lavaj:** *Aspergillus* için uygun materyal sağlanması, tüm laboratuvarlar için yeterli materyal elde edilebilmesi ve maliyetinin düşük olması nedeniyle en sık uygulanan bronkoskopik örnekleme yöntemidir. Bronkopskopi sırasında hipoksemi gelişebileceği için oksijen desteğine rağmen PaO₂ düzeyi 60mmHg'nin üzerine çıkarılamayan hastalarda riskli olabilir. Trombosit sayısı 20.000/mm³'ün üzerinde olan hastalarda bronkopskopi ve lavaj yapılabilir. Daha düşük trombosit değerleri olduğunda trombosit süspansiyonu verilebilir. BAL'da yeni mikrobiyolojik incelemelerle tanı konusunda da gelişmeler vardır. Bunlar arasında *Aspergillus* Antijeni en çok umut veren yöntemler arasındadır (63). Bronkopskopinin tanısal değeri antifungal tedavi başlamadan önce yapılması halinde daha yüksek olmaktadır (60).

- **Korumalı Fırçalama (PSB):** Tek kullanımlık kateterle yapılır. Öncelikle bakteriyel bir etken düşünülen ve trombosit sayısı $50000/\text{mm}^3$ ün üzerinde olan olgularda yapılmalıdır. Fırça önce steril koşullarda, Gram boyalı preparat hazırlamak amacıyla steril bir lama yayılmalı ve hemen steril bir makasla 1cc Ringer laktat solüsyonu içeren tübün içine kesilmeli ve mikrobiyoloji laboratuvarına hızla transportu sağlanmalıdır (2).

- **Transbronşiyal biyopsi (TBB):** Bronkoskopik yöntemler içinde en invaziv ve en yüksek morbiditeye sahip olan yöntemdir. Her olguda yarar ve zarar hesabı yapılarak uygulanmalıdır. Lezyonun olduğu bölgeden 4-6 biyopsi örneği alınmalıdır. Yüksek komplikasyon oranı nedeniyle orta loba alınmaması önerilmektedir. Hasta seçiminde BAL için belirtilen önkoşullara ek olarak trombosit sayısının $70000 /\text{mm}^3$ ün üzerinde olmasına dikkat edilmelidir (64, 65, 66).

III.4.d.ii. Tanı Yöntemleri

Mikrobiyolojik tanılamada solunum yolu örneklerinin mikroskopik direkt boyasız preparatları *Aspergillus* tanınmasında yararlı yöntemlerdir. Bu örneklerin fungal kültürleri önemlidir. Pnömoniler sıklıkla fungemi ile birlikte olduğu için, bu olgulardan kan kültürü gönderilmesi de gereklidir. Mikroskopik bakı ve kültür yöntemleri dışında mikroorganizmaya özgü antijenlerin (direkt floresan antikor, lateks aglütinasyon, radyoimmünassay, enzim immünassay vb) ve nükleik asitlerin saptanması da (hibridizasyon, PCR vb) özellikle hızlı tanıda önemlidir. *Aspergillus* için galaktomannan ve beta-D glukoz antijenlerinin serumda veya vücut sıvılarında saptanmasına yönelik serolojik testler değerlidir (2,12). Bu testler 2008 yılında güncellenen invaziv fungal infeksiyonların tanısında Avrupa Kanseri ve Mikozis Araştırma ve Tedavi Çalışma grubunun (EORTC/MSG) konsensus kriterleri içinde de yerini almıştır (67).

- **Histoloji:**

- i. **Mikroskopik İnceleme:** Direk mikroskopik yöntemlerin hızlı sonuç vermesi ve duyarlılıklarının yüksek olmasına karşın *Aspergillus*'ların mikroskopik görünüşleri *Penicillium*, *Fusarium*, *Acremonium* ve *Scedosporium* gibi mantarlarla benzerlik gösterir (68). Gram boyama

yöntemiyle tüm mantarlar gram pozitif boyanır ve sitolojik boyalar, mantar boyları, floresan boyama yöntemlerinin kullanılması ile de mikroskopik incelemenin duyarlılığını arttırılabilir. Mantarlara özgü boyalar Gomorinin ,metamin gümüşleme boyası (GMS) ve periyodik asit-Schiff (PAS)'dır. Bronkolaveoler lavaj sıvılarında da kullanılabilen bu boyalar *Aspergillus*'a spesifik olmamalarına rağmen geniş kullanım alanı bulmaktadırlar.

Monoklonal antikolar kullanılarak (WF-AF-1 veya RB-A1) yapılan immunohistokimyasal, immunofloresan ve in situ hibridizasyon yöntemlerinden tanıda yararlanılabilir (68, 69, 70, 71).

ii. **Histopatolojik İnceleme:** Biyopsi örneklerinde *Aspergillus*'lar doku invazyonu gösterdiklerinde 45⁰ 'lik açı ile dallanma gösterirler.Hifler septalı ve hif kenarları simetrikdir. Bu özellikleri ile mukormikozlardan ayrılırlar.

Mantar elemanlarının dokuda gösterilmesi için en sık kullanılan boyalar PAS ve MGS gümüşleme yöntemidir. Etkenin dokuda gösterilmesi, kültürde üretilmesinden daha değerlidir. Kültürde *Aspergillus* üretildiğinde 3 olasılıktan söz edilebilir; etken, kolonizasyon, kontaminasyon. Ancak biyopsi materyalinde gösterilmesi, infeksiyonun karakteristik göstergesidir (68).

• **Kültür ve Diğer Yöntemler:** Kültür; etkeni tanımlamada, duyarlılığını belirlemede ve *A. nidulans* ve *A. Terreus* gibi dirençli türlerin ortaya konulması açısından önemlidir

Kültür yöntemlerinin dezavantajları ise, değerlendirme için uzman gerekmesi, üreme için zaman gerekmesi ve duyarlılığının düşük olmasıdır. *Aspergillus*'ların 37⁰ de üreyebilmeleri saprofit suşlardan ayırımında kolaylık sağlar. *Aspergillus* suşları üreme için özel besiyerine ihtiyaç duymazlar, bakteriyolojik amaçla kullanılan rutin besiyerlerinde kolayca üreyebilirler (62, 69).

İnvaziv pulmoner aspergillozda kan kültürleri oldukça düşük tanı değerine sahiptir. Hastalar genellikle pansitopenik olduğu için invaziv tanı yöntemleri kontrendike olabilir. Tedaviye karar vermede kültür sonuçlarından önce çeşitli moleküler testler de uygulanabilir. Bu amaçla, doku örneklerinde

18 S RNA'ya karşı in situ hibridizasyon tekniği önerilmiştir. Ancak bu yöntemde standardizasyon hala sorunludur (2).

• **Serolojik Testler:** *Aspergillus spp'* nin kan kültürlerinde saptanması oldukça nadirdir ve çoğu zaman tanı klinik semptomlar ve radyolojik görünümüne dayanarak konulmaktadır (72).

İnvaziv pulmoner aspergillozun erken ve spesifik tanısında etkin rol oynamaya başlayan serumda *Aspergillus* antijeni saptanmasına dayanan serolojik testler IPA tanımlama ve sınıflandırma kriterleri içinde de yer almaktadır(67). Bu testlerden galaktomannan(GM) ve β -D glukon(BG) testleri son dönemlerde yaygın olarak kullanılan serolojik testlerdendir (2).

1. Galaktomannan Testi:

Aspergillus ve *Hyalohyphomycetes* grubundan bazı küf mantarlarının duvar yapısının ana elemanlarından olan GM antijeni, α -mannoz rezidülerinden oluşan bir temel zincir ve kısa β (1,5)-galatofuranoz rezidülerinden oluşan yan zincirlerden oluşan bir polisakkarittir (29,73). Galaktomannan antijeni hifal gelişim sırasında salınır ve infekte hastaların serumlarında tespit edilebilir. Buna yönelik geliştirilen ELİSA yöntemi yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle nötropenik hastalarda haftada iki defa alınan kan örneklerinden GM bakılması ile bu hastalarda gelişebilecek *Aspergillus* infeksiyonlarının 3-4 gün önceden tespit edilebileceği gösterilmiştir (73).

Galaktomannan testi, serum örneği dışında, bronkolaveoler lavaj, idrar ve BOS gibi materyallerde de kullanılabilir. Bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerinde GM antijeninin tespit edildiği ilk çalışma 1982 yılında Andrews ve Weiner (74) tarafından yayınlanmıştır . Bu çalışmada özgüllük %91 olarak saptanmış ve gelecekte GM antijen ölçümlerinin yol gösterici olacağı düşünülmüştür.

Antifungal tedavi uygulanan hastalarda serum GM antijen düzeyi tedavinin başarısına göre artıp azalma gösterebilir.

Galaktomannan Antijeninin İnvaziv Aspergilloziste Kullanımı:

Tanısal her testte olduğu gibi, GM antijen saptanmasını klinik pratikte kullanmadan önce bir takım sorular yanıtlanmalıdır. Serum örneklenme

sıklığı, hastalığın değişik formları ve evrelerinde testin duyarlılığı, diğer tanısal işlemler sonuç vermeden önce testin tanıya yardımı, altta yatan hastalıkların testin duyarlılığına etkisi, kolonizasyonu ayırt edebilmesi, prognozu belirlemedeki duyarlılığı, tedaviye cevabı ve tekrarlayan enfeksiyonu gösterebilmesi, mikroorganizmanın türüne özgüllüğü ve olası yalancı pozitif sonuçların hangi durumlarda görülebileceği yanıtlanması gereken sorulardır (75).

Bu soruların yanıtları verildikçe GM'nin IPA'daki tanısal ve tedaviyi yönlendirmedeki etkinliği ve güvenilirliği de artacaktır. Klinik çalışmalarda bu soruların ışığında hasta popülasyonu seçilmekte ve GM ölçümü için örnekleme yapılmaktadır. Aspergilloz geliştiren hastaların %90'ını sitotoksik kemoterapi veya kortikosteroid alan, kök hücre veya solid organ transplantasyonu yapılmış, AIDS veya uzamış nötropeni olan hastalar oluşturur (22, 76). Bu hasta gruplarında elde edilen bir kültür üremesinin invaziv hastalık göstergesi olma olasılığı, immün sistemi baskılanmamış bir insana göre daha yüksektir. On günden uzun süreli nötropeni olan akut lösemili ve myeloablatif allojeneik kök hücre transplantasyonu yapılmış hastalar en yüksek risk grubunu oluşturmaktadır. Daha önceden IPA riskinin yüksek olduğu düşünülen olog kök hücre transplantasyonu alıcıları, lenfoma ve solid tümörlü hastalardaki nötropeni derin ve uzun değildir, bu nedenle de IPA açısından düşük riskli kabul edilir (77).

Bu bilgiler doğrultusunda, fungal enfeksiyonların tanısı için geliştirilen testlerde de risk faktörleri göz önüne alınarak hasta seçimi yapılmalıdır. Hastalığın insidansı, tarama testlerinde pozitif ve negatif tanı değerleri belirleyici çok önemli bir faktördür. Fungal enfeksiyonların görülme sıklığı arttıkça kullanılan testin pozitif ve negatif tanı değeri de artar. Bu bilgiler de göz önüne alınarak GM ölçümlerinin yapıldığı klinik çalışmalara dahil edilen hasta popülasyonu IPA açısından yüksek riskli olmalıdır (78).

Galaktomannan Antijeninin Saptanması için Kullanılan Yöntemler: GM antijeninin saptanması sıçanlarda GM'a karşı geliştirilmiş antikorlar sayesinde mümkün olmuştur. Bu antikorların hem tutucu hem de

işaretleyici olarak kullanılmaları ile testlerin GM'ı yakalama eşikleri düşürülmüştür

a) Lateks Aglütinasyonu: Galaktomannana karşı oluşturulmuş olan monoklonal EB-A2 antikoruna, lateks aglütinasyonu ile serumda GM saptanması için kullanılmıştır. Duyarlılığı %70 ve özgüllüğü %86 dolaylarında bildirilmiştir (79)

b) ELISA: Lateks aglütinasyonunda olduğu gibi monoklonal antagalaktomannan antikoruna EB-A2, *Aspergillus* GM'sinin (1→5)-β-D-galaktofuranosid yan zincirini tanıır. Monoklonal EB-A2 antikorunun hem yakalayıcı hem de peroksidaz ile işaretleyici olarak iki taraflı kullanıldığı sandviç ELISA yöntemi (Platelia® *Aspergillus*; Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, Fransa) geliştirilmiştir (80) .

Bu yöntemle lateks aglütinasyonuna göre serum GM seviyeleri 10-15 kat daha duyarlı olarak ölçülebilmektedir. Seri örneklemelerde lateks aglütinasyona göre 5 gün kadar daha erken tanı koydurucu olabildiği gibi ardı ardına iki pozitiflik kriter alındığında özgüllüğü de yüksektir. Ancak duyarlılıktaki artışla beraber yalancı pozitiflik de artmaktadır (79).

Yapılan birçok çalışmada galaktomannan antijen tespitinin aspergilloz tanısında duyarlılığının %67-100 ve özgüllüğünün %81-99 arasında olduğu gösterilmiştir. Değişik çalışmalarda Platelia testinin duyarlılık ve özgüllüğünün değişken bulunmasının nedeni hasta popülasyonlarının ve serum örneklem sıklığının değişik olmasıdır. Maertens ve ark. (81) 71'inde kanıtlanmış IA olan 186 hastada seri GM ölçümleri yaptıkları çalışmada duyarlılığı %92.6, özgüllüğü %95.4 olarak bulmuşlardır . Hastaların 2/3'ünde her hangi bir klinik ya da radyolojik bulgu ortaya çıkmadan önce GM pozitifleşmiş, %72 hastada ise ampirik antifungal tedavi başlanmadan önce pozitif GM düzeyleri saptanmıştır. Aynı grubun bir başka çalışmasında da duyarlılık %89.7, özgüllük %98.1 olarak bulunmuştur (82) .

Bazı antibiyotiklerin üretiminde galaktomannan kontaminasyonu sonucu kullanıldıkları hastalarda yalancı pozitiflik görülebilmektedir. Özellikle piperasilin-tazobaktam alan hastalarda yanlış sonuçlar izlenebilmektedir (68).

Testin en önemli problemi ise erişkinlerde %14, çocuklarda ise %60 civarında olan yalancı pozitif test sonuçlarıdır (72). Galaktomannan içeren bazı besin maddeleri; süt ve süt ürünleri, tahıllar, besin katkı maddeleri) yalancı pozitifliğe neden olabilir (72) Hastane yemeklerinde, konserve sebzelerde, tahıllarda, makarnada GM saptanmıştır (27). Yiyecekleri kontamine eden küfler ısıya dayanıklı polisakkaritleri sayesinde yemeklerle alınır. Özellikle sitotoksik kemoterapi sonrası mukozit gelişen hastalarda, yüksek proteinli besinler alanda ve çocuklarda daha sıklıkla olmak üzere GM barsaklardan transloke olabilir. Prematür bebeklerde de yalancı pozitiflik siktir (83) Galaktomannan yalancı pozitifliği teknik hatalara bağlı olabileceği gibi kontaminasyon sonrası çapraz reaksiyonla da görülebilir (27). *Penicillium* türleri dışında diğer fungal patojenlerle çapraz reaksiyon kanıtlanmış değildir (84). Penisilin türevleri gibi fungal kökenli antibiyotiklerle de yalancı pozitiflikler bildirilmiştir, piperasilin bunlardan birisidir (27, 85, 86–88). Amoksisilin-klavulonik asit ile oluşan GM yalancı pozitiflikleri de bildirilmiştir (89). Sandviç ELISA tekniğiyle yalancı pozitiflik yaklaşık %8 olarak bildirilmiştir (79–81).

Antifungal tedavi ile fungal üreme azaldıkça GM salınımı ve serum GM düzeyinde azalma görülebilir. Bunun yanında aspergillozun tutulum alanı ve genişliği de önemlidir; anjioinvazyonu sınırlı olan, lokalize (abse gibi), GM salınımı düşük ve antigalaktomannan antikor seviyeleri yüksek olan hastalarda GM yalancı negatif olabilir.

Platelia testinin kesim değeri (cut-off) tartışma konusudur. Üretici firma 1.5 ve üstündeki oranların pozitif olarak kabul edilmesini önermektedir. Ancak bu değerın duyarlılığı azalttığını tartışan ve pozitiflik noktasının 1.0, 0.8 ve hatta 0.7' ye indirilmesi gerektiğini, bunun özgüllüğü etkilemediğini bildiren çalışmalar mevcuttur (82, 90–92). Ancak Amerika Birleşik Devletlerinde Platelia testi 0.5 eşik değeri için FDA onayı almıştır (93). Bunun yanında eşik değeri ne olursa olsun artan antijen titreleri ve ardı ardına pozitiflikler klinik açıdan anlamlıdır.

Galaktomannanemi geçicidir bu sebeple seri örneklemelerle pozitif değerlerin yakalanması daha kolaydır. Arka arkaya iki örnekte pozitiflik

saptanması testin özgüllük ve pozitif prediktif değerini arttırırken, duyarlılıkta minimal bir azalmaya yol açar (82) .

İnvaziv aspergillozda tedavinin optimal süresi bilinmemektedir. Kültür tanı ve tedaviyi yönlendiremediği gibi tedavinin kesilmesinde de yön gösterici değildir. İmmün baskılanmanın ortadan kalkması, tedavinin güvenle kesilmesi için mutlaka gereklidir. Tedavinin kesilme kararı zor bir karardır; tedaviyi erken dönemde sonlandırmak hastalığın tam iyileşmemesine veya tekrarlamasına yol açabileceği gibi, gereksiz olarak uzatılması da hastayı yan etki ve maliyet yükünün altına sokar. Bu sebeple GM antijen düzeyi ölçümü ve PCR ile fungal DNA saptanması gibi yeni yöntemlerle hastalığın ve tedaviye cevabın izlemi yapılabilir, bu şekilde tedavinin güvenle kesilmesi mümkün olabilir (94). Pozitif ve özellikle de negatif prediktif değerinin yüksek olması nedeniyle ateşi devam eden ve GM düzeyleri sürekli olarak negatif saptanan hastalarda ateş nedeni olarak başka bir etiyoloji düşünülmeli, kontrol edilmiş pozitif sonuçlarda aspergillozun diğer belirti ve bulguları olmasa da antifungal tedavinin başlanması veya mevcut tedavinin değiştirilmesi planlanmalıdır (81, 82).

2. β -D Glukan (BG) Testi:

β -D glukan antijeni *Aspergillus* türlerinin duvar yapısında olduğu için IPA tanısında kullanılabilir. At nalı yengeci için bir pıhtılaşma faktörü olan *Faktör G*' nin bu antijene duyarlı doğal saptayıcı olması prensibine dayanarak gösterilmesi için kolorimetrik bir tetkik geliştirilmiştir (95, 96). Tetkik sadece *Aspergillus* suşlarına bağlı enfeksiyonları saptamakla kalmayıp *Candida*, *Fusarium*, *Trichosporum*, *Acremonium* ve *Sacchromyces* enfeksiyonlarını da gösterir. İlk olarak 1995 yılında hematolojik maligniteli hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların tanısına yönelik yapılan çalışmada BG testinin duyarlılığı %90, özgüllüğü %100 olarak gösterilmiştir. Antifungal profilaksisi verilen akut myeloid lösemili 283 olguyla yapılan çalışmada invaziv mantar enfeksiyonu kanıtlanmış veya muhtemel olguların %100'ünde klinik tanıdan medyan 10 gün önce serum örneklerinden en az biri BG için pozitif sonuç vermiştir (97). *Aspergillus* türlerinin de sebep olduğu invaziv fungal enfeksiyonlar dahil, BG testinin duyarlılığı %100 bulunmuştur (95). Testin

negatif prediktif değeri %100 ve birden fazla serum örneğinde BG testinin pozitif bulunması ile testin özgülüğü %95 üzerine çıkmaktadır. BG testinin *Aspergillus* konusundaki dezavantajı ise sadece belli bir mantar türüne özgü olmayıp birçok diğer fungal infeksiyon türünde pozitif sonuç verebilmesidir. İnvaziv aspergilloz vakalarında BG ve GM antijenlerinin etkinliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada her iki test de aynı oranda duyarlı bulunurken BG testinin GM testine göre daha erken pozitifleştiği gösterilmiştir (73, 98). Ancak bu tanı yöntemi ile henüz prospektif antifungal kullanımını düzenleyen bir çalışma yapılmamıştır.

Beta glukan testinin yanlış pozitif sonuçlanmasına neden olarak özgülüğünü düşüren durumlar; hemodializ, kardiyopulmoner bypass, immunglobulin tedavisi, glukan içeren gazlı bez maruziyeti (major cerrahi) ve çevresel glukan maruziyetidir (68).

Hangi Test Daha İyi?:

İnvaziv aspergilloz tanısında konvansiyonel yöntemlerin yeterli duyarlılıkta olmaması, doku örnekleme ve kültürün çoğunlukla yapılamaması nedeniyle tedaviyi yönlendirmede rolleri kısıtlıdır. Geniş spektrumlu antibakteriyel tedaviye rağmen ateşi devam eden hastalarda ampirik antifungal tedavi yaklaşımları bilinmektedir. Ancak yan etki ve maliyet faktörleri göz önüne alındığında esas gerekli olan preemtif tedavidir. Bu tedavi yaklaşımında IPA için yüksek riskli hasta grubunun yeni geliştirilen hızlı, duyarlı ve özgülüğü yüksek tekniklerle taranması ve antifungal tedaviden yarar görme olasılığı yüksek hastaların erken dönemde etkili dozlarda antifungallerle tedavi edilmesi esastır (99). GM düzeyinin monitorizasyonu, bu hasta grubunun belirlenmesinde bir yöntem olarak umut vericidir.

İnvaziv aspergilloz riski yüksek nötropenik 40 hastada yapılan çalışmada β -D glukan ve galaktomannan testleri karşılaştırılmış, testlerin duyarlılık ve özgülüklerinin eşit olduğu izlenmiştir (98). Klinik invaziv aspergilloz tanısı öncesi her iki test de pozitif sonuç verirken BG testinin daha erken dönemde pozitifleşme eğiliminde olduğu izlenmiştir. Testlerin

kombinasyonunun yalancı pozitifliklerin saptanmasında oldukça faydalı olduğu görülmüştür (98).

Nötropenisi olan hastalarda her iki testin kullanımını destekleyen yayınlar vardır (97).

- **Moleküler Tanı:** İnvaziv aspergilloz olgularındaki yüksek mortalite nedeniyle daha gelişmiş, seçici, duyarlı ve tekrarlanabilir tanısal testler geliştirilmeye çalışılmaktadır. PCR teknikleri de bu savdan yola çıkılarak klinik uygulamaya girmiştir, ancak standart bir yöntem tanımlanmamış olmasından dolayı bu testlerin tekrarlanabilirliği ve karşılaştırılması zordur (78).

III.4.e.Tedavi:

İnvazif pulmoner aspergilloz tedavi edilmezse %100 fatal sonuçlanır. Hastalığın ilerlemesi konakçı faktörleriyle yakından ilişkilidir. Tedavi yanıtı hasta grubuna ve seçilen tedaviye bağlıdır. En iyi yanıt oranları, risk altındaki hastaya agresif tanısal yaklaşım ve erken ampirik antifungal tedavi ile elde edilir. Yanıt yetersiz ise zaman kaybetmeksizin tedavi değiştirilmelidir (1).

İmmünsüpresif konakçıda invazif aspergilloz tedavisinde ilk seçenek hala amfoterisin B'dir. Amfoterisin B deoksikolat 1.0 mg/kg/gün dozunda uygulanır. Hastada böbrek yetmezliği gelişirse veya tedavi öncesi renal fonksiyon bozukluğu varsa, yeterli doz amfoterisin B deoksikolat uygulamasına karşın tedavi altında fungal infeksiyonda ilerleme saptanırsa veya yanıt alınamazsa amfoterisin B'nin lipid formülasyonlarından biri (lipozomal amfoterisin B -AmBisome®, amfoterisin B lipid kompleksi - ABLC veya Abelcet®, amfoterisin B kolloidal dispersiyon - ABCD veya Amphocil® ya da Amphotec®) kullanılabilir. Açık çalışma sonuçları da incelenirse amfoterisin B'nin lipid formülasyonlarıyla elde edilen yanıt oranları amfoterisin B deoksikolatla benzerdir (1).

Amfoterisin B'nin lipid formülasyonlarının tedavideki optimal dozu bilinmemektedir (100). Yeterli veri sağlanana dek, bu infeksiyonun ciddi sonuçları ve daha iyi yanıt elde etme olasılığı dikkate alınırsa yüksek dozda uygulama rasyonel bir yaklaşımdır.

Triazol grubundan vorikonazolün oral ve IV formları bulunmaktadır. Vorikonazol ile IPA tedavisi 12 saatte bir 6 mg/kg'lık iki IV yükleme dozu ile başlatılır, ardından 12 saatte bir 4 mg/kg'lık dozlarla idame tedavisine geçilir. Vorikonazol son konsensus raporlarına göre IPA tedavisinde primer ilaçtır (101).

İtrakonazol, halen piyasada bulunan ve aspergillus etkili olduğu bilinen tek azoldür. Amfoterisin B deoksikolat ile karşılaştırmalı rastgele yöntemli çalışma verilerinin elde olmaması, bu ilacın biyoyararlanım sorunu göz önüne alındığında önemli bir dezavantaj yaratmaktadır.

İnvaziv aspergillozda tedavinin süresi de oldukça tartışmalıdır. Bulgularda gerileme sağlandıktan sonra en az bir ay süreyle stabil kalması tedaviyi kesme ölçütünü oluşturabilir (1). Ancak her hasta tek başına değerlendirilmelidir. İmmünsüpresyon devam ediyorsa ve altta yatan hastalık kontrol altında değil veya relapsta ise tedavi süresi uzatılabilir.

Cerrahi (rezeksiyon), fokal pulmoner aspergillozda, kemik iliği transplantasyonu veya yüksek-doz kemoterapi öncesi sebat eden pulmoner infiltrasyonda, önemli hemoptizide veya ana damarlara ya da hava yollarına bası yapan lezyonlarda endikasyonu vardır (1).

III.4.f. Korunma:

Korunmanın temelini, el yıkama başta olmak üzere, genel enfeksiyon kontrol önlemleri oluşturur. *Aspergillus* enfeksiyonlarından korunmada onarım ve tadilat süreçlerinde uygun önlemler alınması, bitkilerin hastane ortamında bulundurulmaması önemlidir (2).

Allogeneik hematopoietik kök hücre alıcılarında, indüksiyon kemoterapisi alan akut lösemililerde itrakonazol (iv-oral suspansiyon formu) veya posakonazol ile aspergillusaya yönelik primer profilaksi önerilmektedir (101). Daha önceki nötropenik atak sırasında invazif fungal enfeksiyon geçirmiş olanlarda yeniden nötropeni geliştiğinde sekonder antifungal profilaksi düşünülmelidir (102).

III.4.g Mortalite:

Tanı ve tedavideki tüm gelişmelere rağmen aspergilloz halen mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Özellikle genel durumu kötü, trombositopenik hastada kesin tanının antemortem olarak konulması zor olduğu için mortaliteyle ilişkili daha doğru bilgiler için otopsi çalışmaları gerekmektedir. Voseger ve ark. (103) yaptığı çalışmada 1993-1996 yılları arasında yapılan 1187 otopsinin incelemesinde İA tüm ölümlerin %4'ünde (n=48) esas ölüm nedeni olarak bulunmuştur . Denning (104), 1972-1995 yılları arasındaki 1223 İA olgusunu gözden geçirmiş ve serebral, pulmoner ve sinus aspergillozisi için olgu-ölüm hızlarını sırasıyla %99, %86 ve %66 olarak saptamıştır. Aspergillozun tuttuğu organ kadar hasta popülasyonunun da mortaliteyi etkilediği görülmüştür. Kök hücre transplantasyonu yapılmış olan hastalarda ortalama mortalite %90 iken; lösemi, kemoterapiye bağlı nötropeni ve aplastik anemilerde ortalama mortalite %77'dir. İnvaziv aspergilloza ait kötü prognostik faktörler; lösemi relapsı, devam eden nötropeni, immün baskılanmanın azaltılamaması, yaygın pulmoner hastalık, majör hemoptizi, gecikmiş tedavi, düşük doz amfoterisin B, düşük veya saptanamayan itrakonazol seviyesi, ikinci nötropeni epizodu sırasında profilaksi yapılmaması ve histolojik olarak gösterilmiş anjioinvazyondur (104).

Erken dönemde uygun antifungal tedavinin başlanması, ilk tedavi etkili olmazsa zaman geçirmeden tedavinin değiştirilmesi prognozu olumlu etkilemektedir. Tedavi süresi arttıkça tedaviye yanıt veren hasta sayısı da artmaktadır. Tedavi verilen hasta popülasyonu da tedavi yanıtını değiştiren bir faktördür(104) .

III.4.h Ekonomik yük:

Geniş spektrumlu antibakteriyel tedaviye rağmen ateşi devam eden ve ateş odağı bulunamayan hastalarda 5.-7. günden itibaren ampirik antifungal tedavi günümüzde yaygın kabul gören bir yaklaşımdır (105). Ampirik antifungal tedavi bazı hastaları hem gereksiz yere amfoterisin B gibi yan etki profili yüksek bir ilacın riski altına sokmakta hem de hastalık maliyetini arttırmaktadır. Hastane yatışının uzaması, antifungal tedavi ve komplikasyonları ekonomik açıdan ek yük getirmektedir.

Aspergillus infeksiyonu riski yüksek hasta popülasyonunun da artmasıyla hem ilaca hem de yan etkilere ikincil olarak artan maliyet preemptif tedaviyi gündeme getirmiştir. Preemptif tedavi, laboratuvar testleri kullanarak yüksek riskli hasta topluluğunu belirlemeyi ve ampirik tedaviyi bu yüksek riskli topluluğa yöneltmeyi öngörür. Ampirik tedaviye göre daha “kuvvetli” bir yaklaşımdır (106). Sadece yüksek riskli hastaları seçerek gereksiz ampirik tedaviden kaçınmayı, bununla beraber hastalığı önlemek için de zamanlama açısından en iyi etkiyi göstermeyi hedefler. Preemptif tedavinin başarılı olması için yüksek riskli hastaları tedavinin etkili olabileceği en erken dönemde saptamayı sağlayan duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir tanısal yöntem olmalıdır .

Bu bulgular göz önüne alınarak, hedeflenmiş tedavi kararı verilmesi için yeni tanı yöntemlerinin kullanımının, diğer potansiyel yararlarının yanı sıra, maliyeti azaltacağı söylenebilir. Antibiyotik tedavisi altında ateşi devam eden nötropenik hastalarda yakın bir gelecekte ampirik tedavi değil, hedeflenmiş tedavinin ağırlık kazanacağına inanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, IPA açısından risk altında olan hastalarda spesifik veya nonspesifik radyolojik bulgu geliştiğinde yapılan bronkoalveoler lavaj sıvısının serolojik değerlendirilmesinin tanıdaki değerliliğini saptamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM:

Çalışma Grupları:

Bu çalışmada; Temmuz 2007 - Temmuz 2008 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde takip edilen ve bilgilendirilmiş hasta onamı alınan bağışıklığı baskılanmış, IPA ön tanısı ile BAL yapılmış 45 hasta ile IPA açısından risk taşımayan, farklı nedenlerle BAL yapılan 22 kontrol grubu olgu prospektif olarak değerlendirildi. Çalışmaya başlanırken Uludağ Üniversitesi Tıbbi, Cerrahi ve İlaç Araştırmaları Etik Kurulu'nun onayı alındı (Onay tarihi: 10.07.2007, Karar numarası : 2007-13/34).

Olguların demografik özellikleri ve yattıkları klinikler kaydedildi. Altta yatan hastalıkları ve IPA için risk faktörü olan kemoterapi, kortikosteroid, antimikrobiyallerin ve immünsüpresif ajanların son 30 gün içindeki kullanımı, solid tümör varlığı, son 1 yıl içinde kök hücre nakli varlığı sorgulandı. Yattıkları süre boyunca günlük hasta ziyaretleri ile hastaların vital bulguları, varolan veya yeni gelişen belirtileri, klinik ve laboratuvar bulguları, almakta oldukları kemoterapötik, antibiyotik ve antifungal ajanlar izlendi. Günde en az dört defa olmak üzere aksiller vücut ısısı ölçümleri yapıldı. Haftada bir defa çekilen Postero-anterior (PA) akciğer grafisi, ateş süresi boyunca haftada 3-4 defa olmak üzere tekrarlandı. Hastaların örneklerindeki üremeler, görüntüleme tetkiklerinin ve serolojik testlerin sonuçları kaydedildi. IPA gelişen hastaların tedaviye yanıtları izlendi. Hastaların izlemi eksitus veya taburcu olmalarına kadar sürdürüldü.

Hastalar, yatışları esnasında klinik, radyolojik ve/veya laboratuvar değerlerinde değişik saptanması durumunda Hematoloji-İnfeksiyon Hastalıkları-Göğüs Hastalıkları Konseyi'nde değerlendirildi. Konsey kararları doğrultusunda hastaların tanılarına yönelik yaklaşımlarda bulunuldu ve tedavilerinde uygun değişiklikler yapıldı.

Toraks Bilgisayarlı Tomografisi (Toraks BT)

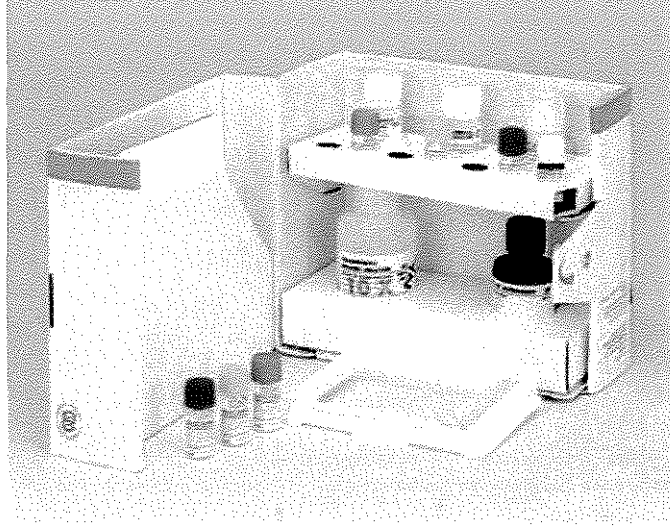
Hastalarda; ateş yüksekliği gelişmesi, genel durumun bozulması sonucu uygulanan çoklu antibiyotik tedavisine yanıt alınamaması ve çekilen PA akciğer grafisinde yeni infiltrasyonların izlenmesi durumunda Toraks BT çekildi. Toraks BT’de IPA ile uyumlu olarak nodul, “halo belirtisi”, kavite veya “hava-sıvı seviyesi/air crescent” saptanması durumunda hastalara bronkoskopi ve bronkoalveoler lavaj yapılması planlandı. Toraks BT bulguları özgün olmadığı halde yüksek riskli oldukları için az sayıdaki bazı hastaya da, bronkoskopi ve bronkoalveoler lavaj yapıldı.

Bronkoskopi ve Bronkoalveoler Lavaj (BAL)

IPA açısından riskli hastalara ve risk taşımayan kontrol grubuna konvansiyonel teknik kullanılarak fiberoptik bronkoskopi uygulandı(108). IPA açısından riskli hastalar genellikle trombositopenik olduğu için kanama sorunu nedeniyle, nazal girişle karşılaştırıldığında daha güvenli olan oral giriş yolu kullanıldı(109). Trombosit sayısı 20×10^9 /L olan hastalara işlemden önce ve lüzum halinde işlem sırasında trombosit süspansiyonu verildi. Fiberoptik bronkoskop radyolojik lezyonların diffüz izlendiği olgularda sağ orta lob veya linguler segmentten, toraks BT’de lezyonun lokalize izlendiği durumlarda ise ilgili segmentin bronşuna sabitlenerek 20 mL steril salin solüsyonu enjektör yardımıyla bronş içine manuel olarak verilip geri alındı. Bronkoskopi prosedürüne bağlı gelişen komplikasyon olmadı. BAL sıvısı sitolojik ve mikrobiyolojik tetkik için mikrobiyoloji laboratuvarına gönderildi. Sıvıdan sırasıyla direkt boyasız mikroskopi, Gram ve aside dirençli boyama ve bakteri, tüberküloz ve mantar izolasyonu için kültürler yapıldı.

Galaktomannan Antijen Testi

Bronkoskopi yapılan hastalardan bronkoskopi işlemi sırasında bronkoalveoler lavaj sıvısı ve işlem sonrasında kan örneği alındı. BAL sıvısı ve kan örnekleri steril bir şekilde laboratuvara gönderildi. Kan örneklerinin serumları ayrıldı. BAL sıvıları ve serum örnekleri GM testi çalışılana kadar –70°C’ de saklandı. Toplanan örnekler, üretici firmanın (Platelia® *Aspergillus*; Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, Fransa) önerisi doğrultusunda tek basamaklı sandviç enzim immün assay (EIA) tekniği ile çalışıldı (Şekil II). İlk işlem olarak, oluşmuş immün kompleksleri çözmek için 300 µl örnekler 100 µl %4'lük EDTA solüsyonu ile karıştırıldı. Üç dakika 100°C’de inkübe edildikten sonra 10.000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant başka bir tüpe alınarak işleme hazır hale getirildi. Sıçanlardan elde edilmiş monoklonal anti-GM EB-A2 antikoru ile kaplı ELISA plağının çukurlarına, 50 µl hazırlanmış örnekler eklendi. Daha sonra peroksidaz ile işaretli konjugat (anti-GM EB-A2 antikoru) da çukurlara 50 µl olacak şekilde eklendi ve 90 dakika 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra beş kez yıkama yapıldı. Yıkama aşamasından sonra plakların içine 200 µl kromojen-substrat solüsyonu eklendi ve 30 dakika karanlıkta oda ısısında bekletildi. Reaksiyon durdurulduktan sonra sonuçlar 450/620 nm’de spektrofotometrik olarak okundu. Her çalışmada pozitif, negatif ve cut-off kontroller kullanıldı ve örneklerin optik dansitesi cut-off kontrollerin optik dansitesine oranlanarak indeks değeri hesaplandı. İndeks değeri ≥ 0.5 olan örnekler pozitif olarak kabul edildi. Ancak BAL örnekleri için henüz kesin belirlenmiş bir cut-off değeri olmadığından ayrıca BAL için cut-off belirlemek üzere bu çalışmada roc analizi de yapıldı.



Şekil-2: Ticari *Aspergillus* galaktomannan enzim immüno assay (EIA) kiti

β -D-Glukan Testi:

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

inhibitörlerinin uzaklaşmasını sağladı. Serumun işlenmesi tamamlandıktan sonra hazırlanmış olan standartlar da 25 µl olacak şekilde mikroplak kuyularına kondu. En son aşamada ise β-D-glukan'ın varlığını gösterecek yapay substrat (Bac-Leu-Gly-Arg-pNA) tüm kuyucuklara 100 µl kondu ve 405nm'de 37°C'da kinetik olarak okuma yapıldı. Her 30 saniyede bir olmak üzere 40 dakikada 80 okuma yapıldı ve tüm okumaların ortalaması alınarak standartlar ile oluşturulan grafikte denk düştüğü noktaya göre pikogram (pg) cinsinden serum veya BAL'daki β-D-glukan miktarları bulunmuş oldu. Pozitif sonuç olarak hem serum hem de BAL için ≥80pg/ml kabul edildi. Aynen GM testinde olduğu gibi BAL için bu teste de belirli bir pozitif değer olmadığından pozitif değeri belirlemek için BAL BG sonuçlarına da roc analizi uygulandı.

IPA Değerlendirilmesi:

IPA tanımlamaları yapılırken Avrupa Kanseri ve Mikozi Araştırma ve Tedavi Çalışma grubunun (EORTC/MSG) konsensus kriterlerine bağlı kalındı(67). Mikrobiyolojik, radyolojik ve klinik kriterler gözden geçirilerek hastalar kanıtlanmış, yüksek ve düşük olasılıklı IPA ve IPA'sı olmayanlar (non-IPA) olarak ayrıldı. Kanıtlanmış IPA (K-IPA) için doku örneklerinde histopatolojik invazyonun gösterilmesi ve/veya kültürde *Aspergillus* türlerinden birinin üremesi; yüksek olasılıklı IPA (YO-IPA) için bir konak faktörü, bir klinik faktör ve bir mikrobiyolojik faktörün varlığı; düşük olasılıklı IPA (DO-IPA) için ise mikrobiyolojik bulgu olmadan bir konak ve bir klinik faktörün varlığı arandı (Tablo 5-6).

Tablo-5: EORTC-MSG Konsensus Kriterlerine göre Kanıtlanmış İnvaziv Fungal İnfeksiyon Tanı Kriterleri

Analiz ve Örnekler	Küf Mantarları
Mikroskopik analiz: steril materyal	Hifa veya doku hasarı bulgusuyla birlikte izlenen küf benzeri formlardan alınan ince iğne biyopsilerin veya biyopsi materyallerinin histopatolojik, sitopatolojik veya direk mikroskopik incelenmesi
Kültür: steril materyal	Normalde steril olan ve klinik veya radyolojik olarak infeksiyon hastalıkları açısından bulgu veren alanlardan steril prosedürle alınan örneklerde küf veya "esmer mantar" üremesi (bronkoalveoler lavaj sıvısı, kranial sinus kavite sıvısı ve idrar hariç)
Kan	Uygun enfeksiyon hastalığı kliniği varlığında kan kültüründe küf mantarı üremesi (ör: <i>Fusarium</i>)

Tablo-6: EORTC-MSG Konsensus Kriterlerine göre Yüksek Olasılıklı İnvaziv Fungal Enfeksiyon Tanı Kriterleri

Konak Faktörleri:

1. Nötropeni: 10 günden uzun süreyle ($<0.5 \times 10^9$ neutrophils/L)
2. Allojenik kök hücre alıcısı olmak
3. Kalıtsal Ağır İmmun Yetmezlik Sendromları(Kronik Granülomatöz Hastalık veya Ağır Kombine İmmun Yetmezlik)
4. Son 90 gün içinde T hücre immünyüpresör tedavileri almış olmak (siklosporin, TNF- α blokörü, spesifik monoklonal antikorlar(alemtuzumab)
5. Uzun süreli (>3 hafta) 3mg/kg/gün Prednizolon eşdeğeri kortikosteroid kullanımı (ABPA hastaları hariç)

Klinik Kriterler:

A) Alt Havayolları Fungal hastalıkları:

Aşağıdaki BT bulgularından en az birinin olması

Nodul(ler) ve/veya Halo işareti

Hava Hilal Belirtisi (Air Crescent)

Kavite

B) Trakeobronşit:

Bronkoskopik analiz sırasında izlenen ülser, nodul, psödomembran, plak veya kurut

C) Sinonazal Enfeksiyon:

Görüntülemelerde sinuzit izlenmesi ve aşağıdaki bulgulardan en az birinin varlığı

Akut lokalize ağrı (göze doğru yayılan)

Üzeri siyah kurutlu nazal ülser

Paranasal sinuslerden orbitayı da içine alacak kemiksi bariyerleri aşacak şekilde genişleme

D) Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonu:

Görüntülemede fokal lezyon ve/veya MRI veya BT'de meningeal kalınlaşma

Mikolojik Kriterler:

A) Direk Testler (sitoloji, direk mikroskopi, kültür)

Balgam, bronkoalveoler lavaj sıvısı, bronş fırça veya sinus aspirat örneklerinde mantar gösterilmesi

→ Küf mantarını destekleyecek fungal elemanların bulunması

→ Kültürde pozitiflik (ör: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Zygomycetes* veya *Scedosporium*)

B) İndirek Testler

1) Aspergillozis: Plazma, serum, bronkoalveoler lavaj sıvısı veya beyin omurilik sıvısında galaktomannan antijeni saptanması

2) Cryptococcus/ zygomycosis hariç mantarlarda serumda β -D-Glukan saptanması

İstatistiksel Analiz:

Verilerin istatistiksel analizleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından yapıldı. Çalışmanın analizleri SPSS13.0 for Windows (Chicago, IL.) istatistiksel analiz programında yapıldı. Sürekli değer alan değişkenler ortalama ve standart sapma, Kesikli değer alan değişkenler sayı ve yüzde değerleri ile birlikte frekans dağılımları ile ifade edildi. Sürekli değer alan değerlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile sınanmış olup test sonucuna göre gruplar arası karşılaştırmalarda Student t testi kullanıldı. Kesikli değer alan değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmaları Pearson Ki-Kare ve Fisherin kesin ki-kare testi ile değerlendirildi. Çalışmada $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hem kan hem de BAL örnekleri için; galaktomannan testinde $0.5 \leq$ indeks değeri, β -glukan testinde ise ≥ 80 pg/mL değerleri duyarlılık, özgüllük, negatif tanı ve pozitif tanı değerinin hesaplanmasında kullanıldı (Tablo II).

Tablo-7: Duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif tanı değerlerinin hesaplanması

Test sonucu	Hastalık durumu	
	Var	Yok
Pozitif	a (gerçek pozitif)	b (yalancı pozitif)
Negatif	c (yalancı negatif)	d (gerçek negatif)
Duyarlılık	$a/(a+c)$	=gerçek-pozitif test sonuçları/hastalığı olan tüm hastalar
Özgüllük	$d/(b+d)$	=gerçek-negatif test sonuçları/hastalığı olmayan tüm hastalar
Pozitif tanı değeri	$a/(a+b)$	= gerçek-pozitif test sonuçları/pozitif test sonucu olan bütün hastalar
Negatif tanı değeri	$d/(c+d)$	= gerçek-negatif test sonuçları/negatif test sonucu olan bütün hastalar

BULGULAR:

A- Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik, Klinik, Radyolojik ve Mikrobiyolojik Verileri

Çalışmaya IPA açısından yüksek riskli 45 hasta ve interstisyel akciğer hastalığı ön tanısıyla tetkik edilen, IPA açısından risk taşımayan 22 kontrol olmak üzere toplam 67 vaka alındı. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları sırasıyla $47,0 \pm 13,0$ (22-72) ve $50,9 \pm 12,4$ (28-72) idi. Yaş ortalamalarına göre iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$). Hasta grubu 11 kadın (%24,4), 34 erkek (%75,6) hastadan oluşmaktaydı (Tablo-8).

Altta yatan hastalıklar değerlendirildiğinde; hasta grubundaki 45 hastanın 32'sinde (%71,1) hematolojik malignite, 6'sında (%13,3) solid tümör (akciğer karsinomu), 1'inde (% 0,2) hem solid hem hematolojik malignite ve malign olmayan 6 (%13,3) hastada ise kollajen doku hastalığı mevcuttu. Konak risk faktörleri değerlendirildiğinde; 27 (%60) hastada 10 günün üzerinde nötropeni, 9 (%20) hastada 3 haftanın üzerinde kortikosteroid (KS) kullanımı, 4(%8,9) hastada ise T hücre baskılanması yapan ilaç kullanımı olduğu izlendi (Tablo-8). Kontrol grubunda bulunan hastalardan hiçbiri IPA açısından risk faktörü taşımamaktaydı.

Hasta grubunun Toraks BT ile elde edilen radyolojik görüntüleri değerlendirildiğinde; 29 (%64.4) hastada nodül±halo işareti, 14 (%31.1) hastada ise kavite saptandı. Hastalarımızın hiçbirinde hava-sıvı seviyesi bulgusuna (air-crescent sign) rastlanmadı. Altı (%10) hastanın Toraks BT bulguları IPA açısından özgün değildi (Tablo-8). Kontrol grubunda bulunan hastaların hiçbirinde IPA için özgün radyolojik bulgu izlenmedi.

Tablo-8: Hasta ve kontrol grubunun genel özellikleri

	Hasta grubu (n=45)	Kontrol grubu (n=22)	p değeri
Demografik özellikler			
Yaş (aralık)	47,0±13,0 (22-72)	50,9±12,4 (28-72)	
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	11/34	11/11	
Primer hastalıklar			
Hematolojik malinite(H)	32 (%71.1)	-	
Solid tümör(S)	6 (%13.3)	-	
H + S	1(% 0.2)	-	
Kollajen doku hst	6 (%13.3)	-	
İnterstisyel akciğer hst.		22 (%100)	
Konak risk faktörleri			
Nötropeni	27 (%60)	-	
Kortikosteroid kullanımı	9 (%20)	-	
T hücre baskılayıcı ilaçlar	4 (%8.9)	-	
Radyolojik bulgular			
<i>Özgün IPA radyoloji</i>			
Nodül±halo	29 (%64.4)	-	
Kavite	14 (%31.1)	-	
Hava-sıvı seviyesi	0	-	
<i>Özgün olmayan IPA radyolojisi</i>	6 (%13.3)	22 (%100)	
Mikolojik bulgular			
(Direkt testler)			
Mikroskopi (+)	9 (%20)	-	
Kültür (+)	12 (%27)	-	
<i>A fumigatus</i>	7 (%58)		
<i>A flavus</i>	3 (%25)		
<i>A niger</i>	1 (%8)		
<i>A terreus</i>	1 (%8)		
Mikolojik bulgular (İndirekt testler)			
Serum GM (+)	12 (% 26.6)	1 (% 4.5)	<i>p</i> <0.05
BAL GM (+)	26 (% 57.7)	2 (% 9)	<i>p</i> >0.05
Serum BG (+)	10 (% 22.2)	2 (% 9)	<i>p</i> <0.05
BAL BG (+)	23 (%51.1)	1 (% 4.5)	<i>p</i> <0.05

Tüm bu veriler ışığında başlangıç tanısı olarak EORTC/MSG kriterlerine göre hasta grubunun 17 tanesi YO-IPA, 22 tanesi DO-IPA ve 6 tanesi non-IPA olarak değerlendirildi. Hasta grubumuzda K-IPA olgusu bulunmamaktaydı. Kontrol grubundaki bütün hastalar ise beklendiği gibi non-IPA idi.

B- Mikolojik Bulgular

a) Direkt mikroskopi ile kültürün karşılaştırılması: Hasta grubunda bulunan 12 (%26) BAL örneğinde *Aspergillus* türlerine ait üremeler saptanırken, üreme olan örneklerin 9'u (%75) direkt mikroskopi ile de pozitif bulundu. Üremelerin %58 *A. fumigatus* (n=7), %25 *A. flavus* (n=3), %8 *A. niger* (n=1) ve %8 *A. terreus* (n=1) idi. (Tablo 8). Direkt mikroskopisi pozitif olan hastaların tamamında üreme oldu ve üreme ile ilgili soruna rastlanmadı. Kültürde üreme olan üç hastada ise direkt mikroskopi negatif olarak değerlendirildi. Kontrol grubundan alınan 22 BAL sıvısının hiçbirinde direkt mikroskopi ile küf hiflerine rastlanmadı ve yine hiçbirinde *Aspergillus* türlerine ait üreme olmadı.

b) İndirek bulgular: Tablo 8'de hasta grubu ve kontrol grubundan elde edilen serolojik testlerin pozitifliği görülmektedir. İki grup arasında serum BG hariç tüm parametrelerde pozitiflik açısından anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

C- Hasta Grubunda Üreme ile Serum ve BAL GM Karşılaştırılması

Tablo-9: Hasta grubunda üreme ile serum ve BAL GM karşılaştırılması

	üreme (+)	üreme (-)	
Serum GM (+)	7	5	BAL GM (+)
Serum GM (+)	0	0	BAL GM (-)
Serum GM (-)	5	9	BAL GM (+)
Serum GM (-)	0	19	BAL GM (-)

Tablo–9’da hasta grubundaki üremeler ile serum ve BAL GM ilişkisi görülmektedir. Buna göre üreme olmayan hastaların 19 tanesinde hem serum hem de BAL GM düzeyleri negatif kalmıştır. Bu 19 hastanın 14 tanesi DO–IPA iken 5 tanesi non–IPA olarak değerlendirilmiştir. Üreme olması nedeniyle YO–IPA olarak değerlendirilen 12 olgunun hepsinde (%100) BAL GM değerleri pozitif olarak bulunurken, serum GM değerleri sadece yedi hastada (%68.4) pozitif. Üreme ile hem serum hem de BAL GM değerleri pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0.05$).

Tablo–9’da görüldüğü gibi serum GM düzeyi pozitif olarak değerlendirilen 12 hastanın tümünde (%100) BAL GM düzeyi de pozitif bulunmuştur. Üremenin olmadığı ancak serum ve BAL GM düzeylerinin pozitif saptandığı beş olgunun hepsinde de konak faktörlerinin yanı sıra IPA için özgün radyolojik bulgular da vardı. Yeni yayınlanan IPA kriterleride dikkate alındığında bu çalışmada yüksek olasılıklı IPA tanısı konulan hasta sayısı böylece serolojik testlerin yardımıyla 12’den 17’ye çıkmış oldu (67) .

Dokuz olguda üreme ve serum GM düzeyleri negatif kalırken yalnız BAL GM düzeyleri pozitif bulunmuştur (Tablo–9). Bu 9 hastanın bir tanesi non–IPA, kalan 8 tanesi ise DO–IPA olarak değerlendirilmiştir.

D- Serum ve BAL GM Pozitifliğinin Duyarlılık, Özgüllük, Negatif ve Pozitif Tanı Değerleri

EORTC/MSG’nin 2008 yılında güncellediği İnvaziv Fungal İnfeksiyon Tanı Kriterleri dikkate alınıp sadece YO-IPA grubu (12 üreme olan ve 5 serum GM pozitif olan toplam 17 hasta) değerlendirildiğinde; BAL GM pozitifliğinin duyarlılığı ve negatif tanı değeri (NTD) %100, özgüllüğü ve pozitif tanı değeri (PTD) sırasıyla % 78 ve % 60.7 olarak bulundu (Tablo–10).

Yüksek olasılıklı IPA ve DO-IPA grupları (39 hasta) total olarak ele alınıp BAL GM değerlendirildiğinde, duyarlılık %64.1, özgüllük %89.3, PTD %89.3, NTD %64.1 olarak değişti (Tablo–10) .

Tablo–10: GM antijen testi serum ve BAL, duyarlılık, özgüllük, NTD, PTD

	Hasta grubu	Duyarlılık	Özgüllük	NTD	PTD
Serum GM	YO-IPA (n=17)	%70.6	%98	%90.7	%92.3
BAL GM	YO-IPA (n=17)	%100	%78	%100	%60.7
Serum GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%30.8	%96.4	%50	%92.3
BAL GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%64.1	%89.3	%64.1	%89.3

Tablo–10'daki hesaplama, yapılan ilk klinik ve radyolojik değerlendirme sonucu DO–IPA olduğu düşünülen 22 hasta dahil edilmiştir. Ancak bilindiği gibi DO–IPA tanısı şüphelidir ve başlangıçta DO–IPA olarak değerlendirilen hastaların klinik seyirleri takip edildiğinde farklı tanılarına ulaşılabilir. Tablo–11'de başlangıçta DO–IPA olarak düşünülüp, izlem sonucu farklı tanı alan hastaların özellikleri görülmektedir.

İzlem sırasında hastaların antifungal (AF) kullanımı, antifungalden sağladıkları yarar, bronkoskopi esnasında antifungal kullanıp kullanmadıkları, piperasillin tazobaktam gibi yalancı pozitiflik oluşturabilecek ilaç kullanımları takip edilmiştir. Sonuç olarak 14 hasta (%63.6) takipler sonucunda non–IPA grubuna sokulurken sekiz hasta (%36.4) IPA olarak kalmıştır. Bu 8 hastanın altı tanesinde (%75) hem serum hem de BAL GM değerleri negatif kalmış, iki tanesinde (%25) ise sadece BAL GM değeri pozitif olarak bulunmuştur. Her ikisinin negatif kaldığı altı hastanın üç tanesi (%50) bronkoskopi esnasında antifungal tedavi (8, 23 ve 26 gün) almaktayken, bir tanesi ise bronkoskopiden iki gün sonra eksitus olduğundan tam değerlendirilememiştir. Kalan iki hastada ise sonuçların negatif kalmasını açıklayacak herhangi bir veri elde edilememiştir. Son değerlendirmede non–IPA olarak kabul edilen 14 hastanın sekiz tanesinde her iki parametre de negatif kalmıştır. Altı tanesinde ise serum GM değerleri negatif kalmaya devam ederken, BAL GM değerleri pozitif olmuştur.

Tablo 11: Düşük olasılıklı IPA grubunun izlenmesi sonucu ulaşılan son tanılar

Hasta Dosya no	TANI	Serum GM	BAL GM	Serum BG	BAL BG	AF kullanımı	AF Yanıtı	Bronkoscopi öncesi AF	Pip-Tazo kullanımı	Ek bilgi
6	Non IPA	-	-	-	-	+	-	2 gün	-	Tüberküloz (Tb)
8	Non IPA	-	+	-	-	+	-	-	-	Mantar dışı enfeksiyon.
9	Non IPA	-	+	-	-	+	-	-	9 gün	CMV pnömonisi
10	IPA	-	-	-	-	+	+	-	-	
11	Non IPA	-	+	-	+	-	-	-	-	Akciğer kanseri
12	Non IPA	-	-	+	-	-	-	-	-	SLE-Lupus pnömonisi
13	Non IPA	-	-	-	+	+	-	-	-	Hogdkin Akciğer tutulumu
14	IPA	-	-	-	+	+	+	-	-	
17	IPA	-	-	-	-	+	+	23 gün	-	
19	Non IPA	-	+	-	+	+	-	-	-	Ankilozan spondilit. Fungus topu?
20	Non IPA	-	-	-	-	+	-	6 gün	-	Mantar dışı enfeksiyon eksitus(EX)
21	IPA	-	-	-	-	+	+	26 gün	-	
23	IPA	-	-	-	-	+	?	-	-	2 gün AF aldı, genel durumu kötü. EX
25	Non-IPA	-	+	+	-	+	-	-	16 gün	Mantar dışı enfeksiyon
29	IPA	-	-	-	-	+	-	8 gün	7 gün	BAL sonrası lezyonlar arttı. EX
30	Non-IPA	-	-	-	-	-	-	-	-	Akciğer Kanseri
32	Non-IPA	-	-	-	-	-	-	-	-	Oral candidiazis, Tb
33	Non-IPA	-	-	-	-	+	-	6 gün	-	Mantar dışı enfeksiyon
36	Non-IPA	-	-	+	-	+	+	-	6 gün	Hepatosplenik kandidoz
39	Non-IPA	-	+	-	+	-	-	-	-	Akciğer Kanseri
40	IPA	-	+	-	+	+	+	30 gün	7 gün	
41	IPA	-	+	-	+	+	+	3 gün	-	AF ile Toraks BT yanıtı

Olguların son değerlendirmelerine göre tekrar edilen duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD değerleri tablo–12'deki gibidir. Tablo–12'deki değerler tablo 10'daki değerlerle karşılaştırıldığında duyarlılığın, serum GM için %30.8'den %48'e BAL GM için %64.1'den %76'ya yükseldiği görülmüştür.

Tablo–12: GM antijen testinin son değerlendirme sonucu serum ve BAL'da duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD

	Hasta grubu	Duyarlılık	Özgüllük	NTD	PTD
Serum GM	YO-IPA (n=17)	%70.6	%98	%90.7	%92.3
BAL GM	YO-IPA (n=17)	%100	%78	%100	%60.7
Serum GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%48	%97.6	%75.9	%92.3
BAL GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%76	%78.6	%84.6	%67.8

E- Hasta Grubunda Üreme ile Serum ve BAL BG Karşılaştırılması

Tablo–13'de hasta grubundaki üremeler ile serum ve BAL BG ilişkisi görülmektedir. Buna göre üreme olmayan hastaların 17 tanesinde hem serum hem de BAL BG düzeyleri negatif kalmıştır. Bu 17 hastanın bir tanesi YO-IPA, 12 tanesi DO-IPA ve dört tanesi non-IPA olarak değerlendirilmiştir. YO-IPA olarak değerlendirilen hastada üreme olmamakla beraber serum ve BAL GM değerleri pozitif bulunmuştur.

	Üreme (+)	Üreme (-)	
Serum BG (+)	4	2	BAL BG (+)
Serum BG (+)	1	3	BAL BG (-)
Serum BG (-)	6	11	BAL BG (+)
Serum BG (-)	1	17	BAL BG (-)

Tablo 13: Hasta grubunda üreme ile serum ve BAL BG karşılaştırılması

Üreme olması nedeniyle YO-IPA olarak değerlendirilen 12 olgunun 10 tanesinde (%83.3) BAL BG değerleri pozitif olarak bulunurken, serum BG

pozitifliği sadece beş hastada (%41.6) görüldü. Bu değerler BAL ve serum GM pozitifliğinden (sirasıyla 12 ve yedi hasta) biraz daha düşük olarak bulundu ve GM pozitifliğinden farklı olarak sadece BAL'da BG pozitifliği ile üreme arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0.05$); serum BG pozitifliği ile üreme arasında anlamlı ilişki yoktu. *A flavus* üreyen bir hastada hem serumda, hem de BAL'da BG değerleri negatif kaldı.

Üreme olmayıp hem serum hem de BAL BG düzeyleri pozitif izlenen iki olgu bulundu. Bunlardan bir tanesinde GM serum ve BAL değerleri de pozitif olup, hasta zaten YO-IPA olarak değerlendirilmişti. Ancak diğer hasta, görüntüleme bulguları özgün olmadığı ve GM değerleri negatif saptandığı için non-IPA grubuna dahil edilmişti. Bu hastadaki BG pozitiflikleri takip sırasında kesinleşen kandidoza bağlandı.

Serum BG düzeyi pozitif olan toplam dört olguda BAL BG düzeyi negatif bulundu (Tablo-13). Bu bulgu GM testinde saptanmamıştı. Bu olgulardan üçü DO-IPA iken, bir tanesi üreme ve serum ve BAL GM pozitifliği ile YO-IPA idi.

Toplam 11 hastada üreme ve serum BG negatif saptanırken, sadece BAL BG pozitif izlendi (Tablo-13). Bu hastalardan bir tanesi non-IPA, sekiz tanesi DO-IPA ve iki tanesi YO-IPA olarak değerlendirildi.

F- Serum ve BAL BG Pozitifliğinin Duyarlılık, Özgüllük, NTD ve PTD Değerleri

Sadece YO-IPA grubu (12 üreme olan ve beş kan GM pozitif olan toplam 17 hasta) değerlendirildiğinde; BAL BG pozitifliğinin duyarlılığı ve negatif tanı değerleri sırasıyla %82.3 ve %93, özgüllüğü ve pozitif tanı değerleri sırasıyla % 80 ve % 58.3 olarak bulundu (Tablo-14). Bu değerler BAL GM pozitifliği için bulunan duyarlılık ve özgüllükten biraz daha düşüktü.

Yüksek ve düşük olasılıklı IPA grupları (39 hasta) total olarak ele alınıp BAL BG değerlendirildiğinde ise, duyarlılık %53.8, özgüllük %89.3, PTD %87.5, NTD %58.1 olarak değişti. (Tablo-14)

Tablo 14: BG testinin serum ve BAL'da duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD

	Hasta grubu	Duyarlılık	Özgüllük	NTD	PTD
Serum BG	YO-IPA (n=17)	%35.3	%88	%80	%50
BAL BG	YO-IPA (n=17)	%82.3	%80	%93	%58.3
Serum BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%23.1	%89.3	%45.4	%75
BAL BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%53.8	%89.3	%58.1	%87.5

Tablo 14'deki hesaplama, yapılan ilk klinik ve radyolojik değerlendirme sonucu DO-IPA olduğu düşünülen 22 hasta dahil edilmiştir. Galaktomannan testi için de bahsedildiği gibi DO-IPA grubu izlem esnasında farklı tanılara dönebilmektedir. Tablo-11'de gösterilen son tanılara göre değerlendirme tekrar yapıldığında BG pozitifliği için duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD değerleri tablo 15'deki gibidir. Tablo 15'deki değerler tablo 14'deki değerlerle karşılaştırıldığında özgüllük ve PTD'in biraz düşmekle beraber, duyarlılık ve NTD'de yükselme olduğu görülmüştür.

Tablo 15: BG pozitifliğinin son değerlendirme sonucu serum ve BAL'da duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD

	Hasta grubu	Duyarlılık	Özgüllük	NTD	PTD
Serum BG	YO-IPA (n=17)	%35.3	%88	%80	%50
BAL BG	YO-IPA (n=17)	%82.3	%80	%93	%58.3
Serum BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%24	%85.7	%65.4	%50
BAL BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%68	%83.3	%81.4	%70.8

Tablo-16 ve tablo-17'de ilk ve son değerlendirmeler için her iki testin duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD değerleri toplam olarak görülmektedir.

Tablo–16: YO-IPA ve/veya DO-IPA gruplarında serum ve BAL serolojisinin duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD karşılaştırılması

	Hasta grubu	Duyarlılık	Özgüllük	NTD	PTD
Serum GM	YO-IPA (n=17)	%70.6	%98	%90.7	%92.3
Serum BG	YO-IPA (n=17)	%35.3	%88	%80	%50
BAL GM	YO-IPA (n=17)	%100	%78	%100	%60.7
BAL BG	YO-IPA (n=17)	%82.3	%80	%93	%58.3
Serum GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%30.8	%96.4	%50	%92.3
Serum BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%23.1	%89.3	%45.4	%75
BAL GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%64.1	%89.3	%64.1	%89.3
BAL BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%53.8	%89.3	%58.1	%87.5

Tablo–17: Son değerlendirme sonunda YO-IPA ve/veya DO-IPA gruplarında serum ve BAL serolojisinin duyarlılık, özgüllük, NTD ve PTD karşılaştırılması

	Hasta grubu	Duyarlılık	Özgüllük	NTD	PTD
Serum GM	YO-IPA (n=17)	%70.6	%98	%90.7	%92.3
Serum BG	YO-IPA (n=17)	%35.3	%88	%80	%50
BAL GM	YO-IPA (n=17)	%100	%78	%100	%60.7
BAL BG	YO-IPA (n=17)	%82.3	%80	%93	%58.3
Serum GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%48	%97.6	%75.9	%92.3
Serum BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%24	%85.7	%65.4	%50
BAL GM	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%76	%78.6	%84.6	%67.8
BAL BG	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%68	%83.3	%81.4	%70.8

G- Serum ile BAL GM ve BG Sonuçlarının Ortak Değerlendirilmesi

Tablo-18'de, her iki testin üreme ile karşılaştırmalı olarak beraber değerlendirilmesi görülmektedir. Tüm parametrelerin negatif kaldığı 14 (%31.1) hastanın hiçbirinde üreme olmadı. Bu 14 olgunun dört tanesi zaten non-IPA tanısı almıştı. Kalan 10 olgu DO-IPA olarak değerlendirilmiş, ancak izlem sonucu bunların beş tanesinde farklı hastalıklar bulunmuştur. DO-IPA olarak kalan beş hastanın üç tanesinde ise bronkoskopi öncesi (8, 23, 26 gün) antifungal kullanımı bulunmaktaydı. Bir hastada, bronkoskopiden sonra ikinci günde eksitus olduğundan tam sonuca varılamamış, son hastada ise tüm parametreler negatif kalmakla beraber IPA olarak düşünülüp, uygulanan antifungal tedaviye yanıt alınmıştır.

Dört parametreden yalnızca bir tanesinin pozitif olduğu altı olgu bulunmaktadır (Tablo-18). Başlangıçta bu altı olgunun tamamı DO-IPA olarak düşünülmeyle beraber, hastaların takipleri sonucu beş tanesinin (%83.3) IPA olmadığı anlaşılmıştır.

Serum ve BAL BG değerleri pozitif iken GM değerleri negatif kalan bir olgu olmuştur (Tablo-18). Bu olguda herhangi bir *Aspergillus* türü ürememiş ve daha sonra olgunun kandidoz olduğu saptanmıştır. Tam tersi serum ve BAL GM değerleri pozitif iken BG değerleri negatif kalan iki olgu bulunmaktadır. Bunların her ikisi de YO-IPA olarak değerlendirilmiştir. Bir tanesinde ayrıca *Aspergillus flavus* üremesi de olmuştur.

Tablo-18'de görüldüğü gibi BG'da serum, GM'da BAL pozitifliği olan uyumsuz bir serolojik profile sahip DO-IPA tanısı alan bir olgu çıktı. Ancak takip sonrası bu olgunun da IPA olmadığı anlaşıldı

Galaktomannan ve BG düzeylerinin serumda negatif kaldığı ve yalnız BAL'da pozitif bulunduğu 10 olgu saptanmıştır (Tablo-18). Bu 10 olgunun dört tanesinde (%40) üreme olmuş, YO-IPA olarak değerlendirilmiş ve olgular antifungal tedaviden yarar sağlamıştır. Ancak kalan altı olgunun sadece iki tanesi (%20) takip sonunda da DO-IPA olarak kabul edilmiş, diğer dört olguda (%40) ise non-IPA sonucuna varılmıştır.

Dört parametreden üç tanesinin pozitif olduğu yedi olgu bulunmaktadır (Tablo 18). Bu olguların dört tanesinde (%57.1) üreme de bulunmakta olup, YO-IPA'dır. Üreme olmayan üç olgu da serum GM düzeyleri pozitif olduğundan YO-IPA'dır.

Bütün parametrelerin pozitif olduğu dört olgu bulunmaktadır. Bunun üç tanesinde de üreme vardır (Tablo–18)

Tablo 18: Üreme ile her iki testin beraber değerlendirilmesi

	Kan GM (+) BAL GM (+)	Kan GM (+) BAL GM (-)	Kan GM (-) BAL GM (+)	Kan GM (-) BAL GM (-)	Toplam
Kan BG (+) BAL BG (+)	4 (3)*	-	1 (1)*	1	6
Kan BG (+) BAL BG (-)	1 (1)*	-	1	2	4
Kan BG (-) BAL BG (+)	5 (2)*	-	10 (4)*	2	17
Kan BG (-) BAL BG (-)	2 (1)*	-	2	14	18
Toplam	12	-	14	19	45

* üreme olanlar

Tablo–18'den anlaşıldığı üzere kullanılan parametrelerdeki pozitiflikler arttıkça IPA olma olasılığı da artmaktadır. Bu düşünce ile üç ve daha fazla, iki ve bir ve daha az pozitiflik olan olguların IPA dağılımına bakılmış ve tablo 19'da özetlenmiştir.

Tablo 19: Son değerlendirmeye göre ayrılan IPA gruplarında serolojik parametrelerin durumu

	≥ 3 pozitif parametre	2 pozitif parametre	≤ 1 pozitif parametre
YO-IPA (17)	11 olgu	6 olgu	-
DO-IPA (8)	-	2	6
Non-IPA (42)*	-	8	34

* 20 olgu hasta grubundan, 22 olgu kontrol grubundan

Serolojik parametrelerde ≥ 3 pozitiflik olan 11 olgunun tamamı YO-IPA'dır. Serolojik parametrelerde ≤ 1 pozitiflik olan olguların sadece altı (%15) tanesi DO-IPA olarak değerlendirilmiştir. İki parametrenin pozitif olduğu durumda olguların %50'si non-IPA iken %50 ihtimalle DO-IPA veya YO-IPA ihtimali vardır. İki pozitif parametrenin olduğu grup değerlendirilmesi en zor olan gruptur.

H- BAL GM ve BG için Roc Analizi ile Kesim Noktası Belirlenmesi

Her ne kadar bu çalışmada BAL örnekleri için de serum örneklerinde kullanılan kesim noktası değerleri kullanılsa da gerçekte BAL örneklerinin kesim noktası değerleri kesin olarak bilinmemektedir. Bu nedenle BAL örneklerine roc analizi uygulanmış ve roc analizi sonucu elde edilen bulgular tablo 20'de özetlenmiştir.

Tablo 20: YO-IPA ve DO-IPA gruplarına göre roc analizi

		BALBG	BALGM
YO-IPA (n=17 olgu)	Kesim noktası	>54,26	>1,17
	Duyarlılık	88,2	76,5
	Özgüllük	80	92
	AUC ^a	0,844	0,961
	p	p<0,001	p<0,001
YO-IPA ve Do-IPA (n=39 olgu) ^b	Kesim noktası	>40,91	>0,59
	Duyarlılık	61,5	64,1
	Özgüllük	85,7	89,3
	AUC	0,808	0,77
	p	p<0,001	p<0,001
YO-IPA ve Do-IPA (n=25) ^c	Kesim noktası	>54,26	>1,17
	Duyarlılık	72	60
	Özgüllük	83,3	95,2
	AUC	0,775	0,808
	p	p<0,001	p<0,001

^a AUC(Area Under Curve): Eğri Altında Kalan Alan;

^b DO-IPA için ilk değerlendirme

^c DO-IPA için son değerlendirme

Galaktomannan için en iyi eğri altında kalan alan(AUC), duyarlılık ve özgüllük verisi yalnız YO-IPA grubu ile alınmıştır ve buna göre kesim noktası ≥ 1.2 olarak bulunmuştur. Glukan için yapılan roc analizi ise, tüm olguların verilerinin ortalaması çok düşük olduğundan gerçekte uyumlu bulunamamış ve 80pg/ml pozitif değeri kullanılmaya devam edilmiştir.

Yeni tespit edilen kesim noktası değerine göre BAL GM duyarlılığı, özgüllüğü, NTD ve PTD değerleri eski kesim noktası ile karşılaştırmalı olarak tablo 21’de görülmektedir. Yalnız YO-IPA’ya bakıldığında yeni kesim noktası ile oldukça iyi özgüllük elde edilirken, duyarlılıkta çok fazla düşme izlenmemektedir. Son değerlendirme ile incelenen 25 kişilik IPA grubundaki sonuçlar da kesim noktası $\geq 0,5$ ile alınandan daha iyi bulunmuştur.

Tablo 21: Kesim noktası 0,5 ve 1.2’nin BAL için karşılaştırılması

	Kesim noktası	Hasta grubu	Duyarlılık	Özgüllük	NTD	PTD
BAL GM	$\geq 0,5$	YO-IPA (n=17)	%100	%78	%100	%60.7
BAL GM	≥ 1.2	YO-IPA (n=17)	%94.1	%90	%97.8	%76.2
BAL GM	$\geq 0,5$	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%64.1	%89.3	%64.1	%89.3
BAL GM	≥ 1.2	YO-IPA+ DO-IPA (n=39)	%47.4	%92.9	%56.5	%90
BAL GM	$\geq 0,5$	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%76	%78.6	%84.6	%67.8
BAL GM	≥ 1.2	YO-IPA+ DO-IPA (n=25)	%72	%92.9	%84.8	%85.7

TARTIŞMA VE SONUÇ

Antemortem tanısı hala büyük sorun oluşturan ve immunsüprese hastalarda %50'lik olgu-ölüm hızına sahip olan IPA giderek önem kazanmaktadır (110). Günümüzde tanıda histopatolojik inceleme için doku örneklerinin alınması altın standart olmasına rağmen hastalarda genel durum bozukluğu ve derin sitopeniler nedeniyle çoğu zaman mümkün olamamaktadır. Bunun yanında tanı amaçlı yapılan bilgisayarlı tomografinin ile balgam, BAL gibi alt solunum yolu örneklerinin özgüllük ve duyarlılıkları da yeterli değildir. Hastalığın erken döneminde ortaya çıkan ve IPA açısından çok önemli olan halo belirtisi sadece aspergilloz için özgül olmayıp diğer mantar enfeksiyonlarında ve pulmoner hemoraji gibi olgularda da olabilir. Yine çok önemli bir belirti olan hava-sıvı bulgusu ise hastalığın çok geç döneminde ortaya çıkmaktadır (1, 22, 55). Ayrıca balgam ve BAL gibi alt solunum yolu örneklerinin duyarlılığı yüksek riskli hastalarda bile %50'nin üzerine çıkamamaktadır (68). Bu çalışmada da hastaların ancak %12'sinin BAL örneğinde üreme saptanmış ve literatürle de uyumlu olarak en fazla *A fumigatus* üremesi olmuştur (26).

Kesin tanıya ulaşmadaki güçlük nedeniyle hastanın hayatını tehlikeye atmamak amacıyla olguların büyük bir kısmına ampirik antifungal tedavi başlanmaktadır. Ancak antifungal tedavi oldukça pahalı ve toksik olup, gerçekte olguların çoğunda gereksizdir. Bu nedenle son yıllarda yüksek riskli hastalarda IPA tanısını destekleyecek yeni yöntemler gündeme gelmiştir. Bu yöntemlerden, *Aspergillus* hücre duvarında bulunan GM ve BG moleküllerinin serumda aranması en popüler olanlarıdır (2). Ancak serum dışındaki diğer örneklerin kullanılabilirliği ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır. İnvaziv pulmoner aspergilloz açısından serum dışındaki örnekler arasında en ilgi çekeni doğal olarak BAL sıvısıdır. BAL sıvısında GM antijeninin aranması ve IPA tanısına katkısı ile ilgili bazı çalışmalar olsa da, BG antijeninin değerini araştıran çalışma hemen hemen hiç yoktur. Bugüne kadar BAL'da BG aranması ile ilgili iki deneysel hayvan çalışması dışında bir literatüre rastlanılmamıştır (111,112). Bu prospektif çalışmada da IPA açısından yüksek (hasta grubu)

ve düşük (kontrol grubu) riskli hastaların serum ve BAL sıvılarında saptanan GM ve BG değerlerinin tanıya desteği, konuya katkı sağlaması açısından araştırılmıştır.

Çalışmada hasta grubu ve kontrol grubundan elde edilen serolojik testlerin pozitifliği karşılaştırıldığında iki grup arasında serum BG değerleri dışında tüm parametrelerde pozitiflik açısından anlamlı fark izlendi (Tablo-8). Hasta grubunda serum BG pozitif hasta sayısı 10 iken serum GM pozitif hasta sayısı 12 olarak biraz daha yüksek; kontrol grubunda ise serum BG pozitif hasta sayısı 2 iken serum GM pozitif hasta sayısı 1 olarak biraz daha düşük bulundu. Aslında arada çok büyük bir fark olmamasına rağmen olasılıkla çalışma gruplarının sayısının az olması nedeniyle böyle bir sonuç çıktı. Ancak BAL sıvılarında pozitiflik her iki parametre için de anlamlı olarak hasta grubunda yüksek olması, büyük moleküller olan GM ve BG'nin serumdan daha hızlı uzaklaştırıldığını gösteren bir bulgu oldu.

Bu çalışmada, doku örnekleri alınmadığından kanıtlanmış IPA olgusu saptanmamıştır. Ancak 17 hasta EORTC/MSG kriterlerine göre YO-IPA tanısı almıştır. Hasta grubunda olup serum GM'nı pozitif bulunan ve/veya BAL sıvısında üreme olan tüm olgular YO-IPA grubuna sokulmuştur ve bu hastaların tamamında BAL GM değerleri pozitif bulunmuştur. Böylece BAL GM için YO-IPA'da %100 duyarlılık tespit edilmiştir. Literatüre bakıldığı zaman kanıtlanmış ve YO-IPA olgularında BAL GM duyarlılığının %60-100 arasında değiştiği görülmektedir (113, 114). Duyarlılıktaki bu farklılığın en önemli nedeni BAL sıvısı için GM testinin kesim noktası değerinin henüz standart hale getirilmemiş olması ve çalışmalarda 0.17-1.5 arası farklı kesim noktası değerlerinin kullanılmasıdır. Doğal olarak kesim noktası düşürüldükçe duyarlılık artacak ancak özgüllükler düşecektir. Bu çalışmada esas olarak, serum GM'nı için kabul edilen 0.5 kesim noktası kullanılmıştır. Ancak daha sonra yapılan roc analizinde BAL GM için kesim noktası 1.2 bulunmuştur. Yeni elde edilen kesim noktası ile değerlendirme tekrar yapıldığında duyarlılık bir miktar düşse de (%100'den %94.1'e) özgüllüğün ve PTD'nin belirgin olarak artması (Tablo-21) BAL sıvılarında kesim noktası değerinin biraz daha yüksek olmasının daha doğru olacağını gösterir. Zaten benzer

bulgular diğer bazı çalışmalarda da gösterilmiş ve BAL GM için kesim noktası 1 değeri önerilmiştir(114, 115).

Bu çalışmada serum GM antijeni pozitif bulunan bütün olgularda BAL GM'nı da pozitif olarak bulunmuştur. Bilindiği gibi, IPA açısından yüksek riskli hastalarda, serumda GM antijeninin seri olarak haftada en az iki kez aranması önerilmektedir (73). Bu çalışmada görüldüğü gibi serumda pozitiflik olduğunda BAL'da da pozitiflik olacağı varsayılırsa; seri taramalarda serum GM antijeni saptanan hastalara, *Aspergillus* türlerinin üretilmesi hedeflenmiyorsa invaziv bir işlem olan bronkoskopinin yapılmasına gerek yoktur sonucu çıkarılabilir. Ancak bu çalışmada YO-IPA tanısı alan hastalarda GM antijen testinin duyarlılığı BAL sıvısında %100 iken serum da %70.6 olarak bulunmuştur. Yani serumda antijen taraması bazı hastaları gözden kaçırmıştır. Dolayısıyla IPA açısından riskli olan ve konak faktörleri ve klinik bulguları olan hastalarda serum GM antijeni negatif olduğunda BAL yapılmasının anlamlılığı daha fazladır.

IPA açısından yüksek riskli hastalara, klinik ve görüntüleme bulguları mikrobiyolojik veriler ile desteklenmiyorsa EORTC/MSG kriterlerine göre DO-IPA tanısı konmaktadır ve bu çalışmada da hasta grubundan 22 kişi DO-IPA tanısı almıştır. Bu hastalarda hiçbir mikrobiyolojik destek olmadığı için IPA tanısı şüphelidir. Zaten DO-IPA grubu değerlendirmeye sokulduğu zaman testlerin duyarlılık ve negatif tanı değerleri düşmektedir. Bu çalışmada da bu bulgu saptanmış ve özellikle serum GM antijen testinin duyarlılığı belirgin olarak (%71'den %31'e) düşmüştür (Tablo-10). Düşük olasılıklı IPA tanısı alan hastalar iyi takip edilmesi gereken hastalardır. Özellikle antifungal tedaviye yanıtları iyi irdelenmeli ve kesin tanıya ulaşabilmek için de yapılması gereken bütün işlemler yapılmalıdır. Çalışmamızda bu grupta bulunan 22 hastanın sekiz tanesinde BAL GM antijeni pozitif ($\geq 0,5$) olarak bulunmuştur. Ancak bu sekiz hastadan sadece iki tanesinde takipleri sırasında DO-IPA tanısını devam etmiş, altı tanesinde ise tanı değişmiştir. Dolayısıyla BAL GM pozitifliği yalancı olarak değerlendirilmiştir. Zaten kontrol grubunda da literatür ile uyumlu olarak %9 oranında yalancı pozitiflik bulunmuştur (68). Bununla beraber ROC analizinde de gösterildiği gibi BAL GM antijeni için

kesim noktasının 1'e yükseltilmesi bu çalışmada da görüldüğü gibi duyarlılıkta anlamlı değişiklik yapmadan yalancı pozitiflikleri azaltacaktır (Tablo-16). Benzer çalışmalarda da BAL GM için 1 kesim değeri için eğilimler fazladır (114, 115). DO-IPA tanısı alan 22 olgudan 14 tanesinde ise BAL GM antijeni negatif bulunmuştur. Antijen testi negatif olan bu olguların sekiz tanesinin takiplerine IPA olmadığı anlaşılmış ve negatiflikler gerçek negatiflik olarak değerlendirilmiştir. Altı hastada ise yalancı negatiflik söz konusudur. Ancak altı hastanın üç tanesi bronkoskopi esnasında antifungal kullanan hastalar (8, 23 ve 26 gün) olduğu için yalancı negatifliğin nedeni antifungal tedaviye bağlanmıştır. Antifungal tedavinin GM antijen testinin duyarlılığını düşürdüğü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (68). Altı hastadan bir tanesi de bronkoskopinin hemen ardından iki gün içinde kaybedildiğinden takibi yapılamamış ve negatiflik tam yorumlanamamıştır. Kalan iki hastada ise yalancı negatifliği açıklayan bir bulgu saptanamamıştır. Dolayısıyla özellikle DO-IPA hastalarında BAL sıvıda GM antijeninin aranması tanıyı desteklemektedir. Antifungal kullanımı yoksa negatif sonuçlar hastalığı büyük ölçüde ekarte ettirecek olmakla beraber %8-10 gibi yalancı pozitif sonuçlar hiçbir zaman unutulmamalıdır.

β -D-glukan, *Aspergillus* türleri de dahil olmak üzere birçok mantarın hücre duvarında bulunan diğer bir moleküldür. Bu nedenle son yıllarda invaziv mantar enfeksiyonlarının (IFI) tanısında serumda aranmasının yararı üzerinde birçok çalışma yapılmış ve ticari olarak piyasaya çıkan fungitell kiti 2004 yılında IFI tanısında serumda BG aranmasında kullanılmak üzere FDA tarafından onay almıştır (116, 117). Ancak sadece aspergilloza özgü olmadığından panfungal bir test olarak değerlendirilmektedir. β -D-glukan testinin diğer vücut sıvılarındaki yararlılığı konusunda GM ile kıyaslandığında çok daha az sayıda çalışma bulunmakta ve yukarıda da bahsedildiği gibi BAL'daki kullanımı iki deneysel çalışma dışında bilinmemektedir (111, 112).

Bu çalışmada YO-IPA tanısı yapılırken BG testinden yararlanılmamış ve hem serum hem de BAL BG taramasının duyarlılık ve özgüllüğü değerlendirilmiştir. Ancak tablolarında da (Tablo 14-17) görüldüğü gibi hem YO-IPA hem de DO-IPA olgularında, hem serum hem de BAL için duyarlılık,

özgüllük, PTD ve NTD tüm hesaplamalarda GM testinden daha düşük bulunmuştur. β -D-glukan testi FDA tarafından onay almış bir test olsa da, GM testi ile kıyaslandığında kromojenik ve kinetik bir test olduğundan uygulaması daha zordur. β -D-glukan'ın doğada yaygın olması kontaminasyonları arttırmakta ve yalancı pozitifliklere yol açmaktadır (68, 118). Testin enzim-kromojenik yapıda olması ise stabilitesinin çabuk bozulmasına ve yalancı negatif sonuçların oluşmasına yol açmaktadır (68). Bu çalışmada iki YO-IPA olgusunda yalancı negatiflik olmuştur. Bunlardan bir tanesinde hem serum hem BAL GM pozitifliği var iken BG testi serumda da BAL'da da negatif kalmıştır. Bir diğer hastada ise GM pozitifliği yanı sıra üreme de olmasına rağmen BG testi hem serum hem de BAL'da negatif bulunmuştur.

Tüm bu bahsedilen olumsuzluklara rağmen BG testinin panfungal bir test olduğu unutulmamalıdır. Nitekim GM testinin serum ve BAL'de negatif kaldığı ve IPA açısından özgün olmayan görüntüleme bulguları nedeniyle non-IPA olarak değerlendirilen ve BG testi hem serum hem de BAL sıvısında pozitif bulunan bir olgunun daha sonra kandidoz olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla IPA'lar tanısı zor olan hastalıklar olduğu için kullanılabilir bütünü testlerin hasta bazında yararı vardır. Özellikle hastaların tek bir test ile değil, birden fazla test ile takip edilmesi, birinin kaçırdığını diğerinin yakalaması açısından önemlidir. Literatürde bu iki test dışında mantar nükleik asitlerinin aranmasına yönelik tanı amaçlı testler bu testler ile beraber kullanılmaktadır (113).

Tanıda birden fazla testin kullanılmasının daha yararlı olduğu düşünüldüğünden bu çalışmada iki testin ortak değerlendirilmesi de yapılmıştır. Her iki test üreme ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde tüm parametrelerin negatif kaldığı 14 hastanın hiçbirinde üreme olmamıştır (tablo-18). Bu olguların dört tanesi non-IPA tanısı almıştır. Kalan olgular DO-IPA olarak değerlendirilmiş, ancak izlem sonucu dört olgunun da gerçekte non-IPA olduğu anlaşılmıştır. Tanıları izlem sonunda da DO-IPA olarak devam eden 6 olgunun 3 tanesinde bronkoskopi öncesi (8, 23, 26 gün) antifungal kullanımı bulunmaktaydı. Bu hastalarda seroloji negatifliğini işlem öncesinde uzun süre kullanılan antifungal tedavi varlığına bağlayabiliriz.

İşlem öncesinde kullanılan antifungaller mantar yükünü azaltacağı için serolojik testlerin etkinliğini de düşürecektir (68, 114, 115). Galaktomannan için bu bulgu çeşitli çalışmalarda belirtilmiş olmasına rağmen henüz BG ile yapılan çalışma yoktur (68). Bir hastada, bronkoskopiden sonra ikinci günde eksitus olduğundan tam sonuca varılamamış, son hastada ise tüm parametreler negatif kalmakla beraber IPA olarak düşünülüp, uygulanan ampirik antifungal tedaviye yanıt alınmıştır. Son hasta testler için yalancı negatiflik olarak değerlendirilmiştir.

Dört parametreden yalnızca bir tanesinin pozitif olduğu olguların tamamı başlangıçta DO-IPA olarak düşünülmeyle beraber, izlem sonucu %83.3'ünün IPA olmadığı anlaşılmıştır (Tablo-18). Bu sonuçla tek parametredeki pozitifliklerin yalancı pozitiflik olarak değerlendirilebileceği ve güvenilir olmadığı sonucuna varılabilir. Bu yalancı pozitiflikler kontaminasyonu düşündürmektedir. Altı pozitifliğin dört tanesi BG, iki tanesi GM'a aittir (Tablo-18). β -D-glukan'ın doğada daha yaygın bulunması ve test aşamasında daha fazla kontaminasyona yol açması hipotezi ile de bu bulgu desteklenmektedir (68,118)

Uyumsuz serolojik profile sahip yani; serumda BG, BAL'da GM pozitifliği olan DO-IPA tanısı alan bir olgu saptandı. Ancak takipler sonrası bu olgunun da IPA olmadığı anlaşıldı ve pozitifliklerin kontaminasyondan kaynaklandığı düşünüldü. Serum ve BAL'da farklı testlerden birer pozitiflik saptanması durumunda karşılaştığımız uyumsuz profillerin tanı değeri oldukça düşüktür. Bu sonuçlar testlerde kontaminasyona bağlanmaktadır.

Galaktomannan ve BG düzeylerinin serumda negatif kaldığı ve yalnız BAL'da pozitif bulunduğu olguların %40'ında üreme olmuş, YO-IPA olarak değerlendirilmiştir. Takip sonrası antifungal tedaviden yarar sağladıkları izlenmiştir. Bu olgularda BAL verileri serumdan daha değerli bulunmuştur. Literatür bilgisine bakıldığı zaman en iyi koşullarda bile BAL'da üreme %50'ler civarındadır (119). Dolayısıyla, eğer hastalar bu pozitiflikler doğrultusunda uygun tedaviyi almış ve tedaviden yarar sağlamışlarsa, -ki bizim vakalarımız sağladı- bu yanıt bronkoskopiye zorlamayı gerektirir ve sonuç olarak pozitiflikler elde edilebilir. Kalan sadece %20 olgu takip

sonunda da DO–IPA olarak kabul edilmiş, diğer %40 ise IPA olmayıp veriler yalancı pozitiflik olarak değerlendirilmiştir. Dört serolojik parametreden sadece ikisinin BAL'da pozitif saptandığı olgularda tanıya seroloji ile yaklaşmak oldukça güçtür. Gerçek pozitiflikleri yansıttığı gibi yalancı pozitifliklerle de karşımıza çıkabilmektedir. Özellikle BAL'da izlenen yalancı pozitifliklerin steril bir işlem olan bronkoalveloler lavajın özellikle immünsüprese hastalarda oral florada kolonize olan kandida nedeniyle kontaminasyonla uyumlu olduğunu düşündürebilir (120). Ayrıca BAL için kesim noktası çok önemli olup, kesim noktasının 1'e çekilmesi yalancı pozitifliği azaltacaktır.

Dört parametreden üç tanesinin pozitif olduğu olguların %57.1'inde üreme de bulunmakta olup, YO–IPA'dır. Üreme olmayan diğer olgularda da serum GM düzeyleri pozitif olduğundan YO–IPA'dır. Dört parametreden üçünün pozitifliği YO–IPA tanısını kuvvetlendirmektedir.

Bütün serolojik testlerin pozitif saptandığı dört olgudan üçünde (%75) üremenin de olması, serolojik testlerin YO–IPA tanısındaki değerini arttırmaktadır.

Tüm seroloji sonuçları özetlenecek olursa YO-IPA tanısı almış 17 olgunun 11 tanesinde (%64,8) üç veya dört parametre pozitif olarak bulunmuştur (Tablo–19). Kullanılan parametrelerdeki pozitiflikler arttıkça IPA olma olasılığı da artmaktadır. Dolayısıyla, elde edilen üremeler veya bu pozitiflikler doğrultusunda tedavi uygulanıp yarar sağlanıyorsa, bronkoskopi uygun hastalarda mutlaka zorlanmalı, bu üreme ve seroloji pozitifliklerine ulaşılmalıdır. Parametrelerin hepsinin negatif veya bir tanesinin pozitif olduğu 40 olgunun takip sonucunda sadece altı tanesinde (%15) DO–IPA tanısı devam etmiş diğerlerinin (%85) non–IPA olduğu anlaşılmıştır. Görüldüğü gibi serolojide bir ve birin altında pozitiflik olması IPA tanısından uzaklaştırmaktadır. Non–IPA tanısına varılan hastalarda gereksiz antifungal tedaviden kaçınılması böylece hem hasta için doğuracağı toksik etkilerden hem de getireceği ek ekonomik maliyetten uzaklaşmış olacaktır. Parametrelerin hepsinin negatif veya bir tanesinin pozitif olduğu altı hastanın üç tanesinde bronkoskopi öncesi antifungal kullanımı mevcuttur. İşlem

öncesinde kullanılan antifungaller mantar yükünü azaltacağı için serolojik testlerin etkinliğini de düşürecektir (68, 114, 115, 121). Kalan üç hastadan bir tanesi ise erken dönemde eksitus olduğundan takip edilememiştir. Diğer iki hastada testlerin negatif kalmasını açıklayan bir veri bulunamadığından yalancı negatiflik olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmadaki en karmaşık veriler iki parametre pozitif gelen olgularda olmuştur. Tablo-19'da görüldüğü gibi iki pozitif sonuç geldiğinde %50 ihtimal ile IPA olma durumu söz konusudur. Bu kategorideki YO-IPA olarak düşünülen 6 olgunun beş tanesinde üreme vardır. Üreme olan beş olgunun 4 tanesinde yalnız BAL GM ve BG testleri pozitifleşmiştir. Serumlar negatif kalmıştır. Bu da BAL'ın tanıdaki değerini göstermektedir. YO-IPA olarak değerlendirilen 6 olgudan 2 tanesinde pozitif olan iki parametre serum ve BAL GM'a aittir. Dolayısıyla bu iki olguya dayanarak da GM testinin duyarlılığının BG testine göre daha iyi olduğu sonucuna varılabilir.

Bu çalışmada her ne kadar serum örneklerinde kullanılan kesim noktası değerleri BAL örnekleri için de kullanılsa da gerçekte BAL örneklerinin kesim noktası değerleri net olarak bilinmemektedir. Bu nedenle üç hasta grubuna ait BAL örneklerine roc analizi uygulanmıştır. İlk grup YO-IPA olarak sınıflandırılan olgular, II. Grup, YO-IPA ve ilk değerlendirmelere göre DO-IPA tanısı alan olgulardan, III. Grup ise YO-IPA ve takip sonrası yapılan değerlendirmelerde tanısı IPA olarak kalan olgulardan oluşturuldu. Galaktomannan için en iyi eğri altında kalan alan (AUC), duyarlılık ve özgüllük verisi yalnız YO-IPA grubu ile alınmıştır ve buna göre kesim değeri ≥ 1.2 olarak bulunmuştur. β -D-glukan için yapılan roc analizi ise, tüm olguların verilerinin ortalaması çok düşük olduğundan gerçekte uyumlu bulunamamıştır ve serum için alınan 80pg/ml pozitif değeri kullanılmaya devam edilmiştir.

Roc analizi ile edilen yeni kesim noktası değeri ile eski kesim noktasına göre BAL GM duyarlılığı, özgüllüğü, NTD ve PTD değerleri karşılaştırıldığında YO-IPA grubunda yeni kesim noktası ile iyi özgüllük elde edilirken duyarlılık çok fazla düşmemiştir. Son değerlendirme ile incelenen 25 kişilik IPA grubundaki sonuçlar da kesim değeri ≥ 0.5 ile alınandan daha iyi bulunmuştur. Kesim değeri ≥ 1.2 ile elde edilen BAL GM için özgüllük ve

duyarlılık değerlerinde yükselme mevcuttur. Bu değer henüz net olmayan BAL GM kesim değeri için önerilebilir bir değerdir.

Görüntülemeadaki eksiklikler, gecikmeler, mikrobiyolojik ve histolojik incelemeler için biyopsi örneklerinin çok nadir alınması bu çalışmadaki GM ve BG testlerinin doğruluğunu etkileyen faktörlerden biridir. Kanıtlanmış IPA olgumuz hiç yoktur. Yüksek olasılıklı IPA sayısının düşük olması, postmortem incelemeler olmadığı için tanıların doğrulanamaması, antemortem hastaların durumları genellikle invaziv işlemlere uygun olmadığı için kanıtlanmış IPA tanısı koyulamaması çalışmanın kısıtlılıklarıdır.

Yöntemin duyarlılığı yükseldikçe erken dönemde IPA'yı yakalama şansı artmaktadır, ancak beraberinde özgüllük düştüğü için yapılacak tanısal girişimler ve preemtif tedavide gereksiz uygulamalar söz konusu (122). Testin güvenilirliğinin değerlendirilmesi için daha geniş, ante- ve/veya postmortem patolojik inceleme ve kültür kontrollü çalışmalara gereksinim vardır. Ancak yine de özellikle yüksek riskli hastalarda erken tanı ve preemtif tedavinin planlanması açısından sonuçlar umut vericidir. *Aspergillus*'un in vivo özelliklerinin ve antijenlerinin in vitro özelliklerinin daha iyi anlaşılması yanlış negatif ve pozitif sonuçların nedenini bulmamızı sağlayacaktır. Yanlış pozitif olarak değerlendirdiğimiz olgularda gizli kalmış bir fungal infeksiyon dışlanamamaktadır. Aynı şekilde DO-IPA tanısında kullanılan klinik parametrelerin özgüllüğü oldukça düşüktür, bu nedenle çalışmalarda bu grubu hasta grubuna katıp katmama konusunda tereddütler vardır. (123)

Kullanılacak testin duyarlılığı arttıkça erken dönemde IPA'yı tanıma ihtimali daha yüksek olacaktır (122, 123). Hasta grubunda duyarlılık değerleri literatür bilgileriyle karşılaştırıldığında daha düşük olarak izlenmiştir. Olası nedenleri şunlar olabilir;

- 1- Galaktomannan yüksekliğinin kinetiği değişkendir (122). Literatürde seri alınan kan örnekleri ile çalışılan GM değerlerinin IPA tanısında duyarlılığı daha da yükselttiği bildirilmiştir (73). Bizim çalışmamızda BAL işleminden hemen sonra alınan tek kan örneği değerlendirmeye alınmıştır. Son

değerlendirmeler sırasında hematolojik maligniteli hastalarda seri serum örnekleri göz önünde bulundurulmuş ve tekrar yapılan hesaplamalarda duyarlılık ve özgüllüğün yükseldiği izlenmiştir.

- 2- Hastalardan alınan kanların ve BAL sıvılarının bekletilmeden laboratuvara götürülerek serumun ve BAL sıvısının işlenmesi her defasında mümkün olmamıştır. Transporttaki değişkenlik ve kanların beklemesi yanlış sonuçlara yol açmış olabilir.
- 3- Serum anti-*Aspergillus* antikor pozitifliğinin GM antijeni ile bağlanarak ELISA yönteminin performansını düşürerek yalancı negatifliklere yol açabileceği bildirilmiştir (93, 124). Çalışmamızda hasta grubundaki hematolojik maligniteli hastaların daha önce *Aspergillus* ile karşılaşmış ve antikor üretmiş olabilme ihtimali yüksekti. Serum anti-*Aspergillus* antikor ölçümleri yapılamadığından bu olasılık kanıtlanamamaktadır.
- 4- Antifungal tedaviler mantar yükünü azaltacağı için serolojik testlerin duyarlılığını düşürecektir (125). Düşük olasılıklı ve non-IPA grubundaki yüksek ampirik antifungal kullanılma oranı göz önüne alındığında subklinik infeksiyonu olan hastalarda GM ve BG düzeyleri baskılanmış olabilir.

Serum GM ve BG ölçümlerinde yalancı pozitif sonuçlara yol açabilecek ve dolayısıyla yöntemlerin özgüllüğünü azaltabilecek bazı faktörler ise şöyledir;

- 1- Çalışmanın yürütüldüğü ilk dönemlerde Hematoloji BD'na ait klinik içinde yenileme çalışmaları yapılmaktaydı. Hastalar, hava filtresi olmayan odalarda, hasta odalarının kapıları kapatılmak suretiyle izlendi. Ancak haftada bir defa ki ateşli dönemde 3-4 defa PA akciğer grafisi çekilmek üzere odalarından dışarı çıkmak zorunda kaldılar. Bu nedenle ilk dönemde alınan hastaların *Aspergillus* ile kolonize ve infekte olma olasılıkları çok yüksekti.
- 2- *Aspergillus* ile kontamine olmuş serum ve BAL örneklerinde mantar üreyerek GM ve BG yükünde artmaya yol açabilir, Uygun zamanda

laboratuvara ulaştırılmayan serum ve BAL örneklerinde yalancı yüksek sonuçlar elde edilmiş olabilir.

- 3- Yalancı pozitif olarak nitelendirilen olgularda subklinik başka bir odak atlanmış olabilir. Hastaların gastrointestinal sistemlerinin *Aspergillus* ile kontamine olmasıyla transmukozal GM salınımı bildirilmiştir (27,81). Tanı gayta kültürleri ve gaytada antijen bakılması ile konabilir. Aynı zamanda yiyeceklerin kontaminasyonu da yalancı GM pozitifliğine yol açabilir. Polisakkarit yapısından dolayı ısıya dayanıklı olan GM antijeni yiyecekler içinde yapısını koruyarak bu yolla da gastrointestinal kaynaklı yalancı pozitifliğe yol açabilir. Bizim çalışmamızda hastaların ek infeksiyon odakları sorgulanmakla birlikte diğer sistemleri içerecek ayrıntılı tetkikler yapılmadı.
- 4- Bronkoalveoler lavaj işlemi kontaminasyona oldukça açık bir işlemdir. İşlem sırasında immünsüpresif olan hasta grubunda oral kandidoz varlığında gelişebilecek kontaminasyonla testlerde yalancı pozitiflik izlenebilir (120).

Hastanemizde yatan yüksek riskli hematolojik hastaların non-IPA atakları sırasında da yüksek oranda ampirik antifungal tedavi uygulanmaktadır. Mikrobiyolojik kanıtlardaki yetersizliklerden dolayı IPA tanısı erken dönemde net olarak konamamakta veya dışlanamamaktadır. Sonuçta antifungal tedavi preemtif bir yaklaşımdan ziyade ampirik olarak uygulanmaktadır. Düşük olasılıklı IPA grubunda gereksiz başlanan veya YO-IPA grubunda başlanmasında geç kalınan antifungal tedavi bu yaklaşımın sonucudur. Yüksek riskli IPA grubunda erken dönemde preemtif olarak başlanan ve yanıt alınan antifungal tedavi uygun zamanlama ile hayat kurtarmaktadır. Birçok hasta, IPA lehine bulgu olmamasına rağmen, uzamış ve geniş kapsamlı antibakteriyel tedaviye cevapsız klinik ve radyolojik bulgular nedeniyle ampirik antifungal tedavi almaktadır. Lüzensuz başlanan antifungal tedaviler hastalar için yan etkiler doğururken, sağlık kurumlarını ve devleti gereksiz ekonomik yük altına sokmaktadır. Gerek serum gerek BAL örnekleri ile çalışılan GM ve BG testleri klinik ve radyolojik parametrelerle birlikte tanı ve tedavi yaklaşımında yol gösterici olması bakımından umut

vericidir. Ayrıca risk hasta popülasyonu ile çalışan hematoloji ve onkoloji hastalarını takip eden hekimlerin, göğüs hastalıkları ile yakın iletişim halinde olup, daha gerçekçi tanı yaklaşımını sağlamak için bronkoskopiye uygulamaya sokmaları hastanın yararına olacaktır. Bu çalışma serum ile beraber BAL serolojisinin de negatif çıkması durumunda hastanın büyük ölçüde IPA olmadığını göstermiştir ve aslında IPA olmayan hastalarda maliyeti yüksek ve toksik bir tedavi olan antifungal tedavinin gereksiz kullanımının kısıtlanmasına katkıda bulunacaktır.

Öte yandan bu çalışma göstermiştir ki bazı olgularda serum serolojisi negatif kalabilmektedir. Özellikle hem GM hem de BG'nin BAL'da beraber pozitif olması IPA'yı daha güçlü destekleyeceğinden antifungal tedavi ampirik değil preemtif hale gelecek ve daha kanıta dayalı kullanılmış olacaktır. Her iki testin güvenilirliğinin artırılması için *Aspergillus* ve hastaya ait faktörlerin GM ve BG salınımını ne yönde etkilediğinin bilinmesi, işlemde standardizasyonun (özellikle örnek alınımı ve saklanma aşamasında) sağlanması ve aynı tanımlamalara göre gruplanmış daha homojen hasta grupları üzerinde geniş kontrollü çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak;

- 1- Bu çalışmaya göre BAL GM ve BG değerleri için duyarlılık, özgüllük, negatif ve pozitif tanı değerleri seruma göre daha yüksek bulunmuştur. BAL serolojisinin serum serolojisine göre tanıda daha değerli olduğu söylenebilir.
- 2- Galaktomannan antijen testi için elde edilen duyarlılık, özgüllük, negatif ve pozitif tanı değerleri β -D-glukan testine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Galaktomannan testinin serum ve BAL'da BG testine göre daha değerli olduğu izlenmiştir.
- 3- Galaktomannan ve β -D-glukan testlerinin beraber kullanılması durumunda üç ve üçün üzerinde pozitiflik olması IPA tanısını güçlendirmekte; tersi bir ve birin altında pozitiflik olması IPA tanısından uzaklaştırmaktadır. Ancak iki eş değer pozitifliği (her iki testin birden sadece BAL veya serumda pozitifliği ya da serum veya BAL'da aynı testin pozitifliği) IPA veya invazif fungal enfeksiyon lehine olurken, iki uyumsuz

pozitiflik (ör: serumda GM pozitifliği, BAL'da BG pozitifliği) daha çok test kontaminasyonunu gösterir.

- 4- Serum GM için çalışmalarla gösterilen ve FDA onayı ile kabul edilen kesim değeri 0.5 iken BAL GM için henüz netleşmiş bir değer bildirilmemiştir. Gereksiz antifungal tedavinin ve tanısal tetkiklerin getirileri göz önüne alındığında preemtif tedavi verilecek hasta popülasyonunun sınırlandırılması istenirse çalışmada bulunan ve hesaplamalarda özgüllük değerlerinde belirgin yükselmeye neden olurken duyarlılıkta anlamlı düşme izlenmeyen kesim noktası ≥ 1.2 değerinin kullanılması önerilmektedir .
- 5- Testlerin yanlış pozitif olabileceği penisilin türevi antibiyotik kullanımı, mukozit, diğer funguslar ve bakterilerle çapraz reaksiyon gibi durumlar göz önünde bulundurulmalıdır.
- 6- Hastaların GM ve BG ile izlemi, preemtif tedavi için tek yöntem olmamalı, erken tanı için diğer yöntemler (görüntüleme, PCR) de kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Uzun Ö. Fungal pnömoniler. In: Ekim N, Uçan ES (eds). Solunum Sistemi Enfeksiyonları. 1st edition. Ankara: Toraks Kitapları, 2001;265-82.
2. Kumbasar ÖÖ, Akçay Ş, Azap A, Tabak L, Zeytinoğlu A. Bağışıklığı Baskılanmış Hastalarda Pnömoni Tanı ve Tedavisi Uzlaş Raporu. Türk Toraks Derneği, 2008.
3. Rano A, Agusti C, Sibila O, Torres A. Pulmonary infections in non-HIV immunocompromised patients. *Curr Opin Pulm Med* 2005;11: 213-17.
4. Leung AN, Muller NL. Pulmonary Disease in the Immunocompromised Host (Non-AIDS) Pulmonary and Cardiac Imaging. In: Chiles C, Putman C (eds). *Lung Biology in Health and Disease*. 1st edition. United states:Commercial; 1997.103:19-40.
5. Aronchick JM. Pulmonary Infections in Cancer and Bone Marrow Transplant Patients. *Semin Roentgenol* 2000; 35:140-151.
6. Baughman RP. The Lung in the Immunocompromised Patient. *Respiration* 1999;66:95-109.
7. The committee for The Japanese Respiratory Society guidelines in management of respiratory infections. *Pneumonia in immunosupressed patients*. *Respirology* 2004; 9: 25-9.
8. Cunha BA. Pneumonias in the Compromised Host. *Infect Dis Clin North Am* 2001; 15: 591-612.
9. Özdemir Ö. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda görülen akciğer sorunları. *Göğüs Hastalıkları Serisi*, 2006;91-105.
10. Giamarellou H, Antoniadou A. Infectious Complications of Febrile Leukopenia. *Infect Dis Clin North Am* 2001; 15: 457-482.
11. Escamilla R, Hermant C. Pneumonia in immunocompromised patients. *Eur Respir Mon* 1997; 3:189-208
12. Habicht JM, Preiss M, Dalquen P, et al. Invasive pulmonary aspergillosis: effects of early resection in a neutropenic rat model. *Eur J Cardio-Thorac Surg*, 2002; 22:728-732
13. Franquet T, Gimenez A, Hidalgo A. Imaging of opportunistic fungal infections in immunocompromised patients. *Eur J Radiol* 2004; 51:130-138.
14. Shorr AF, Susla GM, O'Grady NP. Pulmonary infiltrates in the non-HIV infected immunocompromised patient: Etiologies, diagnostic strategies, and outcomes. *Chest* 2004;125: 260-271.
15. Joos L, Chhajed PN, Wallner J, et al. Pulmonary infections diagnosed by BAL: A 12-year experience in 1066 immunocompromised patients. *Respiratory Medicine* 2007; 101:93-7.
16. Catarrala J, Roson B, Fernandez-Sevilla A, Alcaide F, Gudiol F. Bacteremic Pneumonia in Neutropenic Patients with Cancer. Causes, Empirical Antibiotic Therapy, and Outcome. *Arch Intern Med* 1998;158:868-72.
17. Quadri TL, Brown AE. Infectious Complications in the Critically Ill Patient with Cancer. *Semin Oncology* 2000;27: 335-46.

18. Cunha BA. Community-Acquired Pneumonia. *Med Clin North Am* 2001;85:43-77.
19. Verweij PE, Denning DW. Diagnostic and Therapeutic Strategies for Invasive Aspergillosis. *Semin Respir Crit Care Med* 1997; 18:203-15.
20. Stevens DA, Kan VL, Judson MA et al. Practice Guidelines for Diseases Caused by *Aspergillus*. *Clin Infect Dis* 2000;30:696-709.
21. Minamoto GY, Rosenberg AS. Fungal Infections in Patients with AIDS. *Med Clin North Am* 1997; 81: 381-409.
22. Segal BH, Walsh TJ. Current approach to diagnosis and treatment of invasive aspergillosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 707-717.
23. Metin DY. *Aspergillus* taksonomisinde yenilikler. In: Ener B (eds) *Aspergillus türleri ve oluşturdukları hastalıklar* (1st edition). İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını; 2006. 25-29.
24. Denning DW. *Aspergillus* species. In: Mandell GP, Bennett JE and Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th edition. Churchill Livingstone: Phi, Penn; 2000. 2674-85.
25. Ener B. *Aspergillus* türleri ve oluşturdukları hastalıklar. In: Ener B (eds). *Aspergillus türleri ve oluşturdukları hastalıklar*. 1st edition. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını; 2006. 9.
26. Patterson TF. *Aspergillus* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R Mandell (eds). *Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (1st edition), Churchill, Livingstone; 2005. 2958-73.
27. Ansorg R, Boom R, Rath PM. Detection of galactomannan antigen in foods and antibiotics. *Mycoses* 1997; 40: 353-7.
28. Latge JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 310-50.
29. Bernard M, Latge JP. *Aspergillus fumigatus* cell wall: composition and biosynthesis. *Med Mycol* 2001; 39:9-17.
30. Latge JP, Mouyna I, Tekaia F, et al. Specific molecular features in the organization and biosynthesis of the cell wall of *Aspergillus fumigatus*. *Med Mycol*. 2005 ;43 :15-22.
31. Arda B. Akciğerde *aspergillus* spektrumu: invaziv pulmoner aspergilloz, trakeobronşit, aspergilloma. *Klinikte aspergillus enfeksiyonları Eğitim Toplantısı*, 2007;25-27.
32. Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998;26:781-803.
33. Zander DS. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: An overview. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:924-8.
34. Tillie-Leblond I, Tonnel AB. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy* 2005; 60:1004-13.
35. Sugar MA. Clinical features and diagnosis of invasive aspergillosis. www.uptodate.com
36. Hope, WW, Kruhlak, MJ, Lyman, CA, et al. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* and the kinetics of galactomannan in an in vitro model of early invasive pulmonary aspergillosis: implications for antifungal therapy. *J Infect Dis* 2007; 195:455-66.
37. Segal B. Mouldy oldy: how fungus lives among us. *Blood* 2005; 105:2239-42.

38. Stanzani, M, Orciuolo, E, Lewis, R, et al. *Aspergillus fumigatus* suppresses the human cellular immune response via gliotoxin-mediated apoptosis of monocytes. *Blood* 2005; 105:2258-65.
39. Bodey GP. Hematogenous and major organ candidiasis. In: Bodey GP. (eds). *Candidiasis* 2nd edition. New York: Raven Press; 1993. 279-329.
40. Doffman SR, Agrawal SG, Brown JS. Invasive pulmonary aspergillosis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2005;3:613-27.
41. Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in the intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2007; 45:205-16.
42. Denning DW, Stevens DA. Antifungal and surgical treatment of invasive aspergillosis: Review of 2,121 published cases. *Rev Infect Dis* 1990; 12:1147-201.
43. Siddiqui S, Anderson VL, Hilligoss DM, et al. Fulminant mullch pneumonitis: an emergency presentation of chronic granulomatous disease. *Clin Infect Dis* 2007; 45:673-81.
44. Vartivarian SE. Virulence properties and nonimmune pathogenetic mechanisms of fungi. *Clin Infect Dis* 1992;14 :30-6.
45. Kontoyiannis DP, Bodey GP. Invasive aspergillosis in 2002: An update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 161-172.
46. Ng TT, Robson GD, Denning DW. Hydrocortisone-enhanced growth of *Aspergillus* spp: implications for pathogenesis. *Microbiology*. 1994;140 :2475-9.
47. Ribaud P, Chastang C, Latge JP, et al. Survival and prognostic factors of invasive aspergillosis after allogenic bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 322-330.
48. Wald A, Leisenring W, Burik JA, Bowden RA. Epidemiology of aspergillosis in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis* 1997; 175: 1459-66.
49. Ho PL, Yuen KY. Aspergillosis in bone marrow transplant recipients. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000; 34: 55-69
50. Schwartz S, Theil E. Clinical presentation of invasive aspergillosis. *Mycoses* 1997; 40:21-4.
51. Hachem R, Sumoza D, Hanna H, et al. Clinical and radiologic predictors of invasive pulmonary aspergillosis in cancer patients: should the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycosis Study Group (EORTC/MSG) criteria be revised?. *Cancer* 2006; 106:1581-6.
52. Haron E, Vartivarian S, Anaissie E, Dekmezian R, Bodey GP. Primary *Candida* pneumonia. Experience at a large cancer center and review of the literature. *Medicine* 1993;72:137-42.
53. El-Ebiary M, Torres A, Fabregas N, et al. Significance of the isolation of *Candida* species from respiratory samples in critically ill, non-neutropenic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:583-90.
54. Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, et al. Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. 13. *Aspergillus* Study Group. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79:250-3.

55. Greene RE, Schlamm HT, Oestmann JW, et al. Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis* 2007; 44:373-9.
56. Caillot D, Casanovas 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.
57. 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.
58. Denning DW. Diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Curr Clin Top Infect Dis* 1996; 16:277-99.
59. Latge JP. Tools and trends in the detection of *Aspergillus fumigatus*. *Curr Top Med Mycol* 1995; 6:245-81.
60. Reichenberger F, Habicht J, Matt P, et al. Diagnostic yield of bronchoscopy in histologically proven invasive pulmonary aspergillosis. *Bone Marrow Transplant*. 1999 ;24:1195-9.
61. Cordonnier C, Escudier E, Verra F, et al. Bronchoalveolar lavage during neutropenic episodes: diagnostic yield and cellular pattern. *Eur Resp J* 1994; 7: 114–20.
62. Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Med* 1996; 100: 171–178.
63. Hohental U, Itala M, Salonen J, et al. Bronchoalveolar lavage in immunocompromised patients with haematological malignancy-value of new microbiological methods. *Eur J Haematol* 2005;74: 203-11.
64. Santamuara J, Mangino DA, Stover DE. The lung in the immunocompromised host: diagnostic methods. *Respiration* 1999;66:481-490.
65. Sayiner A. Diagnostic techniques and algorithms in respiratory disease of immunosuppressed patients. In: G.Antypas (eds) *Proceedings of the 1st Mediterranean Congress on Interventional Diagnosis for Thorax Diseases (1st edition)*., Bologna, Italy: Monduzzi Editore; 1996:17-24.
66. Cazzadori A, Di Perri G, Todeschini G, et al. Transbronchial biopsy in the diagnosis of pulmonary infiltrates in the immunocompromised patients. *Chest* 1995; 107: 101-6.
67. 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/MSG) Consensus Group. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 46:1813-21.
68. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2005;5: 609-22.
69. Kiraz N. Aspergillusların klinik mikrobiyolojisi (mikroskopi-histopatoloji, izolasyon, identifikasyon, taksonomi), *fumigatus* dışı aspergilluslar. *Klinikte Aspergillus İnfeksiyonları-Eğitim toplantısı*. 2007;17-19.

70. Zimmerman RL, Montone KT, Fogt F, Norris AH. Ultra fast identification of *Aspergillus* species in pulmonary cytology specimens by in situ hybridization. *Int J Mol Med* 2000; 5: 427–9.
71. Hayden RT, Isotalo PA, Parrett T, et al. In situ hybridization for the differentiation of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Pseudallescheria* species in tissue section. *Diagn Mol Pathol* 2003; 12: 21–6.
72. Platelia aspergillous 62797. Detection of aspergillus galactomannan antigen in serum by enzyme immunoassay kullanım kılavuzu.
73. Odabasi Z. Galaktomannan-Beta Glukan-PCR: Bugün tanıda neredeler? Klinikte *Aspergillus* Enfeksiyonları Eğitim Toplantısı. 2007;31-32.
74. Andrews CP, Weiner MH. *Aspergillus* antigen detection in bronchoalveolar lavage fluid from patients with invasive aspergillosis and aspergillomas. *Am J Med.* 1982;73:372-80.
75. Richardson MD, Kokki MH. New perspectives in the diagnosis of systemic fungal infections. *Ann Med.* 1999 ;31:327-35.
76. Stevens DA. Diagnosis of fungal infections: current status. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49 : 11-19.
77. Bennett JE, Powers J, Walsh T, et al. Forum report: issues in clinical trials of empirical antifungal therapy in treating febrile neutropenic patients. *Clin Infect Dis* 2003;36:117-22.
78. Erjavec Z, Verweij PE. Recent progress in the diagnosis of fungal infections in the immunocompromised host. *Drug Resist Updat* 2002; 5: 3-10.
79. Verweij PE, Stynen D, Rijs AJ, et al. 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.
80. 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.
81. 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.
82. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts 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.
83. Siemann M, Koch-Dorfler M, Gaude M. False-positive results in premature infants with the Platelia *Aspergillus* sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *Mycoses* 1998;41:373-7.
84. Swanink CM, Meis JF, Rijs AJ, Donnelly JP, Verweij PE. Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *Aspergillus* galactomannan. *J Clin Microbiol* 1997;35:257-60.
85. Yücesoy M, Ergon MC. Investigation of *Aspergillus* galactomannan levels in antimicrobial agents. *Mikrobiyol Bul.* 2007 ;41:565-70.

86. Singh N, Obman A, Husain S, et al. Reactivity of platelia Aspergillus galactomannan antigen with piperacillin-tazobactam: clinical implications based on achievable concentrations in serum. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1989-92.
87. Walsh TJ, Shoham S, Petraitiene R, et al. Detection of galactomannan antigenemia in patients receiving piperacillin-tazobactam and correlations between in vitro, in vivo, and clinical properties of the drug-antigen interaction. *J Clin Microbiol* 2004;42:4744-8.
88. Sulahian A, Touratier S, Riboud P. False positive test for aspergillus antigenemia related to concomitant administration of piperacillin and tazobactam. *N Engl J Med*. 2003 11;349:2366-7.
89. Mattei D, Rapezzi D, Mordini N, et al. False-positive Aspergillus galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay results in vivo during amoxicillin-clavulanic acid treatment. *J Clin Microbiol* 2004;42:5362-3.
90. Verweij PE, Erjavec Z, Sluiter W, et al. Detection of antigen in sera of patients with invasive aspergillosis: intra- and interlaboratory reproducibility. The Dutch Interuniversity Working Party for Invasive Mycoses. *J Clin Microbiol*. 1998;36:1612-6.
91. 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;41:2184-6.
92. Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transpl Infect Dis* 2003;5:158-166.
93. Mennink-Kersten MASH, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2004;4:349-57.
94. Bretagne S, Costa JM, Bart-Delabesse E, et al. Comparison of serum galactomannan antigen detection and competitive polymerase chain reaction for diagnosing invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998;26:1407-12.
95. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*. 2004;15;39:199-205.
96. Singh N, Paterson DL. Aspergillus infections in transplant recipients. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:44-69.
97. Silveire F, Paterson D. Pulmonary fungal infections. *Curr opin Pulm Med*. 2005;11:242-6.
98. Pazos C, Pontón J, Del Palacio A. Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol*. 2005;43:299-305.
99. Jones BL, McLintock LA. Impact of diagnostic markers on early antifungal therapy. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:521-526.
100. Ellis M, Spence D, Pauw B. An EORTC international multicenter randomized trial (EORTC number 19923) comparing two doses of

- liposomal amphotericin B for treatment of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998;27:1406-12.
101. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2008;46:327-60
 102. Maertens JA, Frere P, Lass-Flörl C, Heinz W, Cornely OA. Primary antifungal prophylaxis in leukaemia patients. *EJC Suppl* 2007;5:43-48
 103. Vogeser M, Wanders A, Haas A, Ruckdeschel G. A four year review of fatal aspergillosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:42-45.
 104. Denning DW. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1996;23: 608-15.
 105. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, et al. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2002;34:730-51.
 106. Marino IR, Panarello G, Singh N. Efficacy of *Aspergillus* galactomannan-directed preemptive therapy for the prevention of invasive aspergillosis in organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2002;4 :226-7.
 107. Singh N. Preemptive Therapy Versus Universal Prophylaxis with Ganciclovir for Cytomegalovirus in Solid Organ Transplant Recipients. *Clin Infect Dis* 2001; 32:742–51.
 108. Eriksson BM, Dahl H, Wang FZ, et al. Diagnosis of pulmonary infections in immunocompromised patients by fiber-optic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage and serology. *Scand J Infect Dis*. 1996;28:479-85.
 109. Weiss SM, Hert RC, Gianola FJ, Clark JG, Crawford SW. Complications of fiberoptic bronchoscopy in thrombocytopenic patients. *Chest*. 1993 ;104:1025-8.
 110. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systemic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 358-366.
 111. Khan ZU, Ahmad S, Theyyathel AM. Detection of *Aspergillus fumigatus*-specific DNA, (1-3)-beta-D-glucan and galactomannan in serum and bronchoalveolar lavage specimens of experimentally infected rats. *Mycoses*. 2008;51:129-35.
 112. Ahmad S, Khan ZU, Theyyathel AM. Diagnostic value of DNA, (1-3)-beta-d-glucan, and galactomannan detection in serum and bronchoalveolar lavage of mice experimentally infected with *Aspergillus terreus*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007;59:165-71.
 113. Fréalle E, Decrucq K, Botterel F, et al. Diagnosis of invasive aspergillosis using bronchoalveolar lavage in haematology patients: influence of bronchoalveolar lavage human DNA content on real-time PCR performance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28:223-32.
 114. Francesconi A, Kasai M, Petraitiene R, et al. Characterization and comparison of galactomannan enzyme immunoassay and quantitative real-time PCR assay for detection of *Aspergillus fumigatus* in bronchoalveolar lavage fluid from experimental invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2006; 44:2475-80
 115. Becker M.J, Lugtenburg EJ, Cornelissen JJ, et al. Galactomannan detection in computerized tomography-based broncho-alveolar lavage

- fluid and serum in haematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. *Br J Haematol*. 2003;121:448–457.
116. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, et al. Beta-D-Glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cutoff development, and performance in patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Clinical Infectious Diseases*. 2004; 39:199-205.
 117. Ostrosky-Zeichner L, Alexander B, Kett D, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1-3)- β -D-Glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Inf Dis* 2005; 41: 654-9.
 118. Rylander R, Norrhall M, Engdahl U, Tunsater A, Holt PG. Airways inflammation, atopy, and (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan exposures in two schools. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1685–7.
 119. Albelda SM, Talbot GH, Gerson SL, Miller WT, Cassileth PA. Role of fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Am J Med*. 1984;76:1027-34
 120. Kakabadze T, Rukhadze N, Mshvidobadze K, Lomtadze M, Kandelaki G. Oral lesions in HIV-positive patients in Georgia. *Georgian Med News*. 2008;60-5.
 121. Becker MJ, de Marie S, Willemse 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;38:1434–8.
 122. Wingard JR, Leather H. A new era of antifungal therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004;10:73-90.
 123. Yoo JH, Choi JH, Choi SM, et al. Application of nucleic acid sequence-based amplification for diagnosis of and monitoring the clinical course of invasive aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Clin Infect Dis* 2005;40:392-8.
 124. Buchheidt D, Hummel M, Schleiermacher D, et al. Prospective clinical evaluation of a Light-Cycler-mediated polymerase chain reaction assay, a nested-PCR assay and a galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay for detection of aspergillosis in neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol* 2004;125:196-202.
 125. Verweij PE, Erjavec Z, Sluiter W, et al. Detection of antigen in sera of patients with invasive aspergillosis: intra- and interlaboratory reproducibility. The Dutch Interuniversity Working Party for Invasive Mycoses. *J Clin Microbiol*. 1998;36:1612-6.
 126. 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)- β -D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol* 2004;42:2733-2741.
 127. Yoo JH, Choi JH, Choi SM, et al. Application of nucleic acid sequence-based amplification for diagnosis of and monitoring the clinical course of invasive aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Clin Infect Dis* 2005;40:392-8.

TEŞEKKÜR

Göğüs Hastalıkları asistanlık eğitimim boyunca sundukları bilimsel, verimli ve destekleyici ortamlarla kendimi evimde hissettiren ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim değerli hocalarım Prof.Dr.Nihat Özyardımcı, Prof. Dr. Ercüment Ege, Prof. Dr. Oktay Gözü, Prof. Dr. Mehmet Karadağ'a ve Doç. Dr. Dane Ediger'e ayrı ayrı teşekkür ederim.

Tez danışmanım ve değerli büyüğüm, Prof. Dr. Esra Uzaslan'a tezime ve göğüs hastalıkları bilgilerime katkılarından, ayrıca her zaman arkamda hissettiğim desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Tüm asistanlık eğitimim boyunca bilgisini, desteğini esirgemeyen tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar ki süreçte desteğini hep hissettiğim, bilim insanı olmasının yanında benim için bir ağabey olan çok kıymetli Doç. Dr. Ahmet Ursavaş'a teşekkür ederim.

Yine asistanlık eğitimim süresince bilgilerinden faydalandığım Uzm.Dr.Funda Coşkun'a teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında çok büyük emekleri olan, değerli vaktini ve bilimsel desteğini esirgemeyen, tüm içtenliğiyle benimle olduğunu bildiğim sayın hocam Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Beyza Ener'e teşekkür ederim.

Tezimi hazırlamam için mevcut ortamını ve olanaklarını sunan sayın hocam İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Rıdvan Ali'ye tüm maddi ve manevi desteği için teşekkürü borç bilirim.

Kendisini tanımaktan ve omuz omuza birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum eş kıdemim Dr.Ezgi Demirdöğen'e teşekkür ederim.

Tez hastalarımın bronkoskopi işlemi ve serumlarının temininde sabırla yardımcı olan ve vakit ayıran Göğüs Hastalıkları Bronkoloji Laboratuvarı hemşiresi Sabiha Adalı'ya teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca üzerimde en büyük emeğe sahip olan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve onların desteği olmadan her şeyin çok güç olacağı canım annem, babam ve kardeşime teşekkür ederim.

Tanıdığım günden itibaren tüm sevgisiyle hep yanımda olan meslek hayatımdaki en büyük destekçim sevgili eşim Uğur Burgazlıoğlu'na teşekkür ederim.

Yine ihtisas sürem boyunca beraber çalışmaktan büyük zevk duyduğum asistan arkadaşlarıma, ayrıca hiçbir konuda yardım ve gülyüzlerini esirgemeyen tüm Göğüs Hastalıkları bölümü tüm hemşire ve personeline teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Bursa'da doğdum. İlkokulu Bursa Atatürk İlkokulu'nda, orta ve lise eğitimimi Bursa Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 1995 yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde lisans eğitimime başladım ve 2001 yılında Tıp Doktoru ünvanı alarak mezun oldum.

Kasım 2003 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak ihtisasa başladım. Halen aynı bölümde göreve devam etmekteyim.