

# Fungal İnfeksiyon Etkenlerinin Laboratuvar Tanısı

Dr. Beyza ENER\*

\* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa.

Mantarlar son yıllarda giderek önem kazanmaya başlayan mikroorganizmalardır. Doğada çok sayıda mantar türü bulunmakla beraber (yaklaşık 100.000-150.000), çok azı (150-200) insanlarda hastalık oluşturur (1). Bununla beraber; maligniteli hastalara uygulanan agresif kemoterapötik yaklaşımlar, yoğun bakım hastalarına uygulanan ileri yaşam destekleri ve organ nakillerindeki başarılar hastaların yaşam sürelerini uzatmakta ve mantar enfeksiyonları açısından risk altında olan bu hastaların örneklerinde, farklı türlerle de karşılaşabilmektedir. Bu nedenle, hasta örneklerinde üreyen (besiyeri kontaminasyonu olmamasına dikkat edilmelidir) her tür mantarın tanımlanması gerekir. Ancak mantarların tanımlanmasında morfolojik özelliklerin ön planda olması, mikoloji ile uğraşacak kişilerde deneyimi gerektirir (2).

Fungal enfeksiyon etkenlerinin laboratuvar tanısında çeşitli yöntemler kullanılabilir. Laboratuvar çalışmasının en doğru, en ucuz ve en kısa sürede sonuçlanacak yöntemi hastanın örneğine ve ön tanıya göre seçmesi gerekir. Laboratuvar

tanı yöntemleri aşağıdaki şekilde incelenebilir:

1. Hasta örneklerinin mikroskopik incelenmesi ve bu örneklerden etkenin üretilmesi,
2. Hastada şüphelenilen fungal enfeksiyona karşı gelişmiş spesifik immün yanıtın gösterilmesi,
3. Hasta örneklerinde etkenin antijenik yapısının gösterilmesi,
4. Hasta örneklerinde etkenin metabolitlerinin ve yapısal komponentlerinin gösterilmesi,
5. Hasta örneklerinde etkenin spesifik nükleik asitlerinin gösterilmesi.

## 1. HASTA ÖRNEKLERİNİN MİKROSKOBİK İNCELENMESİ ve BU ÖRNEKLERDEN ETKENİN ÜRETİLMESİ

### Hasta Örneklerinin Toplanması ve İşlenmesi

Başarılı sonuç alınabilmesi için hasta örneklerini almak, laboratuvara naklinde dikkatli ve titiz olmak gerekir. Hızlı üreyen bakteriler ve saprofitik mantarların patojenleri baskılamaması ve ayrıca mantar elemanlarının canlılığının aşırı sıcak ve soğuktan etkilenmemesi için örneklerin oda ısısında iki saat içinde laboratuvara ulaştırılması ideal olmaktadır (3). Eğer gecikme kaçınılmaz ise, örneklerin çoğu yine oda ısısında bekletilmelidir. Ancak santral sinir sistemine ait örnekler 30°C'de, bakteri kontaminasyonu yoğun olan örnekler (dış kulak yolu sürüntüsü, alt solunum yolu örnekleri, idrar gibi) ve beyin omurilik sıvısı (BOS) dışındaki steril vücut sıvıları ise 4°C'de bekletilmelidir. Tablo 1'de çeşitli hasta örneklerle

**Tablo 1. Direkt Mikroskopik ve Mantar İzolasyonu İçin Örnek Alma ve İşleme İlkeleri.**

Hasta örnekleri	Örnek toplama ilkeleri	Örneklerin işlenmesi
Deri kazıntıları	Deri %70 alkol ile temizlenir. Lezyonun kenarından yapılan kazıntılar steril petri kutusuna konur ve yollanır. Steril petri kutusu bulunmadığı zaman temiz bir zarf içine konularak da laboratuvara yollanabilir.	Kazıntı örneklerinin bir kısmı, %10 KOH ile muamele edildikten sonra direkt mikroskopik incelemeye alınır. Kalanı ise herhangi bir işlem yapmadan uygun besiyerlerine ekilir.
Tırnak	Rengi bozulmuş hiperkeratotik kısımlardan, %70 alkol ile temizledikten sonra kazıntı yapılır. Tırnak altı doku da alınmaya çalışılır. Steril petri kutusunda ya da temiz bir zarf içinde laboratuvara gönderilir.	Örneklerin bir kısmı %10 KOH ile muameleden sonra direkt mikroskopik incelemeye alınır. Kalanı ise; kazıntı parçaları küçükse direkt uygun besiyerlerine ekilir. Büyük parçalar varsa ezilerek ufalanır ve ekilir.
İnfekte saç ve kıllar	Hastalıklı saç telleri ve kıllar (10-12 adet) pens ile tutularak kökü ile beraber alınmaya çalışılır. Wood lambası ile yeşil röfle veren saç telleri ve kıllar seçilmelidir. Steril petri kutusunda ya da temiz bir zarf içinde laboratuvara gönderilir.	Saç telleri ve kılların bir kısmı, %10 KOH ile muamele edildikten sonra direkt mikroskopik incelemeye alınır. Kalanı ise herhangi bir işlem yapmadan uygun besiyerlerine ekilir.
Mukoz membranlar	Ağız ve vajendeki mikotik infeksiyonlarda spatula gibi bir malzeme ile lezyondan örnek alınarak direkt mikroskopik inceleme için lama aktarılır. Ekim için ise örnekler steril eküvyon ile alınabilir.	Lama alınan örnek, üzerine steril serum fizyolojik dökülerek mikroskopik incelemeye alınır. Örnekler çok yoğun ve kalınsa, %10 KOH da kullanılabilir. Eküvyon ile alınan örnekler ise herhangi bir işlem yapmadan uygun besiyerlerine ekilir.
Kornea örneği	Göz doktoru tarafından özel bistüri (Kimura bıçağı) ile alınmalıdır. Aynı anda besiyerlerine bıçak ile çizerek ekim yapılır ve Giemsa ile boyanmak üzere preparat hazırlanır.	Ekili plaklar ve hazırlanmış preparatlar laboratuvara gönderilir.
Kulak, burun sürüntüleri	Mukoz membranlar gibi.	Mukoz membranlar gibi.
Doku örnekleri	Biyopsi, aspirasyon ya da küretasyon örnekleri olabilir.	Biyopsi ve küretasyon örnekleri öncelikle nekrotik, kazeöz, kanlı ve irinli bölgeler açısından makroskopik olarak incelenir. Böyle kısımlardan alınan parçalar üzerine 2-3 mL steril serum fizyolojik konularak, doku homojenize (plastik torbalarda "stomacher" cihaz ile veya havanda ezilerek) edilir. Zygomycetes grubu mantarlarla oluşan bir infeksiyon düşünülüyorsa homojenizasyon yapılmamalı, doku küçük parçalara kesilerek ekilmelidir. Aspirasyon örneği, ya doğrudan ya da az ise üzerine steril serum fizyolojik eklenerek işleme alınır. Ön hazırlıktan sonra, tüm örneklerin direkt mikroskopik incelenmesi ve ekimi yapılır.
Balgam ve alt solunum yolu örnekleri	Balgam örnekleri üç gün arka arkaya sabah ilk balgamı olacak şekilde alınmalı ve steril kaplarda laboratuvara gönderilmelidir. Bu balgamlar aynı zamanda <i>Mycobacterium</i> ve aerobik Actinomycetes'ler açısından da değerlendirilmelidir.	Balgam çok visköz ise, N-asetil-L-sistein ile likefiye edilmelidir. Diğer alt solunum yolu örnekleri katı ya da parçalı ise doku ve aspirasyon örneklerine benzer şekilde işlem görür. Bronkoskopi ile alınan sıvı örnekler santrifüj edilerek yoğunlaştırılır ve sediment direkt mikroskopik inceleme ve ekim için kullanılır. Diğer tüm örneklerin de, direkt mikroskopik incelemesi ve ekimi yapılır.

**Tablo 1. Direkt Mikroskopi ve Mantar İzolasyonu İçin Örnek Alma ve İşleme İlkeleri (devamı).**

Hasta örnekleri	Örnek toplama ilkeleri	Örneklerin işlenmesi
BOS ve diğer steril vücut sıvıları	Tercih, 2 mL'den fazla örneğin steril tüplere alınmasıdır.	Örnekler santrifüj (2000 devirde 10 dakika) ile ya da membranlardan süzülerek (0.20 µm) yoğunlaştırılır. Filtre edilmişse; membranlar üst yüzeyleri besiyeri ile temas edecek şekilde yerleştirilmelidir. Santrifüj edildiyse; sediment mikroskopik incelemeye ve ekime (0.5 mL/besiyeri) kullanılır. Örnek az ise olduğu gibi direkt incelemeye ve ekime alınabilir.
İdrar	Orta akım idrarı kullanılır.	Prostatit oluşturan sistemik mikoz etkenlerini izole etmek için, idrar santrifüj ile yoğunlaştırılır. Sediment direkt mikroskopik inceleme ve ekim (0.5 mL/besiyeri) için kullanılır. <i>Candida</i> türleri ise, oldukça kolay, bakteriyolojik ekimlerde bile ürerler.
Kan ve kemik iliği	Son yıllarda geliştirilen çeşitli kan kültür sistemleri, sık karşılaşılan <i>Candida</i> , <i>Saccharomyces</i> ve <i>Trichosporon</i> türleri için genellikle yeterlidir. Ancak, en iyi sistem liziz-santrifugasyon sistemidir (DuPont Isolater System). Özellikle <i>Histoplasma capsulatum</i> ve <i>Cryptococcus neoformans</i> izolasyonunda üstündür. Kemik iliğinin kan kültür şişelerine alınması uygun değildir. Antikoagülan eklenerek yatak başında ya da steril şırıngalar ile laboratuvara gönderilerek zengin besiyerlerine ekilmelidir. Yeterli materyal varsa Giemsa ile preparat hazırlanır ve incelenir.	

KOH: Potasyum hidroksit, BOS: Beyin omurilik sıvısı.

rinin alınması; mikroskopik inceleme ve ekim için işlenmesi hakkında bilgiler verilmektedir (3-5).

### Direkt Mikroskopik İnceleme

Uygun bir şekilde laboratuvara ulaştırılan ve işlenen hasta örnekleri öncelikle mikroskopik olarak incelenir. Direkt mikroskopik incelemenin çok büyük önemi vardır. Hasta örneklerinde patojen mantarların üremesi için uzun zamana ihtiyaç olabilir ve dolayısıyla birkaç dakika ya da saat içinde sonuçlanabilecek direkt mikroskopik inceleme klinisyen için çok yararlıdır. Bunun ötesinde, bazı mantar elemanlarının bazı hasta örneklerinde görülmesi patognomonik olup, kesin tanıyı da koydurabilir. Örneğin; *Histoplasma capsulatum*'a ait maya hücrelerinin kan ya da kemik iliği makrofajları içinde; *Pneumocystis jiroveci (carinii)*'nin kistlerinin, *Blastomyces dermatitidis*'in maya hücrelerinin ve *Coccidioides immitis*'in sferüllerinin balgam örneklerinde görülmesi oldukça önemli bulgulardır (3).

Bilindiği gibi küf mantarları sıklıkla besiyerlerinde kontaminasyonlara yol açar. Dolayısıyla hasta örneklerinin direkt mikroskopik incelemeğinde mantar elemanlarının görülmesi, besiyeri kontaminasyonu şüphesini ortadan kaldıracaktır. Ancak üreyen mantarın hastada kolonize olan ya da infeksiyon etkeni bir mantar olup olmadığına karar vermek kolay değildir. Floral bölgeleden gelen örneklerde (boğaz, balgam, vajinal sürüntü, dışkı, yara sürüntüsü gibi) normal flora bakterilerinin azalması mantar elemanlarının (özellikle mikroskopik hif yapıları) artması infeksiyon lehine bir bulgu olsa da, kesin değildir. Klinik verilerle uyumlu olmadığı sürece kolonizasyon olarak değerlendirilir.

Klinik örneklerin direkt mikroskopik incelemesi ayrıca, ekim için besiyeri seçimi ve ekim plaklarının etüvde uygun sürelerde tutulmasına da yararlı olacaktır. Örneğin; sistemik mikoz etkenleri (*H. capsulatum*, *B. dermatitidis*, *C. immitis* gibi)

açısından direkt mikroskopisi pozitif olan örnek altı haftaya kadar inkübe edilmelidir. Ancak, direkt mikroskopik incelemenin önemine rağmen negatif sonuçların mantar infeksiyonu olasılığını ortadan kaldırmayacağını unutmamak gerekir.

Örneklerin alındığı anatomik bölgeye, incelenen örneğin miktarına, örnekte bulunan mantar elemanlarının yoğunluğuna ve inceleyen kişinin titizliğine bağlı olarak yalancı negatif sonuçlar oluşabilir. Bunun tersi olarak yağ damlacıkları, parçalanmış lökositler maya hücreleri ile karışarak; kollajen lifler ya da eküvyonla alınan örneklerdeki lifler küf mantarlarıyla karışarak yalancı pozitiflikler de oluşturabilir. Dolayısıyla hastanın zarar görmesine yol açmamak için incelemelerin büyük bir dikkatle yapılması gerekir.

Mantar elemanlarının direkt mikroskopik incelemesinde çeşitli yöntemlerden yararlanılabilir. Bunlar Tablo 2’de özetlenmektedir.

### Hasta Örneklerinin Ekimi

Direkt inceleme oldukça önemli olmakla beraber, hasta örnekleri mutlaka uygun besiyerlerine etken mantarların üretilmesi amacıyla ekilmelidir. Bakteriyolojide olduğu gibi çeşitli besiyerleri bulunmakta ve seçim standart olmayıp, kişisel tercihlere dayanmaktadır. “Sabouraud’s” dekstroz agar (SDA; %4), nötral SDA (%2), beyin-kalp infüzyon (BHI) agarı (kan eklenmiş ve eklenmemiş), “Sabouraud-BHI (SABHI)” agar, inhibitör mold agar (IMA), “Mycosel” veya “Mycobiotic” agar primer izolasyon besiyerleri olarak kullanılabilir.

**Tablo 2. Direkt Mikroskopik İnceleme Yöntemleri.**

Örneklerin boyasız incelenmesi	Lam-lamel arası inceleme	Steril vücut sıvıları yoğunlaştırıldıktan sonra lam-lamel arası herhangi bir işlem yapmadan incelenebilir.
	Steril serum fizyolojik kullanma	Ağızdan, vajenden ve dışkıdan alınan örnekler seyreltilmek amacıyla üzerine bir damla serum fizyolojik dökülerek incelenebilir.
	%10 KOH ile muamele	Yoğun örneklerin (tırnak, deri kazıntısı, saç telleri ve kıllar, balgam, küretasyon ve biyopsi örnekleri) berraklaşması için en çok kullanılan yöntemdir. Mantar hücre duvar yapısı KOH’a kısmen dayanıklıdır.
	Kalkoflor beyazı*	Genellikle KOH ile karıştırılarak benzer örneklerde kullanılabilir. Floresans veren bir madde olup, mantar elemanlarının parlak olarak daha iyi görülmesini sağlar.
	Çini mürekkebi ile inceleme	<i>Cryptococcus neoformans</i> gibi kapsüllü mantarları tespit etmede kullanılır. Örnek üzerine bir damla damlatılarak lamel kapatılıp incelenir. Siyah zemin üzerinde boyanmamış kapsüllü mayalar görülür.
Örneklerin boyalı incelenmesi	Giemsa boyama yöntemi	Kemik iliği ve kan yaymaları <i>Histoplasma capsulatum</i> açısından; balgam ve bronkoskopi örnekleri ise <i>Pneumocystis jiroveci</i> trofozoitlerini göstermek açısından Giemsa ile boyanır.
	Wright boyama yöntemi	Giemsa boyama yöntemi ile aynı.
	Toluidine mavisi ile boyama	Balgam ve bronkoskopi örneklerinde olabilecek <i>P. jiroveci</i> kistlerini boyamak için kullanılır.
	Gümüşleme tekniği	Biyopsi ile alınan örneklerin histolojik kesitlerinde mantar elemanlarını saptamak için kullanılan en iyi yöntemdir.
	PAS boyama tekniği	Gümüşleme tekniği ile aynı.
Floresan antikor tekniği	Floresan ile işaretli spesifik antikorları kullanarak hasta örneklerinde mantar elemanlarını aramaya yönelik bir işlemdir. Floresan mikroskop gerektirir. <i>P. jiroveci</i> kistleri, <i>Aspergillus</i> hifleri, <i>Blastomyces dermatitidis</i> maya formu, <i>Coccidioides immitis</i> sferül ve endosporları, <i>Candida</i> türleri, <i>C. neoformans</i> 'ın dört serotipi, <i>H. capsulatum</i> maya formu ve daha birçok mantarı belirlemek için uygun floresan antikorlar “Centers for Disease Control and Prevention (CDC)” dan temin edilebilir**.	
* 6 ve 7 no’lu kaynaklardan alınmıştır.		
** 8 no’lu kaynaktan alınmıştır.		

SDA (%4) ilk olarak Sabouraud tarafından 1800'lü yıllarda kullanılmıştır. İçindeki yoğun karbonhidrat nedeniyle besiyerinin pH'sı 4.5-5 civarındadır ve bu düşük pH, bakterilerin üremesini engelleyerek besiyerine seçici özellik kazandırır. Ancak daha sonra Emmons ve arkadaşları, yüksek oranda bulunan karbonhidratların bazı mantarlar için de engelleyici olduğunu düşünmüş ve dekstroz oranını %2'ye indirmişlerdir. Böylece besiyeri pH'sı 6.8-7.0'ye yükselmiştir. Ancak bu koşullarda bakteri üremeleri de olacağından, normal floral bölgeden gelen hasta örneklerinin ekiminde çeşitli antimikrobiklerin besiyerlerine eklenmesi gerekir. Otoklava da girilmesi nedeniyle en fazla kullanılan antimikrobik ajanlar kloramfenikol (< 16 µg/mL) ve gentamisindir (5-100 µg/mL). Ancak günümüzde ticari olarak bulunabilen IMA, içeriğindeki kloramfenikol ve besleyici ekstra maddeleriyle daha rahat kullanım alanı bulmaktadır. SDA (%2)'ya kloramfenikolden başka sikloheksimid (0.5 µg/mL) de eklenebilir. Sikloheksimid saprofitik küf mantarlarını inhibe eden bir maddedir. Ancak *C. neoformans*, bazı *Candida* türleri, birçok *Zygomycetes* türü, *Aspergillus fumigatus*, *Trichosporon beigeli*, *Pseudallescheria boydii* gibi hastalık oluşturan mantarları da inhibe edebildiği unutulmamalıdır. Bu nedenle sadece dermatofitlerin klinik örneklerden üretiminde kullanılmaktadır ve "Mycosel" ya da "Mycobiotic" agar şeklinde ticari olarak temin edilebilir (3,4).

BHI ve SABHI agar selektif olmayan zengin besiyerleridir. Özellikle alt solunum yolu örneklerinin ekiminde kullanılmaları uygun olur. Sistemik mikoz şüphesinde ise bu besiyerlerine %5 koyun kanı eklenmesi gerekir. Kanlı besiyerinde üremiş sistemik mikoz etkeni dimorfik bir mantar daha sonra makroskopik ve mikroskopik morfolojisi ve sporlanmasını iyi görmek için kan içermeyen besiyerlerine pasajlanmalıdır (4,5).

Sonuçta BHI agar, IMA ve nötral SDA birçok klinik örneğin ekiminde kullanılan besiyerleridir. Orjinal SDA (%4) artık çok fazla kullanılmamaktadır. Sadece dermatofitlerin tanımlanmasında koloni morfolojileri ve pigment oluşumunu iyi göstermesi açısından tercih edilebilir (6-8).

Primer izolasyon besiyerleri dışında identifikasyonda kullanılan daha birçok farklı besiyerleri vardır. Mısır unlu besiyeri, pirinç unlu besiyeri, "Christensen's" üre agar, "Trichophyton" agar, "Birdseed" agar bazı örneklerdir (9,10). Gerekli

koşullarda bu besiyerlerine primer izolasyondan pasaj yaparak cins ve tür tanımlamalarına gidilir.

### Ekim Plaklarının İnkübasyonu

İnkübasyon, birçok mantar için optimum üreme ısısı olan 30°C'de yapılmalıdır. İnkübasyon süresi mantarlar arasında farklılık gösterebilir. *Zygomycetes* grubu mantarlar 18-24 saat içinde en hızlı üreyen türlerken, bazı sistemik mikoz etkenlerinin üremeleri için dört-altı hafta gibi oldukça uzun sürelere ihtiyaç vardır. Hasta örneklerinde sık karşılaştığımız maya mantarları ve *Aspergillus* türleri genellikle 48-96 saat içinde ürer. Dolayısıyla ön tanı ve direkt mikroskopik incelemenin sonuçlarına göre inkübasyon süreleri tespit edilir. Ekim plakları en az iki günde bir üreme açısından incelenmelidir. Üreme olduktan sonra öncelikle üremenin maya ya da küf olduğuna karar verip, daha sonra uygun identifikasyona gidilmelidir (1,5).

### 2. HASTADA ŞÜPHELENİLEN FUNGAL İNFEKSİYONA KARŞI GELİŞMİŞ SPESİFİK İMMÜN YANITIN GÖSTERİLMESİ

Kompleman birleşme, immün difüzyon, lakteks aglutinasyon, enzim immünassay (EIA) gibi testler fungal antijenlere karşı dolaşan antikorları belirlemek amacıyla en sık kullanılan serolojik yöntemlerdir. Ancak bu yöntemlerden hiçbiri yüksek özgüllük ve duyarlılıkta mantar infeksiyonlarını tanımlayamamaktadır. Tek bir serum örneği ile tanıya ulaşmak, titre çok yüksek olmadıkça mümkün değildir. İki-üç hafta arayla alınan örneklerde dört kat titre artışı infeksiyon lehine bir bulgu olmakla beraber, mantar infeksiyonları genellikle immünolojik olarak baskılanmış kişilerde geliştiğinden yeterli antikor yanıtı olmayıp, yalancı negatiflikler testlerin duyarlılığını düşürmektedir. *Candida* larda sıklıkla görüldüğü gibi, mukoza yüzeylerindeki kolonizasyonlar ise yalancı pozitif sonuçlara yol açarak testlerin özgüllüklerini de ayrıca azaltmaktadır (4). Tablo 3'te hasta serumunda antikor arama çalışmaları ile ilgili bazı bilgiler özetlenmektedir. Bunların büyük bir kısmının ticari kitleri olmayıp, deneysel amaçlarla yapılan çalışmalardan kaynaklanmışlardır (11).

### 3. HASTA ÖRNEKLERİNDE ETKENİN ANTİJENİK YAPISININ GÖSTERİLMESİ

Hasta serumlarında antikor tespitinin olumsuzlukları spesifik fungal antijenlerin aranması gerekli kılmış olup, bugün için kriptomkoz, as-

Tablo 3. Dolaşan Fungal Antikorların Tespiti.

Hastalık	Kullanılan antijenler	Yöntem	Yorum
Kandidoz	Kaba ekstraler	PHA, TP	Antijen iyi karakterize edilmediğinden günümüzde kullanılmamaktadır.
	47 ve 29 kDa sitoplazmik Ag	EIA	Duyarlılık %82, özgüllük %96
	45 ve 48 kDa sitoplazmik Ag	EIA	Duyarlılık %50-55, özgüllük %75-85
	Hücre duvarı mannan Ag	EIA, RIA	Normal sağlıklı kişilerin serumunda bulunduğundan özgüllüğü düşüktür.
Kriptokokoz	Miçelyal faz Ag	InIFA	Duyarlılığı %88, özgüllüğü %95
	Polisakkarid kapsül Ag	InIFA	Antikorlar aktif infeksiyon sırasında değil iyileşme döneminde geliştiğinden tercih edilen bir tanı yolu değildir.
Aspergilloz	Miçel süzöntü Ag, katalaz kimotripsin aktivitesi gösteren Ag, 18 kDa Ag	CIE, ID, KB	Çelişkili sonuçlar çıktığından geçerlilikleri azdır.
Histoplazmoz	Histoplazmin (H ve M Ag)	ID	H ve M Ag'leri oldukça özgüdür ve ID doğru sonuç verir.
	Maya formu Ag	KB	> 8 histoplazmoz düşündürür; > 32 kuvvetli olasılıktır.
Koksidioidomikoz	Miçel formunun ısıtılıp toluen ile muamele edilmesiyle elde edilen Ag	LA	IgM saptaması açısından erken tanıda duyarlı bir testtir. Ancak yalancı pozitif sonuçlar olduğu için diğer testlerle doğrulanmalıdır.
	Isıtılmış koksidioidin	TP, ID, KB, EIA	EIA testinin duyarlılığı %100 olup, diğerlerinden üstündür. Ancak özgüllüğü düşüktür. Bu nedenle EIA tarama testleri olarak önerilmekte, pozitif sonuçların diğer testler ile doğrulanması tavsiye edilmektedir.
Blastomikoz	A antijeni	ID, EIA	ID testinin özgüllüğü %100 olup, tanı koydurucudur. Ancak duyarlılığı düşüktür. Ticari kiti vardır. EIA ile > 32 titrede antikor saptanması kesin hastalığı gösterir. EIA'nın duyarlılığı ID'den biraz daha yüksektir.
Parakoksidi-idomikoz	43 kDa Ag	ID, KB, EIA, Dot blot	KB, ID'ye göre daha başarılı bir testtir. EIA ile kandidoz ve histoplazmozda çapraz reaksiyon görülür. Dot blot ise %100 özgül ve duyarlı bulunduğu için çok ümit verici görülmektedir.

PHA: Pasif hemaglutinasyon, TP: Tüpte presipitasyon, EIA: Enzim immünassay, RIA: Radioimmünassay, InIFA: İndirekt immün floresan antikor, CIE: "Counter" immün elektroforez, ID: İmmün difüzyon, KB: Kompleman birleşme, LA: Lateks aglutinasyon.

pergilloz, kandidoz ve histoplazmozda antijen tarama testleri rutin laboratuvarlara girmiştir.

#### **Kriptokokoz Tanısında *C. neoformans* Kapsül Antijeni Taranması**

*Cryptococcus*'un polisakkarid kapsül antijeni aranır. Tanı değeri yüksektir. Sistemik kriptokokozda bol miktarda salınan polisakkarid kapsül

BOS ve seruma karışmakta ve etkenin mikroskop ve kültür ile belirlenmesinden önce pozitif olarak saptanabilmektedir. Her ne kadar değişik yüzey epitopları nedeniyle serolojik olarak farklı *C. neoformans* izolatları varsa da, tüm serotiplere karşı yeterli düzeyde çapraz reaksiyon nedeniyle testler kullanışlıdır.

Ticari olarak temin edilebilen lateks aglutinasyon ve EIA kitleri bulunmaktadır. Uygun çalışıldığı takdirde, bu kitler ile özgül ve duyarlı sonuçlar almak mümkündür (3).

Uygulamasının kolay olması, hem serum hem BOS örnekleri ile çalışılabilmesi, özel ekipmana ihtiyaç duyulmaması ve çoğu laboratuvar personeli için tekniğin bilinir olması lateks aglutinasyon kitinin avantajları olarak sayılabilir. Okumanın subjektif olması, özgüllük ve duyarlılığı arttırmak için hasta örneklerinin ön işlemlerden geçmesi ise dezavantajlarıdır. Lateks aglutinasyon testinin duyarlılığı %99 civarındadır. Antijen konsantrasyonları düşük olduğu zaman (örneğin; akciğerlerde sınırlı fokal infeksiyonlarda olduğu gibi) ya da çok yüksek olduğunda prozon etkisi ile yalancı negatiflikler olabilir. BOS'un kaynatılarak veya pronaz enzimi ile muamele edilerek ön işlemden geçirilmesi, antijeni bağlayan proteinleri parçalayarak antijen titresini yükseltmekte ve duyarlılığı arttırmaktadır. Bunun ötesinde ön işlem romatoid faktörü parçalayarak yalancı pozitifliği de engellemektedir. Ayrıca, platin özeler de yalancı pozitifliklere sebep olabilmekte, bu nedenle kültür ve antijen tespiti için örneklerin ayrı olması önerilmektedir (12). Önerilere uyulduğu ve ön işlemler yapıldığı zaman özgülük de %99-100 civarında olabilmektedir. Ancak gram-negatif nonfermentatif zor üreyen DF-1 bakterisi ve *T. beigelii* ile oluşan infeksiyonlarda çapraz reaksiyon nedeniyle yalancı pozitiflikler görülebileceği unutulmamalıdır (13).

EIA kitleri sandviç prensibi ile çalışmakta olup; objektif okumanın sağlanması, ön işleme gerek olmaması ve lateks aglutinasyondan daha duyarlı olması açısından avantajlara sahiptir. EIA cihazına gereksinim olması ve kitlerin daha pahalı olması ise dezavantajlarıdır. Prozon olayının olmadığı söylenmekle beraber, 1/20 veya daha yüksek dilüsyonlarda, dilüe olmamış serumlara göre pozitiflik elde edildiğine ait bilgiler bulunmaktadır (3).

### **Aspergilloz Tanısında *Aspergillus* Galaktomannan Antijeni Taranması**

Görülme sıklığı giderek artan ve oldukça yüksek oranda mortal seyreden invaziv aspergillozda, klinik ve radyolojik bulguların spesifik olması ve kültür duyarlılık ve özgülüğünün düşük olması yeni tanı yollarının aranmasına yol açmıştır. Vücut sıvılarında (serumda) galaktomannan antijeninin aranması hızlı bir tanı aracı olarak

gündeme gelmiş ve halen değeri tartışılan bir işlemdir (3). Sandviç prensibi ile çalışan ve ticari olarak temin edilebilen bir EIA kiti bulunmaktadır. Kit, 1 ng/mL düzeyindeki antijen miktarını hasta serumunda tespit edebilir. Çeşitli çalışmalarda duyarlılıklar %50-75 civarında biraz düşük olarak bulunmuş olsa da, tanıda altın standart olan ve histopatolojik olarak biyopsi veya otopsi örneklerinde invazyonun gösterilebildiği olgularda (ispatlanmış aspergilloz) duyarlılığın %90-95 civarında olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla histopatolojik bulgular olmadan yüksek olasılıklı veya muhtemel aspergilloz olgularında duyarlılığın hesaplanmasının doğru olmadığı düşünülmektedir. Ayrıca, fokal infeksiyonlarda da (sinozal aspergilloz gibi) yalancı negatifliklerin olabileceği bildirilmektedir. Özgülük ise birçok çalışmada yüksektir ve %90-95 civarında bulunmuştur. Başta çocuklarda olmak üzere gastrointestinal mukoza zedelenmelerinde, gıdalarla alınan *Aspergillus*'lardan kaynaklanan antijenemilerde, aspergilloma olguları, allerjik bronkopulmoner aspergilloz olguları ve bazı ilaç kullanımlarında yalancı pozitifliklerle karşılaşılabilir. Bu nedenle bir hastanın tek örneğinde pozitiflik olması geçerli olmayıp, birbirini takip eden ve iki-üç gün arayla alınmış en az iki örneğinde pozitiflik olması invaziv aspergilloz açısından anlamlı kabul edilmektedir (14-18).

Galaktomannan antijeninin aranması hastaların takiplerinde de umut verici olarak görülmekte ve antijeneminin ortadan kalkması iyi, devam etmesi ise kötü klinik progresyon ile korele bulunmaktadır.

### **Kandidoz Tanısında Çeşitli Antijenlerin Taranması**

Kandidozlar en sık karşımıza çıkan mantar infeksiyonlarıdır. Yüzeysel kandidozlarda tanı nispeten daha kolay iken, derin kandidozların spesifik klinik ve radyolojik bulguları olmadığından, antijen tarama testleri 1970'li yıllardan bu yana devam etmektedir. Ancak bu çalışmalar çok başarılı olmayıp halen güvenilir, özgül ve duyarlı antijen tarama yöntemi bulunmamakta ve testlerin rutin tanıda kullanılması önerilmektedir (3,5).

Çeşitli antijenik yapıların invaziv kandidozda ayırt edici tanı değerleri araştırılmış olup, üzerinde en fazla uğraş verilen hücre duvarı mannan ve mannoprotein antijenleri olmuştur. Sağlıklı bireylerde mannan antijenlerinin anti-Can-

*did* antikorları ile hızla serumdan uzaklaştırılacağı düşünülmekle beraber, immünkompromize hastada teorik olarak yeterli düzeyde antikor yapılamayacağından test umut verici görülmüştür (19). Ancak tek bir serumdan elde edilen sonuca göre kesin karara varmak doğru bir yaklaşım değildir. Hasta serumlarında mannan antijenini ölçen EIA kitleri ticari olarak mevcut olup, duyarlılığın %40, özgüllüğün %53 civarında olduğu söylenmektedir (20). Yalancı negatifliklerin nedeni mannanın hızla serumdan uzaklaşması olarak açıklanmakta ve ardışık örneklerin çalışılması önerilmektedir. Yalancı pozitifliklerin ise kolonizasyon durumlarında ortaya çıktığı varsayılmaktadır.

Hücre duvarı antijenlerinin yanı sıra sitoplazmik antijenlerin de invaziv infeksiyonlarda tanı koydurucu olabileceği düşünülmüştür. Hücre duvarı antijenleri ile kolonizasyon durumunda da karşılaşmak mümkün iken, sitoplazmik antijenlerin sadece invazyonda bulunması gerektiği varsayılarak çeşitli testler geliştirilmiştir. Bunlardan enolaz aranmasının, çok-merkezli bir çalışmada %86 duyarlı, %96 özgül olduğu saptanmış, ilerisi için umut verici bulunmuş ve hatta kan kültürlerinin önüne geçeceği dahi savunulmuştur. Ancak bu test için henüz ticari bir kit bulunmamaktadır (21-23).

Uzunca bir süre kullanılan lateks aglutinasyon (CAND-TEC) testinin özgüllük ve duyarlılığının düşük olduğu ve kullanımının yararsız olduğu artık kabul edilmektedir (22).

#### **Histoplazmoz Tanısında Antijen Taranması**

İlk kez 1986 yılında *H. capsulatum*'un ısıya dayanıklı polisakkarid bir antijenini serum, idrar ve bronkoalveoler lavaj (BAL)'da belirleyen radioimmünassay (RIA) kiti geliştirilmiştir (24). Daha sonra çeşitli yayınlarda bu kitle ilgili deneyimler aktarılmıştır. Dissemine infeksiyonlarda antijenemi en yüksek olarak (%90-95) saptanırken, kronik sınırlı ve lokalize olgularda daha düşük (%40-45) bulunmuştur (25). Antijenüri dissemine olgularda %85-90 civarındadır ve hastalığın gidişatını izlemede yararlıdır. Tedavi ile antijenüri düşerken, hastalığın relapsları ile tekrar yükselir (26). BAL'larda ise daha düşük oranlarda (%70) antijen tespit edilmiştir (27). Ancak antijen tespitinin özgül olmadığı anlaşılmış ve histoplazmoz olguları dışında blastomikoz, parakoksidioidomikoz, koksidioidomikoz ve *Penicillium marnettei* infeksiyonlarında da çapraz reaksiyon nedeniyle

pozitiflik olduğu görülmüştür (28). Bununla beraber, tüm bu olgularda tedavi şemaları aynı olduğu için çapraz reaksiyonun testin değerini düşürmediği düşünülmektedir.

EIA formatında, 69-70 kDa'luk antijene karşı geliştirilmiş monoklonal antikorların tespiti için yeni bir test geliştirilmiştir. Bu test daha başarılı olup, sağlıklı kontrollerde özgüllüğü %98 olarak bulunmuştur. Ancak ticari olarak temin etmek mümkün olmayıp, *Histoplasma* referans laboratuvarından temin edilebilir (29).

#### **4. HASTA ÖRNEKLERİNDE ETKENİN METABOLİTLERİNİN ve YAPISAL KOMPONENTLERİNİN GÖSTERİLMESİ**

Mantara özel metabolitlerin gösterilmesi tanı ve tedavinin izlenmesinde oldukça yararlı olmakla beraber, ticari olarak temin edilebilecek hiçbir standart kantitatif kit bulunmamaktadır. D-arabinitol ve D-mannitol mantarlara ait iki poliol olup, infeksiyonlarda in vivo olarak ortaya çıkarlar. Bunların belirlenmesi tanıya destek olduğu gibi; konsantrasyonlarının azalması mantar metabolizmasının yavaşlaması ile iyi, yükselmesi ise mantar metabolizmasının hızlanması ile kötü hastalık seyrini gösterir (30).

D-arabinitol; *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* ve *Candida pseudotropicalis* tarafından oluşturulan, mantar spesifik bir metabolittir. İdrar örneklerinde D-arabinitol/L-arabinitol oranı belirlenir. Bunun için gaz-likid kromatografi ile her iki izomer ayrılır ve miktarları tespit edilerek oran belirlenir. Oranın yükselmesi invaziv infeksiyon lehine bir bulgudur. %88 duyarlı bir yöntemdir (31). Yenidoğanlar dahil olmak üzere birçok hasta grubunda çalışmalar yapılmıştır (32,33). Bir başka yaklaşım ise D-arabinitol/kreatinin oranının belirlenmesidir. D-arabinitol, bu sefer izomere spesifik enzimatik bir deneyle kantite edilir ve kreatinin ile oranlanır. Bu yol ile yapılan çalışmalarda duyarlılık %70, özgüllük %86 olarak bulunmuştur (34).

D-mannitol, bazı mantarlar tarafından oluşturulan diğer bir metabolittir. *C. neoformans* menenjitlerinde tedavinin izlenmesinde iyi bir parametredir (35). Klonlanmış olan D-mannitol dehidrogenaz enzimi, laboratuvar deneylerinde kullanılan enzimidir (36).

Bir diğer tanı yolu ise, mantar hücre duvarı komponentlerinden  $\beta$ -D-glukanın serumda tanınmasıdır. Ancak bu komponent tek bir mantar



türü için spesifik olmayıp *Aspergillus*, *Candida* ve *Cryptococcus* türleri için kullanılabilir. Deneyin esası Limulus koagülasyonuna dayanmaktadır. Kromojenik son noktası olan ve spektrofotometrik olarak okunan bir testtir. Test kantitatif olup, 1 pg'a kadar olan miktarları ölçebilir. Kandidemilerde testin duyarlılığı %84.4-100 civarında, özgüllüğü ise %88 olarak bulunmuştur (37). Yüksek riskli hastalardaki *Candida* infeksiyonlarında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile karşılaştırılmalı çalışmalarda  $\beta$ -D-glukan testi %75 duyarlı bulunurken, PCR %54 duyarlı bulunmuştur (38).

Hasta örneklerinde metabolitler ve yapısal komponentlere dayanarak yapılmaya çalışılan laboratuvar tanı, halen kolay olmayıp her koşulda yapılamaz. Bunun ötesinde ümit verici sonuçlar olsa da, standart ve tekrarlanabilirlik az olduğundan rutin için bu testler önerilemez.

### 5. HASTA ÖRNEKLERİNDE ETKENİN SPESİFİK NÜKLEİK ASİTLERİNİN GÖSTERİLMESİ

Hasta ve doku örneklerinin mikroskopik incelemesi mantar infeksiyonlarının tanısında oldukça özgül ve bu nedenle çok önemli olmakla beraber, duyarlılığın düşük olması farklı tanı yollarını gerekli kılmıştır. Klinik örneklerin ekimi ve etkenin üretilerek gösterilmesi daha duyarlı olmasa da, mantarlar geç üreyen mikroorganizmalar olduğundan üremenin beklenmesi zaman kaybına yol açmaktadır. Oysa bağışıklığı bozuk hastalarda mantar infeksiyonları aniden başlar, hızlı seyir gösterir ve tedavi edilmezse mortal sonuçlanır. Bu tür hastalarda antikor yanıtı da iyi olmadığından, serolojik testlerin başarısı ne yazık ki düşüktür. Antijen ve metabolit tarayan testler ümit verici olmakla beraber, altın standartta bir test henüz geliştirilememiştir. Dolayısıyla nükleik asit tespitine dayalı tanı yolları gündeme gelmiş, daha çok yeni olmakla beraber bazı sonuçlar alınmaya başlanmıştır (3).

Nükleik asit tespitine dayalı yöntemleri kullanmadan önce mutlaka amplifikasyonun yapılması gerekir. Bu PCR ya da başka bir yolla olabilir. Mantar infeksiyonlarının tanısında önemli bir hasta örneği olan solunum yolu örnekleri ne yazık ki birçok mantar türü ve bakterilerle karışık olan örneklerdir. Dolayısıyla mantar nükleik asitlerini yıkabilecek DNaz ve RNaz'ın bol olabileceği bu örneklerden doğru amplifikasyon kolay değildir (3). Ulaşılması gereken hedef, doğru konsantrasyon ve saflaştırmayı sağlamaktır. Ste-

ril vücut sıvılarında ise özellikle küf mantarları oldukça seyrek bulunur. Bununla beraber, çalışmalar kandidoz ve aspergilloz tanısında yoğunluk kazanmıştır. En heyecan verici amplifikasyon sonuçları "real-time PCR" ile elde edilmiştir. Bu yol ile aspergilloz tanısında oldukça önemli gelişmeler vardır (39,40). Ancak çalışmalar araştırma programları olan akademik merkezlerde sınırlı kalmıştır. Ayrıca, maliyet oldukça yüksektir. Duyarlılığı arttıracak ve maliyeti düşürecek birçok çalışmanın daha yapılması gereklidir. Nükleik asit belirlenmesinin gelecekte primer tanı yolu olacağı tahmin edilmektedir (3).

### SONUÇ

Mantar infeksiyonları, hiçbir spesifik bulgusu olmaması nedeniyle tanısı en zor infeksiyonlardan biridir. Yukarıda bahsedildiği gibi birçok tanı yöntemi olmakla beraber hiçbirinin duyarlılık ve özgüllükleri tam olmayıp, eksiklikleri vardır. Halen mikroskopik inceleme ve kültürü elimine eden bir yöntem bulunmamaktadır. Ancak mikroskopik inceleme ve kültürdeki üremelerin değerlendirilmesi deneyim gerektirmekte olup, bireysel farklılıklar sonuçlara yansımaktadır. Dolayısıyla örneklerin alınmasından ekim ve değerlendirme işlemlerine kadar her basamakta çok dikkatli ve titiz olmak gerekmektedir.

### KAYNAKLAR

1. Hoog GS, Gene GJ, Figueras MJ. Atlas of Clinical Fungi. 2<sup>nd</sup> ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000:1-21.
2. Fromtling RA, Rhodes JC, Dixon DM. Taxonomy, classification, and morphology of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Tenover FC, White O (eds). Manual of Clinical Microbiology. 8<sup>th</sup> ed. Washington DC: ASM Press, 2003:1653-8.
3. Merz WG, Roberts GD. Algorithms for detection and identification of fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Tenover FC, White O (eds). Manual of Clinical Microbiology. 8<sup>th</sup> ed. Washington DC: ASM Press, 2003:1668-85.
4. McGinnis MR, Tilton CR. General approaches to isolation and identification of clinically significant fungi. In: Howard BJ, Keiser JF, Weissfeld AS, Smith TF, Tilton RC (eds). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis, Baltimore, Boston: Mosby, 1994:561-76.
5. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992:15-35.
6. Hageage GJ, Harrington BJ. Use of calcofluor white in clinical microbiology. Lab Med 1984;15:109-12.

7. Kim YK, Parulekar S, Yu PK, Pisani RJ, Smith TF, Anhalt JP. Evaluation of calcofluor white stain for detection of *Pneumocystis carinii*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990;13:307-10.
8. Ng L, Virani NA, Chaisson RE, et al. Rapid detection of *Pneumocystis carinii* using a direct fluorescent monoclonal antibody stain. *J Clin Microbiol* 1990;28:2228-33.
9. Kane J. Conversion of *Blastomyces dermatitidis* to the yeast form at 37°C and 26°C. *J Clin Microbiol* 1984;20:594-8.
10. McGinnis MR, Rinaldi MG, Winn R. Emerging pathogens of phaeoophycomycosis: The genera *Bipolaris* and *Exserohilum*. *J Clin Microbiol* 1986;24:250-7.
11. Çerikçioğlu N. Mantar infeksiyonlarında serolojik ve deri testleri. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999:1145-53.
12. Heelan JS, Corpus L, Kessimian N. False positive reactions in the latex agglutination test for *Cryptococcus neoformans* antigen. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1260-1.
13. Kaufman L, Reiss E. Serodiagnosis of fungal diseases. In: Rose NR, DeMacario EC, Fahey JL, Friedman H, Penn GM (eds). *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 4<sup>th</sup> ed. Washington DC: ASM, 1992:506-28.
14. Maertens J, Eldere J, Verhaegen J, Verbeken E, Verschakelen J, Boogaerts M. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *J Infect Dis* 2002;186:1297-306.
15. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, 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.
16. Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck 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.
17. Lombardi G, Farina C, Andreoni S, et al. Multicenter evaluation of an enzyme immunoassay (*Platelia Aspergillus*) for the detection of *Aspergillus* antigen in serum. *Mycopathologia* 2002;155:129-33.
18. Pinel C, Fricker-Hidalgo H, Lebeau B, et al. Detection of circulating *Aspergillus fumigatus* galactomannan: Value and limits of the Platelia test for the diagnosis invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2003;41:2184-6.
19. DeBernardis F, Girmenia C, Boccanera M, Adrian D, Martino P, Cassone A. Use of a monoclonal antibody in a dot immunobinding assay for detection of a circulating mannoprotein of *Candida* spp. in neutropenic patients with invasive candidiasis. *J Clin Microbiol* 1993;31:3142-6.
20. Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, Mathieu D, Fruit J, Poulain D. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: Useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 1999;37:1510-7.
21. Gutierrez J, Maroto C, Piedrola G, Martin E, Perez JA. Circulating *Candida* antigens and antibodies: Useful markers of candidemia. *J Clin Microbiol* 1993;31:2550-2.
22. Mitsutake K, Miyazaki T, Tashiro T, et al. Enolase antigen, mannan antigen, Cand-Tec antigen, and  $\beta$ -glucan in patients with candidemia. *J Clin Microbiol* 1996;34:1918-21.
23. Walse TJ, Hathorn JW, Sobel JD, et al. Detection of circulating *Candida* enolase by immunoassay in patients with cancer and candidiasis. *N Engl J Med* 1991;324:1026-31.
24. Wheat LJ, Kohler RB, Tewari RP, Garten M, French ML. Significance of histoplasma antigen in the cerebrospinal fluid of patients with meningitis. *Arch Intern Med* 1989;149:302-4.
25. Williams B, Fojtasek M, Connolly-Stringfield P, Wheat LS. Diagnosis of histoplasmosis by antigen detection during an outbreak in Indianapolis, IN. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1205-8.
26. Wheat LJ, Connolly-Stringfield P, Blair R, Connolly K, Garringer T, Katz BP. Histoplasmosis relapse in patients with AIDS: Detection using *Histoplasma capsulatum* variety capsulatum antigen levels. *Ann Intern Med* 1991;115: 936-41.
27. Wheat LJ, Connolly-Stringfield P, Williams B, Connolly K, Bartlett M, Durkin M. Diagnosis of histoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome by detection of *Histoplasma capsulatum* polysaccharide antigen in bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:1421-4.
28. Wheat J, Wheat H, Connolly P, et al. Cross-reactivity in *Histoplasma capsulatum* variety capsulatum antigen assays of urine samples from patients with endemic mycoses. *Clin Infect Dis* 1997;24:1169-71.
29. Gomez BL, Figueroa JI, Hamilton AJ, et al. Development of a novel antigen detection test for histoplasmosis. *J Clin Microbiol* 1997;35:2618-22.
30. Walsh TJ, Merz WG, Lee JW, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis by rapid enzymatic detection of D-arabinitol. *Am J Med* 1995;99:164-72.
31. Christensson B, Wiebe T, Pehrson C, Larsson L. Diagnosis of invasive candidiasis in neutropenic children with cancer by determination of D-arabinitol/L-arabinitol ratios in urine. *J Clin Microbiol* 1997;35:636-40.
32. Salonen JH, Rimpilainen M, Lehtonen L, Lehtonen OP, Nikoskelainen J. Measurement of the D-arabinitol/L-arabinitol ratio in urine of neutropenic patients treated empirically with amphotericin B. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:179-84.

33. Sigmundsdottir G, Christensson B, Bjorklund LJ, Hakansson K, Pehrson C, Larsson L. Urine D-arabinitol/L-arabinitol ratio in diagnosis of invasive candidiasis in newborn infants. *J Clin Microbiol* 2000;38:3039-42.
34. Walse TJ, Merz WG, Lee JW, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis by rapid enzymatic detection of D-arabinitol. *Am J Med* 1995;99:164-72.
35. Wong B, Perfect JR, Beggs S, Wright KA. Production of the hexitol D-mannitol by *Cryptococcus neoformans* in vitro and in rabbits with experimental meningitis. *Infect Immun* 1990;58:1664-70.
36. Perfect JR, Rude TH, Wong B, Flynn T, Chaturvedi V, Niehaus W. Identification of a *Cryptococcus neoformans* gene that directs expression of the cryptic *Saccharomyces cerevisiae* mannitol dehydrogenase gene. *J Bacteriol* 1996;178:5257-61.
37. Obayashi T, Yoshida M, Mori T, et al. Plasma (1-3)  $\beta$ -D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet* 1995;345:17-20.
38. Mori T, Matsumura M. Clinical evaluation of diagnostic methods using plasma and/or serum for three mycoses: Aspergillosis, candidosis, and pneumocystosis. *Jpn J Med Mycology* 1999;40:223-30.
39. Buchheidt D, Baust C, Skladny H, et al. Detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples from immunocompromised patients by means of 2-step polymerase chain reaction: Clinical results. *Clin Infect Dis* 2001;33:428-35.
40. Costa CD, Vidaud D, Olivi M, Bart-Delabesse E, Vidaud M, Bretagne S. Development of two real-time quantitative TaqMan PCR assays to detect circulating *Aspergillus fumigatus* DNA in serum. *J Microbiol Methods* 2001;44:263-9.

#### YAZIŞMA ADRESİ

Prof. Dr. Beyza ENER

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon

Hastalıkları Anabilim Dalı

BURSA

Makalenin Geliş Tarihi: 10.08.2007 Kabul Tarihi: 15.08.2007