

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

FEBRİL NÖTROPENİSİ OLAN ÇOCUK
HASTALARDA İNVAZİV FUNGAL ENFEKSİYONLARIN
ERKEN TEŞHİSİNDE 1,3-β-D-GLUKAN ÖLÇÜMÜNÜN
YARARI

Dr.SERAP REYHANİOĞLU

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2011

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

FEBRİL NÖTROPENİSİ OLAN ÇOCUK
HASTALARDA İNVAZİV FUNGAL ENFEKSİYONLARIN
ERKEN TEŞHİSİNDE 1,3-β-D-GLUKAN ÖLÇÜMÜNÜN
YARARI

Dr.SERAP REYHANİOĞLU

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Necat A. AKGÜN

ESKİŞEHİR
2011

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Serap REYHANIÖĞLU'na ait "Febril nötropeni olan çocuk hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların erken teşhisinde 1,3-β-D-glukan ölçümünün yararı" adlı çalışma jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 06.06.2011

Jüri Başkanı Prof. Dr. Necat A. AKGÜN
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD

Üye Prof. Dr. Özcan BÖR
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD

Üye Doç. Dr. Tefik DEMİR
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun.....
Tarih ve.....Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Necmi ATA
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bana bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren tüm hocalarıma, tez aşamasında katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Necat A. AKGÜN'e, destekleri için Prof. Dr. Yurdanur AKGÜN'e , Prof. Dr. Özcan BÖR'e ve tezimin her aşamasında yaptığı önemli yardımları için Doç. Dr. E. Çağrı DİNLEYİCİ'ye teşekkür ederim.

ÖZET

Reyhanoğlu, S. Febril nötropenisi olan çocuk hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların erken teşhisinde 1,3-β-D-glukan düzeyi ölçümünün yararı. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011. İnvaziv fungal enfeksiyonlar immünsüprese hastalarda önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Çalışmamızda invaziv fungal enfeksiyonların teşhisinde serum galaktomannan ve 1,3-β-D-glukan ölçümünün yararını değerlendirmeyi amaçladık. Hematolojik malignensi veya aplastik anemi nedeniyle takip edilen 12 hastada 18 febril nötropeni atağı çalışmaya dahil edildi. Atakların ilk gününde tam kan sayımı, CRP, serum galaktomannan ve 1,3-β-D-glukan çalışıldı. Serum galaktomannan düzeyi febril nötropenin 3. gününde ve 1,3-β-D-glukan düzeyi de 5. günde tekrar çalışıldı. Hastaların ateş süresi, febril nötropeni süresince kullanılan tedavileri kaydedildi. İnvaziv fungal hastalık tanısı EORTC/MSG tanı kriterlerine göre konuldu. Çalışmaya alınan atakların etyolojisinde 5 atakta invaziv fungal hastalık, 3 tanesinde bakteriyel enfeksiyon saptandı. 10 atakta ise etyoloji gösterilemediğinden idiyopatik febril nötropeni şeklinde değerlendirildi. Veriler analiz edilirken ataklar invaziv fungal enfeksiyonu olanlar ve olmayanlar olarak iki gruba ayrıldı. CRP düzeyi invaziv fungal enfeksiyonu olan ataklarda anlamlı olarak yüksek bulundu. Ateş süresi de invaziv fungal enfeksiyonu olan ataklarda ileri derecede anlamlı olarak uzundu. Gruplar arasında 1. ve 5. gün çalışılan galaktomannan düzeyleri açısından fark görülmedi. Galaktomannan testinin sensitivitesi %80, spesifitesi % 30 bulundu ve %69 oranında yanlış pozitiflik saptandı. İnvaziv fungal enfeksiyonu olan ataklarda 1. gün 1,3-β-D-glukan düzeyi olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek saptandı. 5. günde çalışılan 1,3-β-D-glukan düzeyi açısından gruplar arasında fark yoktu. 1,3-β-D-glukan testinin sensitivitesi %100, spesifitesi %0 saptandı ve %72,2 oranında yanlış pozitiflik görüldü. Sonuç olarak; febril nötropenisi olan çocuk hastalarda galaktomannan ve 1,3-β-D-glukan testlerinde yüksek yanlış pozitiflik olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: febril nötropeni, çocuk, invaziv fungal enfeksiyon, 1,3-β-D-glukan, galaktomannan

ABSTRACT

Reyhanoğlu, S. Value of 1,3-β-D-glucan testing in early diagnosis of invasive fungal infections in febrile neutropenic pediatric patients. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics. Thesis of Specialization in Medicine, Eskisehir, 2011. Invasive fungal infections (IFI) are major causes of mortality and morbidity in immunocompromised patients. In this study the aim was to evaluate diagnostic potential of serum galactomannan and 1,3-β-D-glucan in IFIs. We analyzed 18 febrile neutropenic episodes in 12 patients with hematological malignancy and aplastic anemia. Serum samples were obtained from all patients on the first day of episodes for complete blood count, C-reactive protein, serum galactomannan and 1,3-β-D-glucan. Patients were tested again for galactomannan on the third day and for 1,3-β-D-glucan on the fifth day. Duration and treatment of febrile neutropenic episodes were recorded. The diagnosis of IFIs was made according to EORTC/MSG criteria. 5 of episodes defined as IFI while 3 episodes were bacterial infections. 10 episodes defined as idiopathic febrile neutropenia with no evidence of any etiology. Febrile neutropenia episodes divided into two groups, IFI and non-IFI group. C-reactive protein was higher in IFI group comparing non-IFI. Fever persisted significantly in IFI group compared to non-IFI. There was no difference between groups on first and fifth day galactomannan levels. The sensitivity and specificity of galactomannan was 80% and 30%. False-positive results observed in 69% of episodes. First day 1,3-β-D-glucan levels were significantly higher in IFI group. No difference was for fifth day 1,3-β-D-glucan levels. The sensitivity, specificity and false positivity rate of 1,3-β-D-glucan testing was 100%, 0% and 72,2%. In conclusion; galactomannan and 1,3-β-D-glucan tests have high false-positivity rates in febrile neutropenic pediatric patients.

Key Words: febrile neutropenia, children, invasive fungal infection, 1,3-β-D-glucan, galactomannan

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hücreyel Savunma Mekanizmaları	4
2.1.a. Fagositik Hücreler	4
2.1.b. Nötrofilik Granülositler	4
2.2. Malignite Hastalarının Doğal Savunma Mekanizmalarında Bozukluklar	6
2.3. Ateş	7
2.4. Febril Nötropeni	8
2.4.a. Tanımlar	8
2.4.b. Febril Nötropenide Etkenler	8
2.4.c. Febril Nötropeniye Yaklaşım	11
2.5. İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar	18
2.5.a. Tanımlamalar	19
2.5.b. İnvaziv Fungal Enfeksiyonların Tanı Yöntemleri	24
2.5.c. İnvaziv Fungal Enfeksiyonlarda Klinik Tablolar ve Etkenler	26
2.6.a. Galaktomannan	41
2.6.b. Galaktomannanın İnvaziv Aspergillozis Tanısındaki Rolü	45
2.7.a. 1,3-β-D-glukan	48
2.7.b. İnvaziv Fungal Enfeksiyonların Tanısında 1,3-β-D-glukan'ın Rolü	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM	56
4. BULGULAR	59
5. TARTIŞMA	66

	Sayfa
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

AML	Akut miyeloid lösemi
ALL	Akut lenfoblastik lösemi
BAL	Bronkoalveolar lavaj
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BG	1,3- β -D-glukan
BT	Bilgisayarlı tomografi
CRP	C-reaktif protein
DNA	Deoksiribonükleik asit
EORTC/ MSG	Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonunun İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar Çalışma Grubu ve Ulusal Allerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsünün Mikozlar Çalışma grubu
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
Max	Maksimum
Min	Minimum
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NPV	Negatif prediktif değer
Ort	Ortalama
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PPV	Pozitif prediktif değer
RNA	Ribonükleik asit
SD	Standart deviasyon
TMP-SMX	Trimetoprim-sulfametaksazol

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Febril Nötropenide Başlangıç Tedavisi	15
2.2. Başlangıç tedavisiyle üç-beş günde ateşi düşen hastaya yaklaşım	16
2.3. Başlangıç tedavisiyle üç-beş gün içinde ateşi düşmeyen ve ateş sebebi bilinmeyen hastaya yaklaşım	17
2.4. Çeşitli klinik durumlara göre antibiyotik tedavisinin süresi	18
2.5. Aspergillozis patogenezi	30
2.6. <i>Aspergillus fumigatus</i> pnömonisinde yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi	32
2.7. <i>Aspergillus fumigatus</i>	33
2.8. <i>Pneumocystis jirovecii</i> pnömonisinde akciğer röntgeni	35
2.9. <i>Pneumocystis jirovecii</i> pnömonisinde yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi	36
2.10. <i>Pneumocystis jirovecii</i> pnömonisinde BAL sıvısında mikroskopik inceleme	37
2.11. Galaktomannan enzim immünoassay testinin mekanizması	43
2.12. 1,3-β-D-glukan testlerinin mekanizması	49

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Akut lösemili hastalarda enfeksiyona Yatkınlık Nedenleri	7
2.2. Nötropenik kanser hastalarında en sık izole edilen mikroorganizmalar	9
2.3. Febril nötropenik hastalarda risk faktörleri	14
2.4. Glikopeptid içeren kombine tedavi kullanılması gereken durumlar	14
2.5. Endemik mikozlar hariç kanıtlanmış invaziv fungal hastalık kriterleri	20
2.6. Endemik mikozlar hariç muhtemel invaziv fungal hastalık kriterleri	21
2.7. Endemik mikozların tanı kriterleri	23
2.8. İnvaziv aspergillozis için risk faktörleri	28
2.9. Yapısında galaktomannan bulunan mantarlar	44
2.10. Serum 1,3-β-D-glukan'ın tanıda kullanılabileceği fungal etkenler	49
2.11. 1,3-β-D-glukan'ın yanlış pozitif saptandığı durumlar	50
4.1. Hastaların cinsiyete göre dağılımları	59
4.2. Hastaların primer tanıları	59
4.3. Febril nötropeni ataklarının etyolojisi	60
4.4. Febril nötropeni ataklarında ateş süresi ve laboratuvar verileri	61
4.5. Febril nötropeni atakları sırasında kullanılan antibiyotik sayısı	61
4.6. Febril nötropeni atakları sırasında 1,3-β-D-glukan ve galaktomannan düzeyleri	62
4.7. Grupların ateş süresi ve laboratuvar verilerinin karşılaştırılması	63
4.8. Grupların 1,3-β-D-glukan ve galaktomannan düzeylerinin karşılaştırılması	64
4.9. Galaktomannan ve 1,3-β-D-glukan testlerinin sensitivite, spesifite ve negatif, pozitif prediktif değerleri ve yanlış pozitiflik oranları	65

1.GİRİŞ

Fırsatçı invaziv fungal enfeksiyonlar immünsüprese hastalarda en önemli mortalite ve morbidite nedenidir (1). Son yıllarda hem malignite hastalarının sayısında hem de bu hasta grubunda görülen invaziv fungal enfeksiyonların insidansında artış olmuştur. Bu enfeksiyonlardaki artış daha agresif kemoterapi protokollerinin uygulanmasıyla sağkalımın uzaması ve invaziv fungal hastalık riski taşıyan hasta grubunun artışına bağlıdır (2).

Literatürdeki yayınlar daha çok yetişkin immünsüprese hastaları kapsadığından çocuk hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların tanı ve tedavisiyle ilgili bilgiler daha sınırlıdır. Çocuk hastalar epidemiyoloji, tanısal yaklaşımlar, antifungal ilaçların farmakokinetiği ve yan etkileri açısından yetişkinlerden farklılık gösterir. Tüm bu farklılıklar immünsüprese çocuk hastalarda invaziv fungal hastalık tanı ve tedavi stratejilerini etkilemektedir.

İmmünsüprese çocuk hastalarda invaziv fungal enfeksiyona yol açan etkenler *Zygomycetes spp.*, *Fusarium spp.*, *Scedosporium spp.*, *Trichosporon spp.*, *Pneumocystis jirovecii*, *Cryptococcus spp.*, *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* ve endemik mikoz etkenleri olarak sıralanabilir. Ancak yetişkinlerde olduğu gibi çocuk hastalarda da invaziv fungal enfeksiyonlar en sık *Candida spp.* ve *Aspergillus spp.* 'a bağlıdır (3).

Çocuk hastalarda altta yatan hastalığa göre sınıflama yapıldığında akut lenfoblastik lösemide (ALL) %21, akut miyeloid lösemide (AML) %15 ve kök hücre nakli yapılanlarda %25 oranında invaziv fungal enfeksiyon görülmektedir (4). Toplamda bakteriyel enfeksiyonlar fungal enfeksiyonlardan daha sık olmasına rağmen fungal enfeksiyonlara bağlı mortalite bakteriyel enfeksiyonlara oranla belirgin olarak yüksektir (3). AML'li çocuk hastaların enfeksiyon nedenli mortalitesinin %41 *Aspergillus spp.*'a , %25.9 *Candida spp.*'a ve %15.5 α -hemolitik streptokoklara bağlı olduğu bildirilmiştir (5). İnvaziv aspergillozis çocuk hasta grubunda yetişkinlere oranla daha yüksek mortaliteyle seyretmektedir. Farklı çalışmalarda nötropenik çocuk hastalarda invaziv aspergillozisin mortalitesinin % 52.5-87.5 arasında değiştiği bildirilmektedir (6). Benzer şekilde invaziv kandidiyazisin çocuk immünsüprese hastalardaki mortalitesi farklı çalışmalarda %20-48 arasında değişkenlik göstermektedir (7). Yine yetişkinlere oranla zigomikoz

da muhtemelen daha sık disseminasyon görülmesi nedeniyle çocuk hastalarda daha yüksek mortaliteyle seyretmektedir (8).

İnvaziv fungal enfeksiyonlarla savaşta en önemli faktör antifungal tedavi ihtiyacı olan hastaların enfeksiyonun erken aşamalarında saptanabilmesidir. Bu nedenle invaziv fungal hastalık tanısında yüksek performanslı tanı yöntemlerine ihtiyaç vardır (3). Tanıdaki gecikme mortalitenin en önemli nedenlerindedir. Sadece klinik bulgularla tanı koymak zor olduğundan non invaziv tanı yöntemlerinden faydalanılır, ancak radyolojik incelemede yetişkinlerden farklı olarak çocuk hastalarda aspergillozise özgü radyolojik bulgular daha seyrek görülmektedir. Serumda bulunan belirteçler açısından ise yetişkin hastalarda kullanılan *Aspergillus* polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) çocuk hastalarda çok daha az duyarlıdır (6). Diğer fungal patojenler için ise; kültürde üretilme oranı düşük olduğu için ve direkt histopatolojik tanı koyabilmek için gerekli doku ve vücut sıvılarının elde edilmesi için gereken invaziv prosedürlerin çoğu zaman koagülasyon bozuklukları nedeniyle uygulanamaması çocuk hasta grubunda invaziv fungal enfeksiyon tanısının gecikmesine yol açmaktadır.

İnvaziv aspergillozis tanısında yetişkin hastalarda yaygın olarak kullanılan serum galaktomannan ölçümünün sensitivitesi farklı çalışmalarda %71-100 ve spesifitesi de %85-100 arasında değerlerde rapor edilmiştir (9). Çocuk hastalarda ise bu testle ilgili az sayıda çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda sensitivite ve spesifitenin sırasıyla %32-79 ve %61-100 arasında değiştiği ve %10-44 oranında yanlış pozitiflik görülebildiği bildirilmiştir (3, 10-15).

Günümüzde invaziv fungal enfeksiyonların non invaziv tanı yöntemlerinin yetersiz olduğu söylenebilir. Bu ihtiyacı karşılamak üzere yetişkin hastalarda serum 1,3-β-D-glukan (BG) ölçümü kullanılmaya başlanmıştır. Yetişkin hasta grubunda yapılmış bir çok çalışmayla bu testin güvenilirliği sınanmış ve serum galaktomannan ölçümüne ek olarak, Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonunun İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar Çalışma Grubu ve Ulusal Allerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsünün Mikozlar Çalışma grubunun (EORTC/MSG) 2008 yılında revize edilen invaziv fungal hastalıkların tanı kriterlerine eklenmiştir. Ancak invaziv fungal enfeksiyonu olan çocuk hastalarda BG ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Enfekte olmayan çocuk hastalarda bazal BG düzeyinin yetişkin olgulara göre daha

yüksek olduğu ifade edilmiştir (16). Ayrıca *Candida spp.* kolonizasyonunda BG'nin yüksek oranda yanlış pozitif olduğuna dikkat çekilmiştir (2). İki farklı çalışmada invaziv fungal enfeksiyon tanısı almış çocuk hastalarda serumda BG'nin pozitifleştiği bildirilmiştir. (17, 18).

Çalışmamızın amacı çocuk hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların erken teşhisinde iki noninvaziv tanı yönteminin -galaktomannan ve BG - kullanılabilirliğini incelemek ve bu konuda literatüre katkıda bulunmaktır. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız ülkemizde sadece çocuk hastalarda BG ölçümünün yapıldığı ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hücresel Savunma Mekanizmaları

Mikroorganizmalarla karşılaşmada ilk olarak aktive olan sistem doğal savunma sistemidir. Aynı etkenle ikinci karşılaşmada ise edinsel savunma sistemi devreye girer. Doğuştan itibaren var olan ve fiziksel bariyerler, hücresel savunma sistemi ve sıvısal savunma sistemi olmak üzere üç ana bölümden oluşan doğal savunma sistemi invaziv fungal enfeksiyonlarla savaşta anahtar rol oynamaktadır. Cilt ve mukozal bariyerler, fagositik sistem, kompleman sistemi, akut faz reaktanları, sitokin, kemokinler ve çeşitli proteolitik enzimler doğal savunma sisteminin elemanlarıdır. Edinsel savunma mekanizmaları ise T ve B lenfositler ve antikordardan oluşur ve etkene spesifik savunma sağlarlar (19).

2.1.a. Fagositik Hücreler

Fagositik hücreler granülositik seri hücreleri (nötrofilik granülositler ve eozinofilik granülositler) ve mononükleer fagositlerden oluşur. Vücuda giren mikroorganizmalar dendritik hücreler , polimorfonükleer nötrofiller ve makrofajlar gibi bir çeşit fagositik hücreler tarafından fagosit edilir ve öldürülür. Makrofajlar tüm vücut sıvılarında bulunurken polimorfonükleer nötrofiller ve monositler kanda ve lenf kanallarında dolaşır. Bir mikroorganizma algılandığında kemokinler gibi kemotaktik ajanlar sekrete edilir. Bu ajanlar dokulardan fagositik hücrelerin enfeksiyon bölgesine göçüne yol açarak çeşitli derecelerde inflamasyon oluşmasını sağlar (19).

2.1.b. Nötrofilik Granülositler

Nötrofil prekürsörlerinin proliferasyonunda IL-3, GM-CSF ve G-CSF gibi hematopoetik büyüme faktörleri önemli rol oynar. Nötrofilik granülosit serisinde metamyelositlerin oluşumu 6 gün ve bu hücrelerin polimorfonükleer granülositlere dönüşmesi de 6 gün daha sürer. Dolaşımdakilerin yaklaşık 10 katı kadar nötrofil kemik iliğinde bulunur ve bir inflamatuvar uyarı olduğunda dolaşıma salınırlar. Dolaşıma giren nötrofiller ya serbest dolaşan nötrofillere ya da vasküler endotele gevşek olarak bağlanan nötrofillerden oluşan marjinyasyon havuzuna katılır (19).

Nötrofiller , peroksidaz boyanma özelliğine göre 2 tip granül içerir: Primer (peroksidaz-pozitif, azurofilik) ve sekonder (spesifik, sekretuar) granüller. Peroksidaz-pozitif granüller granülositopoez sırasında ilk ortaya çıktıkları için primer granüller olarak adlandırılırlar. Bunlar kemik iliğinde miyelopoez sırasında sentezlenir, nötrofil metamiyelosit evresinden çıkar çıkmaz üretimi durur ve depolanır. Nötrofiller aktive olduğunda primer granüller fagozom duvarıyla birleşerek içeriklerini fagozoma boşaltır. Sekonder granüller nötrofil aktivasyonu sırasında hızlıca hücre yüzeyinde toplanabilen fonksiyonel olarak önemli membran proteinlerinin hücre içi rezervuarlarıdır. Nötrofil aktive olduğunda plazma membranı ile birleşip içeriklerini hücre dışına taşırlar.

Nötrofiller ve endotel hücreleri arasında meydana gelen 4 basamaklı olaylar zinciri ile nötrofiller damar dışına çıkar. İnflamatuvar bir uyarıdan sonra selektinler yoluyla nötrofil adezyon kaskadının ilk basamağı başlar. Nötrofiller üzerinde eksprese olan L-selektin; aktive endotel hücreleri tarafından eksprese olan E-selektin ve P-selektin ligandları ile etkileşir ve nötrofiller endotel hücre yüzeyinde yuvarlanmaya başlar. İkinci basamakta nötrofiller lokal olarak üretilen kemokinler tarafından aktive olur. Bu işlem hem L-selektinin salınmasına hem de nötrofillerin endotel hücrelerine sıkıca tutunmasını sağlayan spesifik lökosit integrinlerin aktivasyonuna yol açar. Üçüncü basamakta nötrofillerdeki bu aktive integrinlerin endotel hücrelerindeki ligandları ile etkileşimi nötrofillerin endotele tutunmasını sağlar. Sonuçta lökositler endotel hücreleri arasından geçerek dokulara ulaşır (19).

Dokulara ulaşan nötrofiller mikroorganizmaları fagosite ederler. Fagositozda aracı rol oynayan opsonin adlı moleküller veya fagosite edilecek mikroorganizma nötrofil membranıyla temas eder etmez membrandaki oksidazlar oksijen bağımlı mikrobisidal mekanizmaları aktive etmek üzere harekete geçer. Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz enziminin aktivasyonu ile başlayan ve solunum patlaması adı verilen bir dizi oksidatif olay sonucunda süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi toksik reaktif oksijen radikalleri oluşur. Bu süreç oksidatif öldürme olarak adlandırılır. İnflamasyonun ileriki dönemlerinde ise tümör nekrozis faktör gibi sitokinler tarafından aktive edilen nitrik oksit sentaz, nitrik oksit ve benzeri mikrobisidal reaktif nitrojen ürünleri oluşturur ve mikroorganizmaların öldürülmesine katkıda bulunur (19).

Fagositoz sırasında veya sonrasında nötrofil granülleri fagozom ile birleşir ve içeriğindeki enzimleri fagozoma aktarırlar. Bu enzimlerden olan miyeloperoksidaz, hipoklorit adı verilen güçlü bir mikrobisidal molekülün açığa çıkmasını sağlar. Yine granüller içerisinde bulunan defensinler ve katelisinler olarak adlandırılan ve çeşitli sitokinler veya mikrobiyal ürünler ile aktive olan antimikrobiyal peptidler oksijenden bağımsız olarak hücre içi öldürmeye katılırlar. Bu tür öldürme non-oksidatif öldürme olarak adlandırılır. Hücre içi öldürmeye katkıda bulunan diğer bir durum ise aktive olan nötrofil içine potasyum iyonu akışıyla proteazların aktivasyonudur (19).

2.2. Malignite Hastalarının Doğal Savunma Mekanizmalarında Bozukluklar

Malign hastalıkların kendilerine ait spesifik savunma bozukluklarının olmasının yanı sıra günümüzde agresif tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile kemoterapi ve radyoterapinin etkileri de bu duruma katkıda bulunmaya başlamıştır. Tüm sitotoksik ilaçların normal hematopoetik kök hücreleri üretiminde olumsuz etkileri vardır. Bu yüzden bu hastalarda enfeksiyon için en önemli risk faktörü olan nötropeni kaçınılmazdır. Nötropenin süresi uzadıkça enfeksiyon riski ve buna bağlı mortalite artar (19).

Kemoterapi, radyoterapi ve glukokortikosteroid kullanımı kemotaksis ve fagositik kapasitenin azalmasına ve nötrofiller tarafından hücre içi öldürmenin bozulmasına yol açar (19).

Uzun süreli sitotoksik tedavi, kortikosteroidler, yoğun radyasyon hücrel immüniteyi baskılar. Yoğun radyoterapi ve kemoterapi hipogamaglobulinemiye yol açar (19).

Kemoterapi ve radyoterapi ciltte kuruluk, ter üretiminde azalma, mukozalarda ciddi hasar ve tükürük üretiminde azalmaya yol açarak doğal savunma mekanizmalarını bozar. Cilt ve barsak anatomik bütünlüğünün bozulması, doğal floranın yeterince dekontamine edilememesi, değişik tipte intavenöz yolların kullanılması, kateter gibi damar yolu açıklıklarının olması, hastanede kalış süresinin uzaması gibi faktörler de enfeksiyon için ek risk faktörlerini oluşturur (Tablo 2.1) (20).

Tablo 2.1. Akut lösemili hastalarda enfeksiyona yatkınlık nedenleri

<u>Etken</u>	<u>Etki</u>
Nötropeni	Ciddi bakteriyel ve fungal enfeksiyon riski
İmmüsupresyon	Özellikle mantar ve virüslere cevapta yetersizlik
Mukozit	Barsak florasının yayılma riski, <i>Clostridium Difficile</i> enfeksiyonu riskinde artış
Yatış süresi	Hastane enfeksiyonları riski
Uzamış antibiyotik kullanımı	Antibiyotiğe dirençli mikroorganizma oluşma riski, mantar enfeksiyonlarına yatkınlık
Damar yolu açıklığı	Deri bütünlüğünün bozulması, kolonizasyon, bakteriyel sepsis
Parenteral beslenme	Fungal enfeksiyonlara yatkınlık
Graft versus host hastalığı	Mukozal savunmada yetersizlik
Trombositopeni	Transfüzyon ile ilişkili bakteriyel sepsis riski
Anemi	Transfüzyon ile ilişkili viral enfeksiyon riski

2.3. Ateş

Ateş, hastalıkların en önemli non-invaziv ölçüm yoludur. Santral termoregüle edilebilir merkezdeki vücut sıcaklığı ayar noktasının, termogenezin disinhibisyonu yoluyla daha yüksek bir değere çekilmesi şeklinde tanımlanabilir. Vücut sıcaklığı yaşa, cinsiyete, ortam sıcaklığına, metabolik hıza ve günün saatlerine göre değişkenlik gösterebildiğinden, ateş tanımında belirli bir sıcaklık değeri verilememektedir. Ateşi tetikleyen maddeler olan pirojenler, endojen ve eksojen olarak iki gruba ayrılır. Bakteriyel hücre duvar komponenti olan lipopolisakkaritler iyi tanımlanmış eksojen pirojenlerdendir. Lipopolisakkarit ve lipopoliakkarit bağlayan protein kompleksinin oluşması toll-benzeri reseptör ailesinden TLR-4 isimli reseptörün aktive olmasına, bu aktivasyon da makrofajlar ve diğer immün sistem hücrelerinden çeşitli nükleer faktör kapp-B bağımlı sitokinlerin sentezlenmesine yol açar. Bu sitokinler interlökin-1, tümör nekrozis faktör ve siklooksijenaz 2'dir. Güncel bilgiler deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) dahil birçok bakteriyel ve viral komponentin benzer şekilde toll benzeri

reseptörleri uyurarak sitokin sentezine yol açabileceğini göstermiştir. En önemli endojen pirojen olan interlökin-1, makrofajlar, B ve T lenfositler başta olmak üzere birçok immün sistem hücresi arasında çok önemli bir aracı moleküldür. Ayrıca siklooksijenaz 2 biyosentezini de indükler. Diğer endojen pirojenler interlökin-6, tümör nekrozis faktör ve interferonlardır. Tüm bu endojen pirojenler esas olarak prostoglandin sentezini arttırarak etki eder. Ateş patogenezinde en önemli rolü oynayan prostoglandin prostoglandin-E2'dir. Prostoglandin-E2 anterior hipotalamus-preoptik alandaki prostoglandin reseptörlerine bağlanarak ısıya duyarlı nöronları etkiler ve böylece sıcaklık ayar noktası daha üst değerlere çekilir ve üretimi artan ısının hipotalamus tarafından ayarlanmış yeni sınırlar içinde tutulması sağlanır (21).

2.4. Febril Nötropeni

2.4.a. Tanımlar

Amerikan İnfeksiyon Hastalıkları Derneği (IDSA) 2002 febril nötropeni kılavuzunda ateş, açıkça etkili çevresel faktörler olmaksızın oral yoldan ölçülen vücut sıcaklığının, tek ölçümle 38.3°C ve üzerinde saptanması veya 1 saat veya daha uzun süreyle 38.0°C ve üzerinde seyretmesi olarak tanımlanmıştır (22).

2004 yılında ülkemizde yayınlanan pediatrik febril nötropeni kılavuzuna göre ise nötropeni; mutlak nötrofil sayısının 500/mm³ veya daha az olması ya da 1000/mm³ veya daha az iken 24-48 saat içinde 500/mm³'ün altına inmesinin beklendiği durum olarak tanımlanır. Febril nötropeni ise nötropenik bir hastada ülkemizde en sık aksiller yoldan ölçüm yapıldığı göz önünde bulundurularak; bu yolla ölçülen ateşin bir kez 38.0°C veya üzerinde saptanması ya da en az bir saat süreyle 37.5°C ve üzerinde seyretmesi olarak tanımlanmıştır (23).

2.4.b. Febril Nötropenide Etkenler

Daha önceki bölümlerde de söz edildiği üzere hematolojik malignensili hastalarda gerek hastalığa bağlı oluşan; gerekse tedavi süreci ve girişimlerden kaynaklanan sebeplerle enfeksiyonlara yatkınlık oluşmaktadır. Febril nötropenisi olan hastalarda en sık olarak bakteriler olmak üzere çok çeşitli mikroorganizmalar enfeksiyon etkeni olabilmektedir (Tablo 2.2) (24).

Tablo 2.2. Nötropenik kanser hastalarında en sık izole edilen mikroorganizmalar

<u>Gram-pozitif aerob bakteriler</u>
Koagülaz-negatif stafilokoklar
Viridan streptokoklar
<i>Staphylococcus aureus</i>
Diğer streptokoklar
<i>Enterococcus spp.</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Bacillus spp.</i>
<u>Gram-negatif aerob bakteriler</u>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Kelbsiella spp.</i>
<i>Pseudomonas spp.</i>
Diğer enterobactericeae (<i>Proteus, Enterobacter vb.</i>)
Diğer nonfermentatif basiller (<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>)
<i>Legionella spp.</i>
<u>Anaerob bakteriler</u>
<i>Bacteroides spp.</i>
<i>Clostridium spp.</i>
<i>Fusobacterium spp.</i>
<i>Propionibacterium spp.</i>
<u>Mantarlar</u>
<i>Candida spp.</i>
<i>Aspergillus spp.</i>
<i>Pneumocystis jiroveci</i>
Diğer mantarlar (<i>Fusarium, Mucor, Scedosporium, Pseudoallescheria boydii</i>)
<u>Virüsler</u>
Herpes simpleks virüs
Varisella zoster virüs
Respiratuvar virüsler (İnfluenza, parainfluenza, respiratuvar sinsityal virüs)
<u>Parazitler</u>
<i>Strongyloides stercoralis</i>
Endemik bölgeye göre baskın olan parazitler (<i>Leishmania</i> gibi)

Bakteriler

Febril nütropenik hastalarda en sık enfeksiyon etkeni bakterilerdir. Hangi bakterilerin daha sık enfeksiyona neden olduğu merkezden merkeze değişiklik gösterebilse de genel görünüm tüm dünyada benzerdir. Büyük kanser merkezlerinde yapılan surveyans çalışmalarına göre 1950-1960 yılları arasında en sık izole edilen etken *Staphylococcus aureus* iken beta-laktamaza dirençli anti-stafilokokal antibiyotiklerin kullanıma girmesiyle birlikte gram negatif bakteriler ön plana çıkmıştır. Yaklaşık 20 yıl boyunca devam eden bu hakimiyet 1980'li yılların sonundan itibaren yine gram-pozitif bakteriler tarafına değişmiştir. Bu kez koagülaz-negatif stafilokoklar en sık olmak üzere *Enterococcus* türleri ve *S. aureus* izolasyonu artmıştır. 2000'li yıllara gelindiğinde etken olarak gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin neredeyse eşit olduğu görülmektedir. Bu eşitliğin bazı merkezlerde gram-negatif bakteriler lehine doğru bozulması bazı otoriteler tarafından yine gram-negatif baskın olduğu bir döneme giriş olabileceği yönünde uyarı olarak yorumlanmıştır (24).

Mantarlar

Mantar enfeksiyonlarının kontrol altına alınmasında dadolaşımında yeterli sayı ve fonksiyonda nötrofillerin bulunması gerekmektedir. Öte yandan *Cryptococcus neoformans* ve *Candida* türlerinde humoral immünitinin de önemli bir rolü vardır. Ancak febril nütropenik hastalarda, özellikle hematolojik malignensili olgularda bağışıklık sisteminin birçok ögesi aynı anda hasar gördüğü için mantar enfeksiyonlarının çeşitliliği kaçınılmazdır.

Febril nütropenik hastalarda mantarlar sadece insidanslarının artması ile değil değişken direnç paternleri, artan çeşitlilikleri ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olduğu şiddetli enfeksiyonlara yol açmaları nedeniyle de önem kazanan mikroorganizmalardır. Son 30 yılda invaziv fungal enfeksiyonlar lösemi olgularında en önemli mortalite ve morbidite nedeni olarak gösterilmektedir. Otopsi bulgularına göre hematolojik maligniteli olguların yaklaşık %50'sinde invaziv fungal enfeksiyon saptanmaktadır. Son yıllarda kanser hastalarında, mikolojik tanı yöntemlerindeki gelişmelere, uzun süreli nütropeniye, yoğun kemoterapotik ve steroid uygulamalarına, doku bütünlüğünü bozan girişimler ve mukozit gibi organ hasarına, önceden fungal enfeksiyon veya kolonizasyon öyküsü varlığına, uzun süreli geniş

spektrumlu antibiyotik kullanımına ve venöz kateterlerin kullanımının artmasına bağlı olarak invaziv fungal enfeksiyon gelişme sıklığında artış gözlenmiştir. Kanser hastalarında invaziv fungal enfeksiyonların %90'ından *Aspergillus* ve *Candida* türleri (özellikle *Candida albicans*) sorumludur. Yetişkin hastalarda *Candida* türlerinde mortalite %50 iken *Aspergillus* türlerinde %100'e kadar çıkmaktadır. İnvaziv fungal enfeksiyonlarda mortalitenin yüksek olmasının başlıca nedenleri konvansiyonel tanı yöntemlerinin yeterince kapsamlı olmayışı, bu tür enfeksiyonların kliniğinin sinsi seyretmesi, hastalığın ileri dönemine kadar belirgin olmayışı, yeni ajanlara rağmen antifungal tedavinin yeterince başarılı olamaması olarak sayılabilir (24).

Virüsler

Virüsler febril nütropenik hastalarda nütropenin süresi uzadıkça ve hastalığa veya tedaviye bağlı sebeplerle kompleks savunma sistemi defektleri oluştuğunda gündeme gelen etkenlerdir. Bu hastalarda en sık görülen etkenler Herpes simplex virüs, Varisella zoster virüs ve Sitomegalovirüs olarak sıralanabilir. Solunum sistemini etkileyen virüsler ise influenza, parainfluenza, adenovirüsler ve respiratuvar sinsityal virüs olarak sayılabilir. Ancak nütropenik hastalarda viral enfeksiyonların atipik klinik seyri ve viral laboratuvar tetkiklerinin kısıtlı olması nedeniyle teşhis edilmesi zordur (24).

Parazitler

Özellikle endemik bölgelerde paraziter enfeksiyonların da akla gelmesi gerekmektedir. Barsak florası bozulduğunda ve mukozit geliştiğinde bu tür enfeksiyonların oluşması kolaylaşır. Ülkemizde *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Blastocystis hominis*, *Strongyloides stercoralis* ve *Cryptosporidium* türleri gastrointestinal enfeksiyonlu hastalarda görülebilen türlerdir (24).

2.4.c Febril Nütropeniye Yaklaşım

Her merkez febril nütropenik hastalara yaklaşımda belirli kılavuzları kullanmaktadır. Uluslararası veya ulusal olarak hazırlanmış birçok febril nütropeni klavuzu mevcuttur. Ancak pek çok kılavuzun IDSA kılavuzuna dayanarak hazırlandığı görülmektedir. Kliniğimizde ise Türk Pediatrik Febril Nütropeni

Klavuzu kullanılmaktadır. Aşağıda bu kılavuzun özetlenmiş şekline yer verilmiştir (24).

Türk Pediatrik Febril Nötropeni Kılavuzu

Tanımlar

Nötropeni mutlak nötrofil sayısının $500/\text{mm}^3$ veya daha az olması ya da $1000/\text{mm}^3$ veya daha az iken 24-48 saat içinde $500/\text{mm}^3$ 'ün altına inmesinin beklendiği durumdur. Febril nötropeni ise nötropenik bir hastada axiller yolla ölçülen ateşin bir kez 38.0°C veya üzerinde saptanması ya da en az bir saat süreyle 37.5°C ve üzerinde seyretmesi olarak tanımlanmıştır (23).

Tanı Yöntemleri

Öykü alınırken ateş dışındaki semptomlar da kaydedilmelidir. Fizik muayenede rutin sistemik muayene dışında, özellikle iğne giriş yerleri, kemik iliği aspirasyon giriş yeri, deri altı kateter bölgesi, kateter giriş yeri gibi ayrıntılı deri muayenesi, perioral, perirektal bölgeler, tırnak çevresinin muayenesi gibi özel bölgeler de dikkatlice incelenmelidir (23).

Tetkik aşamasında ise, tam kan sayımı, biyokimya tetkiklerine en az üç günde bir bakılması önerilmektedir. C reaktif protein (CRP), IL-6, IL-8, prokalsitonin gibi akut faz reaktanları bakteriyemi tanı ve takibinde kullanılabilir. Febril nötropenik çocuklarda infeksiyon etkeninin belirlenmesi için en önemli tetkiklerden biri kan kültürüdür. Bu amaçla periferik kandan mümkünse iki ayrı venden ve varsa kateterin her lümeninden kan kültürü alınmalıdır. Her olguda idrar tetkiki ve kültürü alınmalıdır. Ayrıca hastada saptanan her lezyondan kültür için örnek alınmalıdır. Hastada klinik olarak ishal saptandığında mutlaka dışkı kültürü yapılmalı, *Clostridium Difficile* toksini aranmalı ve gerekli hastalarda parazitolojik inceleme de yapılmalıdır. Hastada kontrendikasyon yoksa bronkoalveoler lavaj sıvısı, endotrakeal aspirasyon gibi invaziv kabul edilebilecek yöntemlerle alınan solunum yolu örnekleri balgam örneği incelemesinden daha değerli olmakla birlikte bu girişimler mümkün olmadığında uygun şekilde alınmış balgam örneğinin incelenmesi de infeksiyonun tanısında yardımcı olabilir. Bu kültürlerde mikolojik inceleme de yapılmalıdır. *Candida spp.* üreyen olgularda kolonizasyon dışında invaziv kandidiyazis açısından dikkatli olunması önerilmektedir. Ayrıca en az iki balgam örneğinde *Aspergillus* türü mantar üremesi anlamlı kabul edilmelidir. Santral sinir sistemi infeksiyonu

şüphesi olduğunda kontrendikasyon yoksa lomber ponksiyon yapılması ve beyin omurilik sıvısından aerop kültürün yanı sıra mikolojik inceleme de yapılması önerilmektedir (23).

Görüntüleme yöntemleri arasında akciğer grafisi her hastada rutin olarak çekilmekteyken son yıllarda literatürde yarar-maliyet düşünüldüğünde yararlı olmadığına karar verilmiştir. Bu yüzden solunum yolu enfeksiyonu bulguları varsa veya hastaya ayaktan tedavi uygulanacaksa, bazal grafi çekilmesi önerilmektedir. Akciğer grafisinin normal iken, febril nütropenik hastaların yarısında yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi ile pnömoni bulguları saptandığı bildirilmiştir. Solunum sistemi enfeksiyonundan şüphelenilen veya akciğer grafisinde bulgu olup, tedaviye rağmen düzelmeyen ve fungal enfeksiyon düşünülen hastalarda bilgisayarlı toraks tomografisi ve gerekirse yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı toraks tomografisi çekilmelidir. Nütropenik hastalarda ateşin devamı veya genel durumun kötüleşmesi durumunda tiflit açısından ayakta direkt batın grafisi, hepatosplenik kandidiyazis yönünden abdimal ultrasonografi yada sinüs enfeksiyonu şüphesinde sinüs tomografisi çekilmesi gerekmektedir (23).

P. Jirovecii pnömonisi düşünülen hastalarda bronkoalveoler lavaj yapılması önerilmektedir. Yine etyolojide şüphelenilen enfeksiyon etkenine spesifik olarak serum veya beyin omurilik sıvısında serolojik tetkikler yapılabilir.

Risk Grupları ve Ampirik Tedavi Seçenekleri

Febril nütropenik hastalar enfeksiyon ve mortalite açısından eşit risk taşımamaktadırlar. Bu sebeple risk gruplarına ayırmak tedavi seçenekleri, tedavi maliyeti, ilaç toksisitesi ve yaşam kalitesi yönünden önemlidir (23).

Fungal enfeksiyon riski taşıyan hastalara başlanan tedaviye profilaktik antifungal tedavi adı verilir. Ampirik antifungal tedavi ise persistan nütropenik ateşi olan hastaların tedavisine antifungal bir ajan ilave edilmesidir. Daha hedefe yönelik bir tedavi şekli olan preempitif tedavi ise invaziv fungal enfeksiyona işaret eden laboratuvar bulgularının varlığına dayanarak antifungal tedavi başlanmasıdır (23).

Nötrofil sayısının $100/\text{mm}^3$ üzerinde olması, akciğer grafisinin normal olması, beklenen nütropeni süresinin 7 günden kısa olması, altta yatan malign hastalığın remisyonda olması düşük risk grubunu oluşturmaktadır. Erişkin kılavuzlarında bu hasta grubuna oral tedavi verilmesi önerilmektedir. Erişkin hastalarda düşük risk

grubundaki hastalara oral tedavi uygulanmasıyla ilgili yapılmış çok sayıda çalışma varken, çocuklarda kısıtlı sayıda çalışma olduğundan oral tedavi önerilmemektedir. Antibiyotik seçiminde her merkezin kendi florası ve direnç durumunun göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Ancak bazı düşük riskli hastalarda parenteral tedavinin üçüncü gününde ateş düşmüş ise evde oral sefiksime ile tedavinin tamamlanabileceği ifade edilebilmektedir (23).

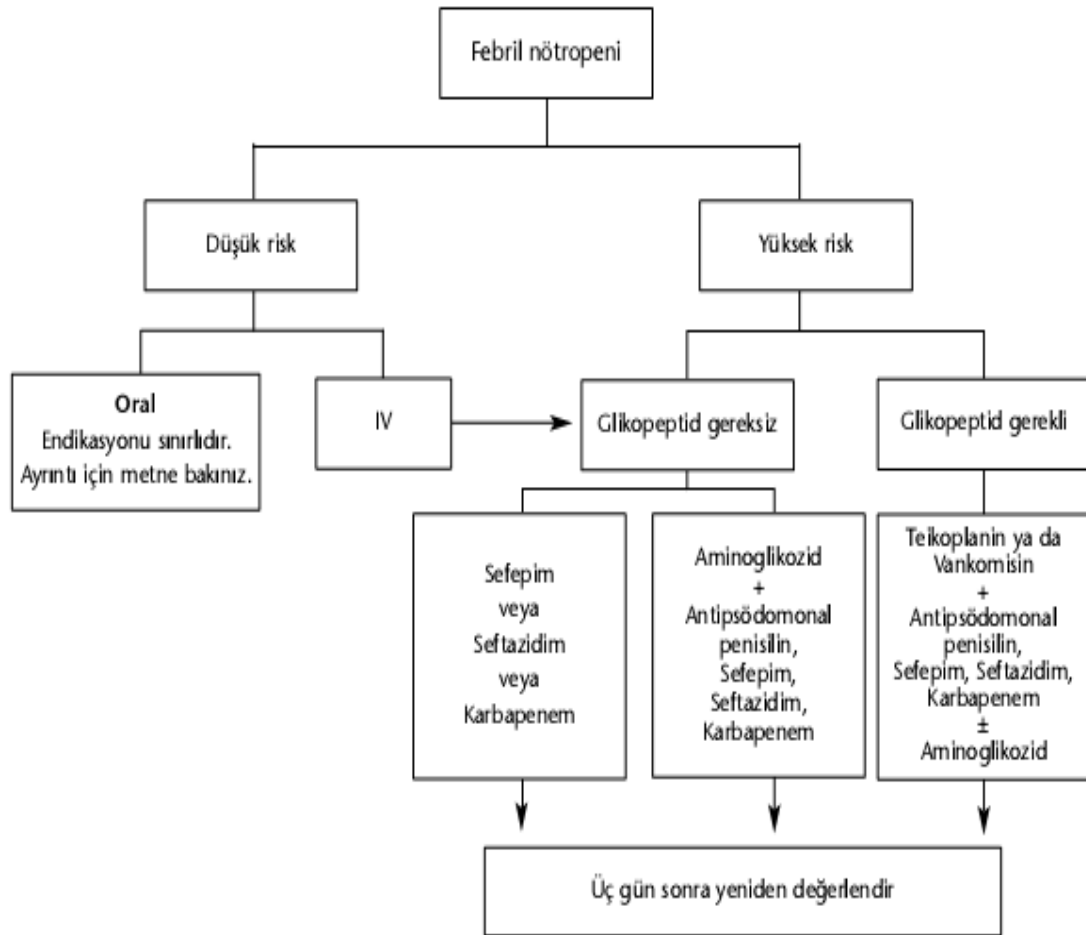
Tablo 2. 3. Febril nütropenik hastalarda risk faktörleri

Mutlak nötrofil sayısının < 100/mm olması
Beklenen nütropeni süresinin (> 10 gün) uzun olması
Primer hastalığın lösemi olması (özellikle indüksiyon tedavisi sırasında)
Hastalığın remisyonda olmaması
Yüksek doz kemoterapi alan hastalar
Ağır mukozit varlığı
Renal, kardiyak ve hepatik fonksiyon bozuklukları
Şok, hipotansiyon, solunum sıkıntısı ve mental durum değişikliği
Pnömoni
Tiflitis

Yüksek riskli kabul edilen özellikleri olan hastaların mutlaka parenteral tedavi alması önerilmektedir (Tablo 2.3). Parenteral tedavi kullanılacak hastalarda hastanenin direnç profiline göre engel yok ise veya hasta *Pseudomonas spp.* açısından risk taşıyorsa monoterapi uygulanabilir (Şekil 2.1). Kombine terapi uygulanması gereken hastalarda ise glikopeptid kullanımının gerekli olup olmadığına karar verilmelidir. Glikopeptidler özellikle gram pozitif enfeksiyon riski taşıyan hastalarda kullanılmalı, diğer hastalarda gerek olmadıkça kullanımından kaçınılmalıdır (Tablo 2.4) (23).

Tablo 2.4. Glikopeptid içeren kombine tedavi kullanılması gereken durumlar

Kateter ilişkili infeksiyonlar
Metisilin dirençli stafilokok veya penisilin dirençli pnömokok kolonizasyonu
Kan kültüründe Gram-pozitif bakteri üremesi
Kardiyovasküler bozukluklar, hipotansiyon
Yoğun kemoterapi (Belirgin mukozal hasar yapabilecek ilaçlar)
Ağır mukozit varlığı



Şekil 2.1. Febril Nütropenide Başlangıç Tedavisi - Kebudi R. (23)' dan alınmıştır.

Hastaların özelliklerine göre seçilen tedavi rejimi en az üç gün süreyle sürdürülmeli, daha sonra tekrar değerlendirme yapılarak ateşin devam durumuna göre plan yapılmalıdır (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3).

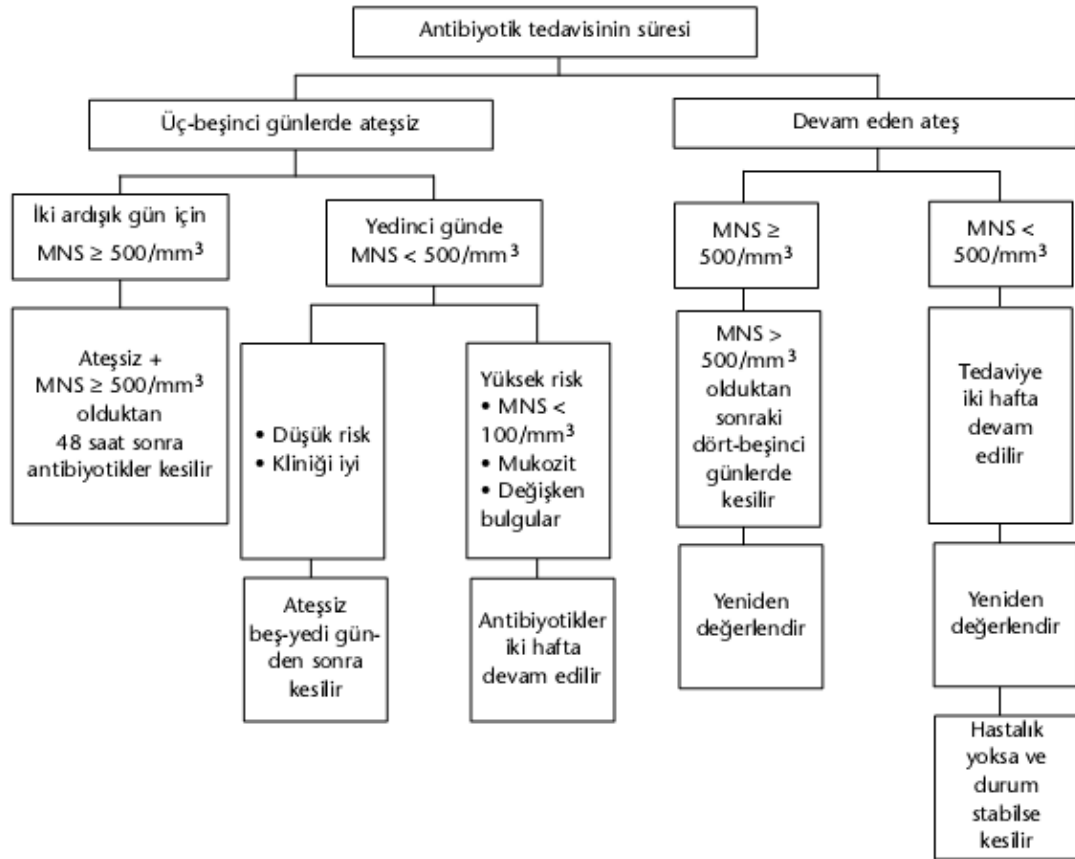


Şekil 2.2. Başlangıç tedavisiyle üç-beş günde ateşi düşen hastaya yaklaşım-Kebudi R. (23)' dan alınmıştır.



Şekil 2.3. Başlangıç tedavisiyle üç-beş gün içinde ateşi düşmeyen ve ateş sebebi bilinmeyen hastaya yaklaşım- Kebudi R. (23)' dan alınmıştır.

Takipte ateşin devam ettiği ve genel durumu kötüleşen hastalarda antibiyotik değişikliği yapılması önerilmektedir. Beşinci yedinci günler arasında ateşi hala devam eden yüksek riskli hastalarda eğer nötropeninin de yakın dönemde düzelmesi beklenmiyorsa beşinci günde antifungal tedavi başlanabilir. Düşük riskli hastalarda ise antifungal tedavi için yedinci güne kadar beklenebilir. Ampirik tedavi için önerilen antifungal amfoterisin B'dir. Antibiyotik tedavisinin süresi ise risk gruplarına ve lökosit sayısına göre değişmektedir (Şekil 2.4) (23).



Şekil 2.4. Çeşitli klinik durumlara göre antibiyotik tedavisinin süresi- Kebudi R. (23)' dan alınmıştır.

2.5. İnvaziv Fungal Enfeksiyonlar

Fırsatçı invaziv fungal enfeksiyonlar immünsüprese hastalarda önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Buna rağmen bu enfeksiyonların kesin teşhisi için kullanılabilir tanı yöntemleri ile ilgili belirsizlikler ve karşıt görüşler mevcuttur. Klinik pratikte ise bu belirsizlikler nedeniyle klinisyenler, şüpheli olgulara ampirik antifungal tedavi vermektedirler. Bu konuda çalışma yapılacağı zaman genellikle kesin tanı almış olgular çalışmalara dahil edildiğinden gerçek sıklık belirlenememekte ve invaziv fungal enfeksiyonlara uluslararası bir yaklaşım birliği oluşturulamamaktadır. Bu yüzden kanıta dayalı tıbbi bilgiler ve kılavuzlar oluşturulması ihtiyacı doğmuştur. Bu amaçla EORTC/MSG tarafından 2002'de bir konsensus raporu yayınlamış ve bu rapor gelişmeler ve ihtiyaçlar doğrultusunda 2008'de revize edilmiştir (25). Aşağıda bu raporun kısa bir özetine yer verilmiştir.

2.5.a Tanımlamalar

Yeni raporda invaziv fungal enfeksiyon terimi yerine invaziv fungal hastalık teriminin kullanılması önerilmiş, böylece, fungal enfeksiyonun sebep olduğu bir hastalık tablosu ile baş edilmeye çalışıldığına vurgu yapılmıştır. İnvaziv fungal hastalıklar ‘kanıtlanmış’, ‘muhtemel’ ve ‘olası’ invaziv fungal hastalık olmak üzere üç kategoride tanımlanmıştır (Tablo 2.5, 2.6, 2.7). Ancak *Pneumocystis jirovecii* enfeksiyonları bu sınıflamalara dahil edilmemiştir. Bu tanımlamaların yapılabileceği hasta grupları ise immünsüprese kanser hastaları, hematopoetik kök hücre transplantasyonu alıcıları, solid organ transplant alıcıları ve primer immün yetmezlik hastaları olarak belirlenmiştir (25).

Kanıtlanmış invaziv fungal hastalık; konak faktörleri veya klinik kriterler göz önünde bulundurulmaksızın hastalıklı dokuda fungal elementlerin gösterilmesi olarak tanımlanmıştır (Tablo 2.5). Endemik dismorfik funguslar için de benzer şekilde etkenlerin özgün görünümünün dokularda görülmesi gerekir (Tablo 2.7) (25).

Tablo 2.5. Endemik mikozlar hariç kanıtlanmış invaziv fungal hastalık kriterleri

<u>Analiz ve Örnek</u>	<u>Küfler¹</u>	<u>Mayalar¹</u>
Steril materyallerin mikroskopik analizi	İğne aspirasyonu veya biyopsi ile alınan örneğin histopatolojik, sitopatolojik veya direkt mikroskopik incelemesinde ² hif veya melanize maya benzeri formların doku hasarı ile beraber gözlenmesi	Normalde steril olan bir dokudan (müköz membranlar hariç) İğne aspirasyonu veya biyopsi ile alınan örneğin histopatolojik, sitopatolojik veya direkt mikroskopik incelemesinde ² maya hücrelerinin görülmesi, örneğin yalancı veya gerçek hif görünümü olan <i>Candida spp.</i>
Steril materyallerin kültürü	Bronkoalveolar lavaj sıvısı, kranial sinüsten alınmış örnek ve idrar hariç, normalde steril olan ama klinik veya radyolojik olarak enfekte olduğu gösterilen dokudan steril olarak elde edilmiş materyalde küf veya siyah maya üremesi	Normalde steril olan ama klinik veya radyolojik olarak enfekte olduğu gösterilen dokudan steril olarak elde edilmiş materyalde maya üremesi
Kan kültürü	Aynı türde sistemik bir enfeksiyon sürecini tamamlayıcı şekilde kan kültüründe küf mantarı (örn. <i>Fusarium spp.</i>) üremesi	Kan kültüründe maya mantarı (örn. <i>Cryptococcus spp.</i> veya <i>Candida spp.</i>) veya maya benzeri mantar (örn. <i>Trichosporon spp.</i>) üremesi
Beyin omurilik sıvısının (BOS) serolojik analizi	Uygun değil	BOS'ta kriptokokal antijen bulunması dissemine <i>Cryptococcus</i> enfeksiyonunu gösterir
<p>1. Eğer kültür yapılabilirse tür tanımlaması da yapılabilir. 2. Histopatolojik veya sitopatolojik inceleme için kullanılacak hücre ve dokular fungal yapıların gözlenebilmesi için periyodik asit schif boyası veya grocott-gomorri metenamin gümüş boyası ile boyanmalıdır. Eğer mümkünse dokuların ıslak örneklerinin floresan boya ile boyanması gerekir. 3. <i>Candida</i>, <i>Trichosporon</i> ve maya benzeri <i>Geotrichum spp.</i> ve <i>Blastoschizomyces capitatus</i> da yalancı veya gerçek hif oluşturabilir. 4. <i>Aspergillus spp.</i> üremesi genellikle kontaminasyon sonucu gerçekleşir.</p>		

Muhtemel invaziv fungal hastalık denebilmesi için hastada bir konak faktörü, bir klinik kriter ve bir mikolojik kriterin beraber görülmesi gerekmektedir (Tablo 2.6). Endemik mikozlar içinse konak faktörlerinden birine ek olarak endemik mikozisi düşündüren klinik tablo ile idrar, kan ve BOS'ta histoplazma antijeni pozitifliği gibi mikolojik kanıtların bulunması yine muhtemel invaziv fungal hastalık olarak tanımlanmıştır (Tablo 2.7) (25).

Tablo 2.6. Endemik mikozlar hariç muhtemel invaziv fungal hastalık kriterleri.

<u>Konak Faktörleri¹</u>
Allojenik kök hücre transplant alıcısı olmak
Fungal hastalığın başlangıcında da var olan yakın zamanda nötropeni (>10 gün süreyle <500/mm ³ nötrofil sayısı) öyküsü
Uzamış kortikosteroid kullanımı (alerjik bronkopulmoner aspergillozis hastalarındaki hariç) , >3 hafta süreyle en az 0.3mg/kg/gün prednizon eşdeğer dozda
Geçmiş 90 günden bu yana diğer tanımlanmış T hücre immünsüpresanları (siklosporin, TNF- α blokerleri, spesifik monoklonal antikorlar gibi) veya nükleozid analogları almış olmak
Kalıtsal ciddi immün yetmezlik (kronik granülomatöz hastalık gibi)
<u>Klinik Kriterler²</u>
Alt solunum yolu fungal hastalığı ³
Toraks tomografisinde üç kriterden birinin varlığı; a- Halo işareti olan/olmayan iyi sınırlı dens lezyon(lar). b- Hava- kresenti işareti. c- Kavite
Trakeobronşit
Bronkoskobik analizde trakeobronşiyal ülserasyon, nodül, psödomembran, plak veya eskar görülmesi
Sinonazal enfeksiyon
Görüntülemelerde sinüzit saptanmasının yanında hastada aşağıdaki 3 bulgudan en az birinin görülmesi
a-Akut lokalize ağrı
b-Siyah eskarlı nazal ülser
c-Enfeksiyonun paranasal sinüslerden kemik bariyerleri aşarak orbita dahil karşı tarafa sıçraması
Santral sinir sistemi enfeksiyonu

Tablo 2.6. Endemik mikozyozlar hariç muhtemel invaziv fungal hastalık kriterleri-
(devam).

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) veya bilgisayarlı tomografide (BT) fokal lezyonlar veya meninks tutulumu görülmesi
Dissemine kandidiyazis ⁴
Geçmiş iki hafta içinde gelişmiş bir kandidemi epizodundan sonra aşağıda belirtilen iki kriterden en az birinin görülmesi
a- Dalak veya karaciğerde küçük, hedef tahtası benzeri apseler (öküz gözü lezyonları)
b- Oftalmik muayenede progresif retinal eksuda oluşumu
<u>Mikolojik Kriterler</u>
Direkt testler (sitoloji, direkt mikroskopi veya kültür yoluyla)
Balgam, bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısı, bronşiyal fırça veya sinüs aspirasyon materyalinde kültürde maya (<i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Zygomycetes</i> , <i>Scedosporium spp.</i>) üretilmesi veya maya olduğunu gösteren fungal elemanlar görülmesi
İndirekt testler (antijen veya hücre duvar komponentlerinin saptanması) ⁵
Aspergillozis; Plazma, serum, BAL sıvısı veya BOS'ta galaktomannan antijeni saptanması
<i>Cryptococcus</i> ve <i>Zygomycetes</i> enfeksiyonları haricindeki invaziv fungal hastalıklarda serumda 1,3-β-D-glukan saptanması
1-Konak faktörleri, risk faktörleri ile aynı anlama gelmeyip, hangi hastaların invaziv fungal hastalık riski taşıdığını tanımaya yarayan özelliklerdir. 2- Bu faktörler immünsüprese kanser hastaları, hematopoetik kök hücre transplantasyonu alıcıları, solid organ transplant alıcıları ve primer immün yetmezlik hastalarında kullanılmak üzere tanımlanmıştır. 3- Alternatif etyolojileri dışlamak amacıyla her türlü mantıklı tetkik yapılmalıdır. 4-Sepsis semptom ve bulgularının varlığı akut dissemine hastalığı gösterirken yokluğu kronik dissemine hastalığa işaret eder. 5-Bu testler primer olarak aspergillozis ve kandidiyazis için uygun olup <i>Cryptococcus spp.</i> ve <i>Zygomycetes</i> (örneğin <i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Absidia spp.</i>) enfeksiyonlarının tanısında faydasızdır. Güvenilirliği ve standardizasyonu henüz tamamlanmadığı için nükleik asit çalışması kriterlere dahil edilmemiştir.

Olası invaziv fungal hastalık ise mikolojik kriter olmaksızın bir konak faktörü ve bir klinik kriterin görülmesi olarak tanımlanmıştır (Tablo 2.6). Endemik mikozlar için olası fungal enfeksiyon kategorisi tanımlanmamıştır çünkü bu grupta mikolojik kanıt olmaksızın sadece konak faktörleri veya klinik kriterler ile güvenilir şekilde tanı konamamaktadır (25).

Tablo 2.7. Endemik mikozların tanı kriterleri.

<u>Kanıtlanmış endemik mikozis</u>
Bir endemik mikozis ile ilişkili hastalığı olan konakta aşağıdaki kriterlerden birinin varlığı
Etkilenmiş dokudan veya kandan yapılan kültürde endemik mikozis etkenlerinden birinin üretilmesi
Histolojik veya direkt mikroskopik incelemede karakteristik dismorfik fungus morfolojisine uyan fungusların gösterilmesi, örneğin <i>Coccidioides spp.</i> 'a özgü sferüller, <i>Blastomyces dermatitidis</i> için kalın duvarlı, geniş tabanlı gelişmekte olan mayalar, <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> için multipl gelişmekte olan maya hücreleri ve histoplazmozis için ise doku makrofajlarında ya da periferik kan yaymasında fagosit içinde karakteristik hücre içi maya görünümü olması
Coccidioidomikozis için devam etmekte olan enfeksiyöz bir süreç sırasında, fungusa özgü antikorun BOS'ta bir defa saptanması veya ardışık alınan iki kan örneğinde dilüsyonun 2 kat artmış olması
Paracoccidioidomikozis için devam etmekte olan enfeksiyöz bir süreç sırasında ardışık iki kan örneğinde parakoksidioidine karşı presipitin bant saptanması
<u>Muhtemel endemik mikozis</u>
Tablo 2.6'daki konak faktörlerinden birine ek olarak endemik mikozisi düşündüren klinik tablo ve idrar, kan ve BOS'ta histoplazma antijeni pozitifliği gibi mikolojik kanıtların bulunması

2.5.b. İnvaziv Fungal Hastalıkların Tanı Yöntemleri

Mikrobiyolojik Yöntemler

Malignite hastalarında görülen her türlü etkenin tanımlanması gerekmektedir. Fungal etkenlerin tanımlanmasında kabaca beş yöntem kullanılmaktadır. Bunlar ; örneklerin mikroskopik incelenmesi, kültürde üretilmesi, fungal enfeksiyona spesifik immün yanıtın gösterilmesi, örneklerde fungusun antijenik yapısının, metabolitlerinin /yapısal komponentlerinin ve spesifik nükleik asitlerinin saptanması olarak sınıflandırılabilir (26).

Mikroskopik İnceleme

Labaratuvara ulaştırılan örnekler öncelikle direkt mikroskopik incelemeye alınır. Bu basamak sayesinde kültürün sonucunu beklemeden klinisyen için ipucu olabilecek ve bazen de bazı fungusların patognomonik özellikleri nedeniyle kesin tanı koydurabilecek bilgiler elde edilir. Küf mantarları sıklıkla besiyeri kolonizasyonu yaptığından direkt mikroskopik incelemede de görülmeleri enfeksiyon varlığını doğrular. Normal floraya sahip bölgelerden alınan (boğaz, balgam, dışkı, yara sürüntüsü gibi) örneklerde normal flora bakterilerinin azalarak mantarlara ait elemanların artması enfeksiyon lehine bir bulgu olabilir, ancak klinik verilerle uyumlu olmadıkça kolonizasyon olarak değerlendirilmelidir. Ayrıca direkt mikroskopik incelemede sistemik mantarlara ait bulgular görülmesi halinde besiyerlerinin uygun şekilde daha uzun süreyle enkübe edilmesi sağlanır (26).

Spesifik İmmün Yanıtın Gösterilmesi

Fungal antijenlere karşı oluşmuş antikorların saptanması için lateks aglütinasyon, kompleman birleşme, immündefüzyon, enzim immünassay yöntemleri gibi serolojik yöntemler kullanılabilir, ancak bu yöntemlerin hiçbiri yüksek özgüllük ve duyarlılığa ulaşamadığından, kolonizasyon nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar olabileceğinden ya da tek bir serum örneği ile tanı konamayıp titre yükselmesinin gözlenebilmesi için ardışık kan örneklerinin alınması gerektiğinden klinik uygulamada genelde kullanılamazlar (26).

Antijenik Yapının Saptanması

Antikor saptama testlerinden yeterli yararlanılamaması nedeni ile fungusa özgü antijenlerin aranması tetkiklerine başvurulmuş ve bu konuda olumlu sonuçlar

alınması nedeniyle bir çok fungus için bu yöntem rutin tanı tetkikleri arasına alınmıştır.

Sistemik *Cryptococcus* enfeksiyonunda serum ve BOS'ta bu fungusun polisakkarit kapsül antijeni, mikroskopik inceleme veya kültürden çok önce saptanabilmekte ve bu test şüphelenilen hastalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Aspergilloz tanısında vücut sıvılarında; plazma, serum, BAL sıvısı veya BOS'ta galaktomannan antijeni saptanması hızlı bir yöntemdir. Bu testten ileriki bölümlerde ayrıntılı olarak bahsedilecektir.

İnvaziv kandidiyazis tanısında kullanılmak üzere geliştirilen serum mannan düzeyini ölçen testin duyarlılığı %40, özgüllüğü %53 saptanmıştır. Bir stoplazmik antijen olan enolazın serumda aranmasının duyarlılığının %86 ve özgüllüğünün %96 olduğu gösterilmiş ancak henüz rutin kullanıma girmemiştir.

Serum, idrar ve BAL sıvısında saptanabilen *Histoplasma capsulatum*'a ait ısıya dayanıklı polisakkarit bir antijen özellikle dissemine enfeksiyonlarda olmak üzere yüksek oranda pozitif saptanır. Aynı antijen *Blastoschizomyces spp.*, *Coccidioides spp.*, *Paracoccidioides spp.*, *Penicillium marneffeii* enfeksiyonlarında da çapraz reaksiyon nedeniyle pozitif saptanabilir. Ancak bu enfeksiyonlar da histoplazmozis gibi tedavi edildiğinden klinik olarak sorun oluşturmaz (26).

Metabolitlerin /Yapısal Komponentlerin Saptanması

Bu amaçla *candida* enfeksiyonlarında D-Arabinitol, *Cryptococcus neoformans* enfeksiyonlarında D-Mannitol kullanılabilir. Yine *Aspergillus spp.*, *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.* türlerinin enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılan 1,3-β-D-glukan bir fungal hücre duvar komponentidir ve bu testten ileriki bölümlerde ayrıntılı olarak bahsedilecektir (26).

Spesifik Nükleik Asitlerinin Saptanması

Solunum yollarından alınan örneklerde flora ve kontaminasyon nedeniyle iyi sonuç alınmadığından çalışmalar steril vücut sıvılarında real time PCR ile aspergillozis ve kandidiyazise özgü nükleik asitlerin saptanması üzerine yoğunlaşmıştır (26).

2.5.c. İnvaziv Fungal Enfeksiyonlarda Klinik Tablolar ve Etkenler

İnvaziv Kandida Enfeksiyonları

Kandidiyaziste enfeksiyon mukozalarda veya ciltte olduğu gibi tek bir organda sınırlı kalabilir veya yaygın enfeksiyon görülebilir. Yüzelliden fazla *Candida* türü olmasına rağmen invaziv kandidiyaziste belirli türler sık görülmektedir. *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. Glabrata*, *C. Parapsilosis*, *C. Guilliermondii*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. pseudotropicalis*, *C. Lusitaniae* en sık rastlanan etkenlerdir.

Patogeneizde; geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı sonucu kolonizasyonun artması, damar içi kateterler veya yoğun kemoterapi nedeniyle mukozaların ve cildin bariyer görevini yerine getirememesi ve nütropeniye bağlı fonksiyon bozukluğu nedeniyle gastrointestinal sistemde veya ciltte kolonize olan mantarların kolayca kana karışarak derin dokulara yayılması rol oynamaktadır.

Kandidemi, akut invaziv kandidiyazis ve kronik invaziv kandidiyazis olmak üzere ayrı ayrı görülebilen veya birbirini takip eden üç klinik tablo şeklinde görülür. Klinik olarak enfeksiyon bulguları olan bir hastada organ tutulumu olmadan kan kültüründe *Candida spp.* üretilmesi kandidemi olarak tanımlanır. Hasta geniş spektrumlu çoklu antibiyoterapi alırken ateş yüksekliği, taşikardi, takipne, hipotansiyon ve genel durumda hızla bozulma olması halinde kandidemi akla gelmelidir.

Kandidemiye ek olarak çoklu organ tutulumu varlığında ise invaziv kandidiyazis düşünülür. Akciğerler, böbrekler, dalak veya karaciğerde mikroapseler veya koagülasyon nekrozu görülür. Nütropenik bir hastada en az üç gün süreyle verilen çoklu geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine rağmen ateşin devam etmesi, iki veya daha çok dokudan kandidanın izole edilmesi ve ateşi açıklayacak başka bir odak bulunamaması durumunda tanı kesinleşir. Bu tabloda nütrofil sayısı yükselmezse uygun antibiyotik tedavisine rağmen hasta hızla kötüleşerek kaybedilir. Bu durumda mortalitenin %90'dan fazla olduğu bildirilmiştir. Nütrofil sayısı hızla yükselirse iyileşme şansı varken, enfeksiyon bir çok dokuya yayıldıktan sonra nütrofillerin yeterli sayıya ulaşması durumunda ise bu defa da nütrofillerin dokulara göç ederek yaptıkları hasar sonucunda bu organlarda hızla yetmezlik gelişerek tablo

yine ölümlerle sonuçlanır. Uzun süren nötropeniden çıkma dönemindeki hastalarda antibiyotik tedavisine rağmen devam eden ateşle beraber kandida tutulumu olan organlardaki granülamatöz reaksiyonla karakterize subakut veya kronik tabloya ise kronik invaziv kandidiyazis adı verilir. Temel mekanizma ise nötropenik dönemde invaze olan mantarın, nötrofillerin sayısı ve fonksiyonunun normale dönmesiyle beraber tutulan dokularda granülamatöz inflamasyon gelişmesidir. Tablo nötropenik olmayan hastada ateşle beraber özellikle dalak ve karaciğerde görüntüleme yöntemleriyle saptanabilen karakteristik nodüllerle seyrederek. Prognoz akut invaziv kandidiyazise göre daha iyidir (27).

İnvaziv Aspergillozis

Doğada toprak ve organik materyallerde yaygın olarak bulunan bir mantar olan *Aspergillus spp.* immünsüprese konakta ağır fırsatçı enfeksiyonlara neden olur (28, 29).

İmmünsüprese hastalar için her zaman önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olan invaziv aspergillozisin insidansı son yıllarda artmıştır. Bu artışın hematolojik maligniteler için sitotoksik tedavi alan hasta sayısındaki artışa bağlı olduğu düşünülmektedir (30). 1990-1998 yılları arasında kök hücre nakli yapılan merkezlerdeki immünsüprese hastalarda invaziv aspergillozis görülme sıklığı %200 artmıştır (31).

İnvaziv aspergillozis için en önemli risk faktörü özellikle hücrel immün yetmezliğe yol açan durumlardır. Bunların başında hematolojik malignansiler, kemik iliği nakli, uzamış ve yüksek doz kortikosteroid tedavisi ve uzamış derin nötropeni gelmektedir (Tablo 2.8) (32).

Tablo 2.8. İnvaziv aspergillozis için risk faktörleri.

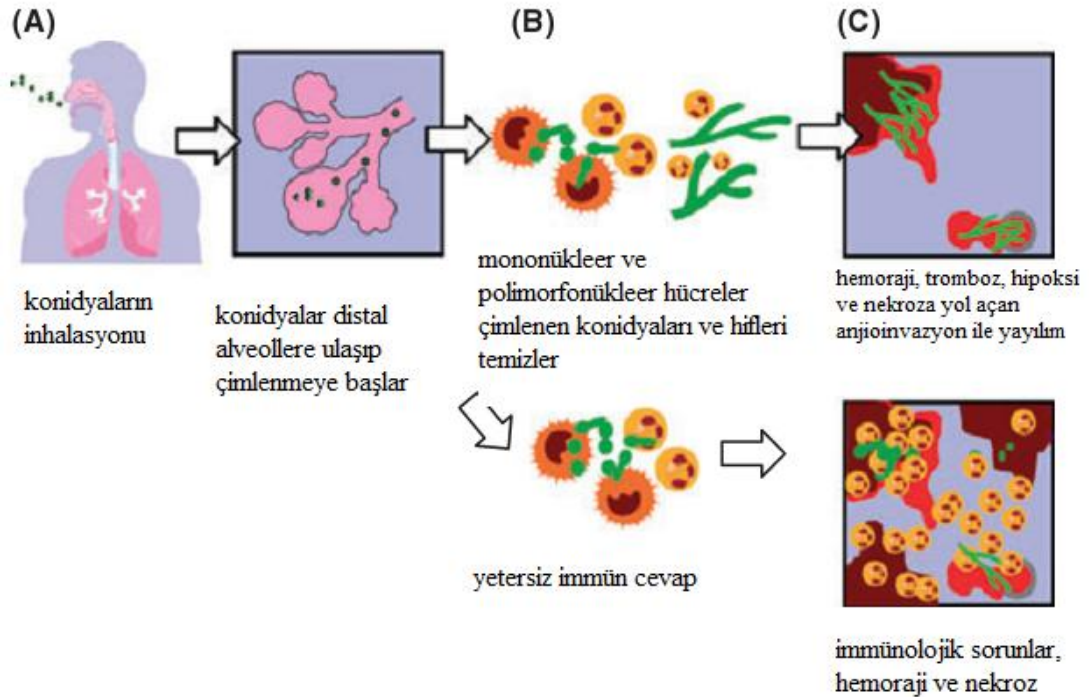
Hematolojik malignansiler
Kemik iliği nakli
Uzamış ve derin nötropeni
Greft versus host hastalığı
Uzamış ve yüksek doz kortikosteroid kullanımı
Sitomegalovirüs enfeksiyonu
Respiratuvar virüs enfeksiyonu
İleri yaş
Hiperglisemi
Sitotoksik kemoterapi
Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
<i>Aspergillus</i> kolonizasyonu
Solid organ alıcısı olmak
Kronik granülamatöz hastalık
Myelodisplastik sendrom
Aplastik anemi
Altta yatan kronik akciğer hastalığı (astım, amfizem gibi)
Kritik yoğun bakım hastaları
İmmün süpresyon yaratan diğer durumlar

En sık *Aspergillus fumigatus* olmak üzere *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* ve *Aspergillus niger* insanda enfeksiyona yol açan başlıca dört türdür (29).

Aspergillozis en sık inhalasyon yoluyla bulaşarak enfeksiyona yol açar. Daha nadir olarak enfeksiyon açık yaralar veya ameliyattan sonra oluşan patolojik sıvıların boşaltılması için konan kateterlerin kolonizasyonu ile lokal doku invazyonunu takiben de gelişebilir (29). İnhalasyon yoluyla bulaşta konidya adı verilen aseksüel sporlar farklı çevre koşullarına uyum sağlayacak yapıda olup *Aspergillus spp.* tarafından bolca üretilip havaya salınır. Bir insan yaklaşık olarak bir günde birkaç yüz adet konidyayı inhalasyon yoluyla almaktadır. *A. fumigatus* sporları diğer üç

türden farklı olarak terminal bronşları da geçerek alveollere ulaşabilecek kadar küçüktür (2-3.5 µm). Daha büyük sporlar üreten *A. flavus* ve *A.niger* daha çok paranasal sinüsler ve üst havayollarında enfeksiyona yol açar. Alveollere ulaşan konidyalar alveolar makrofajlar tarafından hızla fagosite edilerek fagozomlardaki NADPH oksidaz aracılı reaksiyonlarla oluşan oksijen radikalleriyle ortadan kaldırılır (28). Polimorfonükleer lökositler (PMNL) de konidyalardan etrafını sararak primer granüllerinden salgıladıkları laktoferrin aracılığıyla çimlenmeye engel olurlar. Trombositler de konidya ve hiflere yapışarak dens granüllerinden serotonin salgılar ve bu şekilde konidya ve hifler ortadan kaldırılır. Solunum sistemindeki epitel hücreleri tarafından salınan surfaktan, laktoferrin, lizozim ve defensinler gibi solubl antimikrobiyal maddeler de konidyalara karşı alveollerde gelişen ilk savunma mekanizmalarındandır. Ortamdaki konidyalardan bir çoğu da tip 2 pnömositlerin içine alınarak asidik lizozomlarda parçalanır. Ancak bu konidyalardan %3 kadarı canlı kalarak immün sistemden korunur ve *aspergillus* enfeksiyonu için rezervuar görevi görür. Ayrıca konidyalarda bulunduğu pnömositlerin apoptozisini inhibe ederek değişen alveol içi koşullarda canlılıklarını sürdürürler. İlk andaki savunma mekanizmalarından kurtulan ve pnömositler içinde canlı kalan konidyalarda çimlenme adı verilen bir süreç sonucunda doku invazyonundan sorumlu filamentöz yapılar olan hifler oluştururlar. Hifler alveolar makrofajlar tarafından fagosite edilemeyecek kadar büyük olduklarından etraflarını saran PMNL'ler tarafından salgılanan oksijen radikalleri ve antimikrobiyal peptidlerle ortadan kaldırılmaya çalışılırlar (28). Bu yüzden uzamış derin nötrojeni invaziv aspergillozis için en önemli risk faktörüdür (28, 29). Konidya ve hiflerin hücre duvar komponentlerini algılayan patojen tanıyan reseptörler sayesinde salgılanan kemokin ve sitokinler nötrofil birikimi ve antijen spesifik immünitinin uyarılmasını sağlar. Bunlar toll benzeri reseptörler, dektin-1, pentraksin-3, surfaktan protein-A, surfaktan protein-D ve mannoz bağlayan lektindir (28,30). Hücresel savunma mekanizmaları yetersiz olan konakta konidyalarda çimlenerek dokulara invaze olurlar. Mukozal invazyon hem hiflerin epitel hücrelerini delerek büyümeleriyle hem de pnömositler tarafından fagosite edilip canlı kalmayı başaran konidyalarda çimlenerek hif oluşturmasıyla oluşur. *Aspergillus spp.* patogenezinin temel özelliği olan anjio invazyon ise mukozal invazyondan sonra endotel hücrelerini de invaze eden hiflerin pulmoner arteriyol lümenlerine

ulaşmasıyla gerçekleşir. Endotel hücrelerinin invazyonuyla endotel hasarı, proinflatuvar sitokinlerin salınımı, endotel yüzeyinde doku faktörü ekspresyonu, koagülasyon kaskadının aktive olması ve intravasküler tromboz gerçekleşir. Bu süreç enfekte akciğer parankiminin perfüzyonunun bozulmasına ve koagülasyon nekrozu gelişmesine yol açar. (şekil 2.5) Yüksek rezolusyonlu toraks tomografisinde invaziv pulmoner aspergillozisin tipik görünümü olan kama biçimli veya nodüler lezyon çevresinde daha düşük yoğunluklu olarak görülen infiltrasyonla çevrili lezyonlar (halo belirtisi) patolojik olarak merkezdeki enfekte nekroze akciğer parankimi ve çevresindeki alveolar hemorajiyi ifade eder. Bu lezyonlar ayrıca mikroorganizmanın savunma sisteminden yalıtılmış bir halde çoğalmasına olanak sağlar ve uygun antifungal tedaviye rağmen yeterli cevap alınmamasının altında yatan neden olabilir (28).

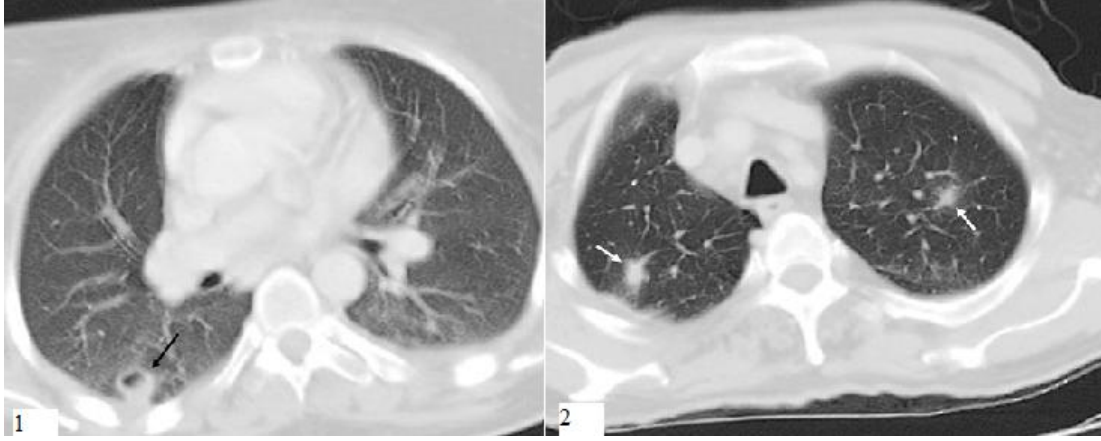


Şekil 2.5. Aspergillozis patogenezi- Ben-Ami R. (28)'den alınmıştır.

Tutulan bölgeye göre pulmoner aspergillozis, kronik invaziv aspergillozis, dissemine aspergillozis, paranasal sinüs aspergillozisi, trakeobronşit, endokardit, endoftalmit, keratit, kutanöz aspergillozis, gastrointestinal aspergillozis, serebral aspergillozis, osteomyelit ve septik artrit olmak üzere farklı klinik tablolar oluşturur (29).

İnvaziv aspergillozisin en sık rastlanan formu pulmoner aspergillozistir. Bu durumda ateş tek klinik bulgu olabileceği gibi göğüs ağrısı, öksürük, dispne, hemoptizi de tabloya eşlik edebilir (29, 30). Vasküler invazyon; göğüs ağrısına yol açan pulmoner infarkt veya hemoptizi ile kendini gösterir. Dissemine aspergilloziste en sık serebral tutulum görülür ve kafa içi basınç artışı veya infarkta bağlı gelişen konvülsiyon veya fokal nörolojik bulgularla seyrederek (30).

Pulmoner aspergillozis tanısı koymak çok zordur. Hastaların %10'unda akciğer grafisi normaldir ancak bazı hastalarda nodüler lezyonlar da saptanabilir (29). Erken tanıda yüksek rezolüsyonlu toraks tomografisi akciğer grafisinden daha yararlıdır. 10-14 gün veya daha uzun seyreden nötropeniye ek olarak ampirik antibiyotik tedavisine cevap vermeyen persistan veya rekürren ateşi olan her olguda yapılması gerekmektedir (30). Tomografide en erken bulgu nodül görünümüdür. Halo belirtisi ise kama biçimli veya nodüler lezyon çevresinde daha düşük yoğunluklu olarak görülen infiltrasyonla karakterizedir ve uygun konak faktörlerini taşıyan hastada invaziv aspergillozisi doğrular. (şekil 2.6) Ayrıca uygun antifungal tedavinin bu dönemde başlatılması ileri tetkikleri bekleyerek başlanmasıyla karşılaştırıldığında tedavi başarısını belirgin olarak arttırmaktadır. Ancak halo belirtisinin anjioinvazyon yapabilen diğer mantar veya bakterilere bağlı da gelişebileceği unutulmamalıdır (30). Nodüllerin büyümesi, birleşmesiyle konsolidasyon alanları, kama şeklinde infarkt alanları ya da kavitasyon gösteren lezyonlar da görülebilir (30, 33) (şekil 2.6). Çocuk hastalarda kavitasyon veya halo belirtisinin yetişkin hastalara oranla daha az sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir (34).



Şekil 2.6. *Aspergillus fumigatus* pnömonisinde yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi, 1.resimde kavite içeren lezyon 2.resimde halo belirtisi izlenmekte-

Karaman C. Z. (33)'dan alınmıştır.

Mikrobiyolojik tanıda ise *aspergillus* hiflerinin dokularda gösterilmesi veya hücre duvar komponentleri olan galaktomannan veya 1,3- β -D-glukan'ın serumda gösterilmesi önemlidir (Şekil 2.7) (30). Tanıda kullanılacak örneklerin elde edilmesinde bronkoskopinin yanı sıra periferik nodüllerde perkütan akciğer biyopsisi kullanılabilir. Ancak invaziv prosedürler çoğu zaman trombositopeni nedeniyle uygulanamayabilmektedir (30).



Şekil 2.7. *Aspergillus fumigatus*.

Bütün yaş grupları değerlendirildiğinde invaziv aspergillozisin mortalitesi %58 iken 20 yaşından küçük hastalarda bu oran %68'e yükselmektedir (35). Bir çalışmada 1980-1996 yılları arasında invaziv aspergillozise bağlı mortalitede %357 artış saptanmıştır (36). Başka bir çalışmada ise Amerika'daki immünsüprese hastalardan invaziv aspergillozisi olanların hastane kalış süresi ve hastane maliyeti aspergillozisi olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (37). Aspergillozisin mortalitesinin yüksek olması muhtemelen tüm gelişmelere rağmen tanıdaki gecikmedir (32).

***Pneumocystis jirovecii* Pnömonisi**

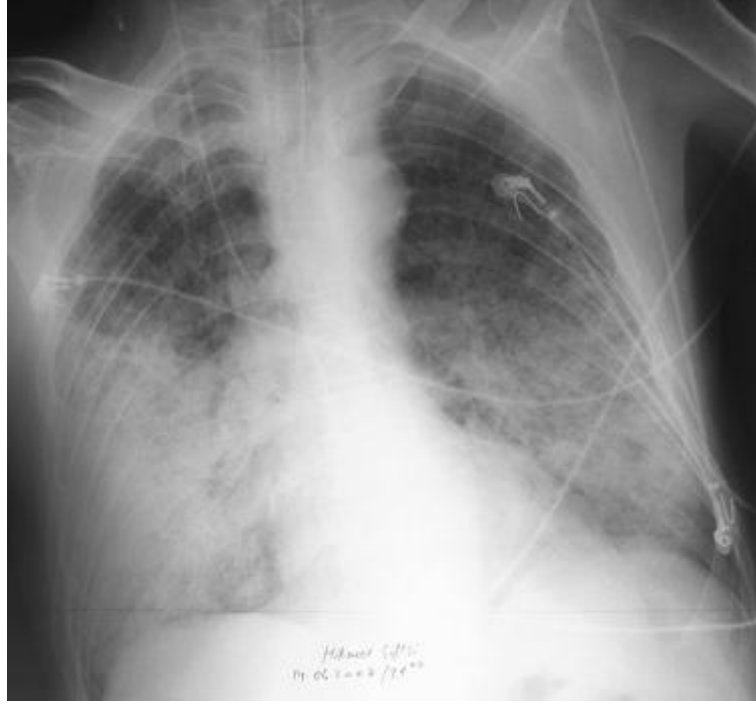
İlk defa 1909'da tanımlanan bir tür olan *Pneumocystis spp.* ilk başta, oluşturduğu enfeksiyonun antiparaziter ilaçlara cevap vermesi nedeniyle parazit olarak tanımlanmıştır. 1910 yılında *Trypanosoma* ile enfekte sıçanların akciğerlerinde *Pneumocystis* türü mikroorganizmaları tanımlayan A.Carini anısına *Pneumocystis carini* olarak adlandırılmıştır. Ancak 1988'de iki araştırmacı; Edman

ve Stringer, *Pneumocystis* ribozomal RNA'sının funguslarda görülen RNA'nın aynısı olduğunu saptamışlar ve bu tarihten itibaren, 1952'de bu organizmayı insanda ilk olarak gösteren araştırmacı Jirovec anısına *Pneumocystis jirovecii* olarak adlandırılmış ve fungus olarak sınıflandırılmıştır. Her ne kadar fungus olarak tanımlanmış olsa da *Pneumocystis jirovecii* fungal kültürlerde ürememesi, antifungal ilaçlara değil antiparaziter ilaçlara cevap vermesi, hücre duvarında funguslarda olduğu gibi ergosterol değil de kolesterol içermesi nedeniyle bilinen funguslardan çok farklıdır. Doğada elma bahçelerinde ve göl sularının yüzeyinde saptanmıştır ancak rezervuarı tam olarak belirlenememiştir. Temel olarak hava yoluyla bulaştığına dair kanıtlar olsa da kişiden kişiye bulaş ve hastane ortamında belki de direkt temas ile bulaş olabileceği de düşünülmektedir (38).

P. Jirovecii enfeksiyonu için risk faktörleri hücresel immün yetmezliğe yol açan insan immünyetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, primer immün yetmezlikler dahil, uzun süreli kortikosteroid ve sitotoksik kemoterapi kullanılan kollajen doku hastalıkları, hematolojik maligniteler ve solid tümörlerdir (38).

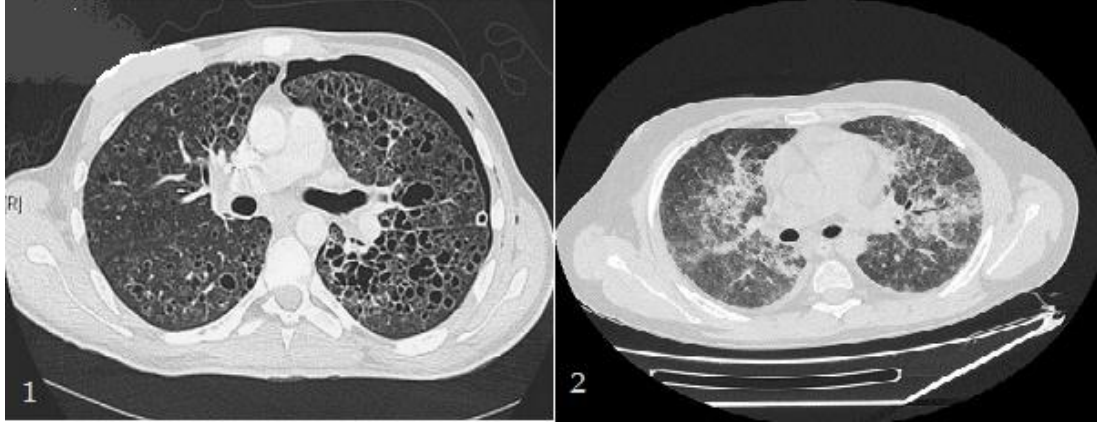
P. Jirovecii akciğerlerde alveollerin içinde bulunur, alveol epiteline yapışarak beslenme ve çoğalma için ihtiyaç duyduğu maddeleri epitel hücreleri ve alveol içi sıvıdan temin ederek yaşar. Bu yapışma sonucu epitelden salınan sitokinler hücresel immüniteyi harekete geçirerek mikroorganizma ile savaşı başlatır. Ancak hem bu süreç hem de alveolar makrofajlar bu enfeksiyon sırasındaki akciğer hasarından sorumludur (38).

Ateş, öksürük ve dispne temel klinik bulgulardır. Hipoksemi varlığında bile fizik muayene normal saptanır. Nadir olarak raller duyulur. Ani gelişen dispne ise hastaların %2-4'ünde gelişebilen pnömotoraks düşünülmelidir. Akciğer grafisinde genellikle bilateral diffüz, retiküler veya granüler opasiteler saptanır. Ancak olguların %40'ında grafi normal de saptanabilir (Şekil 2.8) (38).



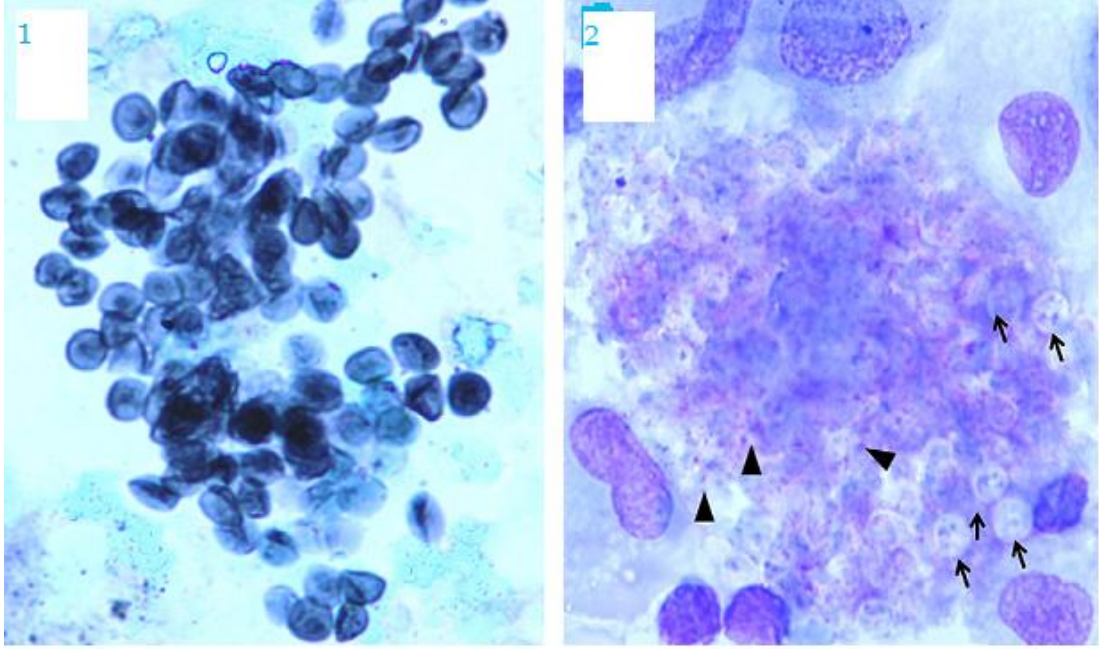
Şekil 2.8. *Pneumocystis jirovecii* pnömonisinde akciğer röntgeni, bilateral yaygın diffüz opasiteler izlenmektedir -Karaman C. Z. (33)'dan alınmıştır.

Yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi tanıda daha duyarlı bir yöntemdir. Tomografide tipik olarak özellikle perihiler bölgede yamalı dağılım gösteren buzlu cam görünümü mevcuttur. Alveol duvar kalınlaşması veya konsolidasyon alanları da eşlik edebilir (33,38). Olguların %10-35'inde bilateral multipl kistler de bulunabilir ve kist varlığında spontan pnömotoraks gelişebilir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. *Pneumocystis jirovecii* pnömonisinde yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi, 1.resimde bilateral yaygın kistler ve sol tarafta pnömotoraks izlenmektedir. 2.resimde özellikle bilateral perihiler bölgede buzlu cam görünümleri, yer yer konsolide alanlar izlenmekte- Karaman C. Z. (33)'dan alınmıştır.

Mikrobiyolojik tanı etkenin kültürde üretilmemesi nedeniyle BAL sıvısı veya balgamda tipik *P. Jirovecii* trofik veya kist formlarının saptanmasıyla konur(şekil 2.10). Diğer bir yöntem de aynı örneklerin floresan boyalı monoklonal antikorlarla boyanması olarak sayılabilir. Bu yöntemin avantajı direkt mikroskopik inceleme ile zor saptanan trofik formu da gösterebilmesidir, bu yüzden tanıda altın standart kabul edilmektedir (38).



Şekil 2.10. *Pneumocystis jirovecii* pnömonisinde BAL sıvısında mikroskopik inceleme 1. resimde kist formu izlenmekte, 2. resimde ok işaretleriyle kistler ve ok ucu ile noktasal nükleus ve açık mavi stoplazma içeren trofik form izlenmekte-
Catherinot E. (38)'den alınmıştır.

Tedaviye rağmen *P. Jirovecii* pnömonisinde mortalite yüksektir. Sağkalım farklı çalışmalarda %50-%65 arasında değişmektedir. Mortalitenin bu kadar yüksek olması sebebiyle immünsüprese hastalarda *P. Jirovecii* profilaksisi için trimetoprim-sulfametaksazol (TMP-SMX) kullanılmaktadır. Ancak dirençli suşlar nedeniyle profilakside kullanılmak üzere yeni antibiyotiklerle ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır (38).

Zigomikoz

Zigomikoz geçmişte mukormikoz, fikomikoz veya mukor olarak da adlandırılan *Zygomycetes* sınıfı *Mucorales* grubu mantarlarla gelişen invaziv enfeksiyonlardır. İmmünsüprese hastalarda invaziv aspergillozisten sonra ikinci en sık fırsatçı mikozdur.

Maligensiler, nötropeni, uzun süreli yüksek doz kortikosteroid kullanımı, kötü kontrollü diabetes insipitus, yanıklar, kronik böbrek yetmezliği, aşırı demir

yüklenmesi, transplantasyona bağlı kronik immünsüpresyon, demir şelasyonu, malnütrisyon ve sitomegalovirüs enfeksiyonu zigomikoz için risk faktörleridir.

Rhizopus oryzae olguların %70'inden sorumlu olup en sık enfeksiyona yol açan türdür. Enfeksiyon oluşturan diğer türler *Rhizopus microsporus*, *Absidia corymbifera*, *Apophysomyces elegans*, *mucor spp.*, *Rhizomucor pusillus* olarak sayılabilir.

Bu türler saprofitik mikroorganizmalardır ve doğada toprakta ve çürüyen organik maddelerde bolca bulunmaktadır. Fungusun sporangiosporları havaya yayılır ve inhalasyon yoluyla solunum sistemine girer. Daha nadir olarak diğer enfeksiyon sahalarından hematojen veya lenfatik yolla da akciğere gelebilir. Hücrel immün yetmezliği olan hastalarda sporlar germinasyona uğrayıp hif yapılarını oluşturur ve temel patojenik mekanizma olarak anjiyovazyona yol açarlar. Yaygın anjiyovazyon sonucunda tromboz ve doku nekrozu oluşur.

Zigomikozun en yaygın formu sinüzittir. Bu hastaların %39'unda rinoserebral tutulum, %24'ünde pnömoni, %23'ünde dissemine enfeksiyon, %19'unda deri ve yumuşak doku enfeksiyonu ve %7'sinde gastrointestinal tutulum olduğu bildirilmiştir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları cilt bütünlüğünün bozulduğu durumlarda ve immün yetmezliği olmayan hastalarda görülür. Pulmoner zigomikozun klinik bulguları pulmoner aspergillozisten ayırt edilemez. Aynı şekilde ateş, öksürük, hemoptizi, göğüs ağrısı ve hızla ilerleyen dispne görülür. Enfeksiyonun ileri dönemlerinde bile klinik bulgular siliktir. Klinik olarak bu iki tabloyu ayırt etmede sinüzit varlığı ve *Aspergillus*'a etkili antifungal ajan kullanım öyküsü olması zigomikoz lehinedir.

Tanıda akciğer grafisinde lobar konsolidasyon, nonspesifik infiltratlar, kavite, kitle, nodüller, tromboz sonrasında kama şeklinde infarkt alanları görülebilir. İnvaziv aspergilloziste olduğu gibi yüksek çözünürlüklü toraks tomografisi tanıda daha yardımcı bir yöntemdir. Multipl nodül varlığının ve plevral efüzyonun zigomikozda aspergillozisten daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Halo belirtisi ve hava-hilal bulgusu da görülebilir.

Mikrobiyolojik tanı doku invazyonuna yol açan hiflerin gösterilmesi veya etkenin kültürde üretilebilmesine dayanır. Alınan örneklerde tipik olarak geniş, dik açıyla dallanan septasız hifler şeklinde görülür.

Pulmoner zigomikozda uygun tedavi başlanmazsa hematojen yolla karşı akciğere yayılım gözlenir ve henüz solunum yetmezliği gelişmemişken sıklıkla dissemine hastalık yüzünden hastalar kaybedilir. Pulmoner zigomikozun mortalitesi %50-70 arasında iken dissemine enfeksiyonun mortalitesi %95'tir.

Zigomikoz olgularının yaklaşık yarısının tanısının postmortem olarak konulması, yüksek riskli hastalarda şüpheli olmanın, tanısal biyopsi uygulamalarının ve tekrarlayan görüntülemeler yaparak erken tedavi başlamanın önemini göstermektedir. Zigomikoz tedavisi; uygun antifungal tedaviye ek olarak enfekte dokunun debridmanının da yapılması gerekliliği nedeniyle diğer invaziv fungal enfeksiyonlarından farklılık göstermektedir (39).

***Fusarium* enfeksiyonu**

Fusarium doğada yaygın olarak bulunan normalde bitki patojeni olan bir mantardır. Toprakta ve sudan izole edilebilir. İnsanda yüzeysel, lokal invaziv veya dissemine enfeksiyonlara yol açar.

Son yıllarda lösemi ve kemik iliği nakli hastalarındaki artışa bağlı olarak *Fusarium* enfeksiyonlarında da artış gözlenmiştir. Kemik iliği nakli yapılanlarda insidans farklı çalışmalarda 5-20/1000 olarak bildirilmiştir.

İmmünsüprese hastalarda en önemli risk faktörleri nötropeni ve uzamış kortikosteroid kullanımındır.

Doğada 50'den fazla *Fusarium* türü vardır ancak en sık *Fusarium solani* olmak üzere başlıca *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme* insanda enfeksiyon yapan türlerdir.

İnvaziv aspergilloziste olduğu gibi fusaryozda da anjiyoinvazyon temel patolojidir. Ancak aspergillozisten farklı olarak dolaşım sistemine sürekli spor salınımı yapar. Bu yüzden olguların %40-50'sinde fungemi tabloya eşlik eder. İnvaziv fusaryoziste tanı koymak oldukça güçtür. Uygun klinik tablonun varlığında mikrobiyolojik ve radyolojik verilerin bir arada değerlendirilmesi gerekmektedir.

Fusarium türüne ait hifler *Aspergillus*'a benzer şekilde septalı olup dikotom dallanma gösterir. Doku incelemesinde *Aspergillus*'tan ayrımı yapılamaz. Ancak immünohistokimyasal inceleme ile ayırt edilebilir. Deri veya kandan etkenin üretilmesi kesin tanıyı koydurur. Diğer hifomikozlardan farklı olarak daha sık

fungemi olması nedeniyle olguların %50-60'ında kan kültüründe üreme saptanabilir. Radyolojik olarak pulmoner aspergillozisten ayırt edilemez.

İnvaziv fusaryozda mortalite %50-80 arasında değişmektedir. Hatta nötropenisi düzelmeyen hastalarda bu oran %100'e yaklaşmaktadır (40).

***Scedosporium spp.* Enfeksiyonları**

Scedosporium spp. toprakta , su birikintilerinde ve bitkilerde bulunabilen saprofitik küflerdir. *S. apiospermum* ve *S.prolificans* olmak üzere başlıca iki tür insanda enfeksiyona yol açar. İmmün süprese hastalarda solunum yoluyla girerek solunum sistemi ve daha sonrada yayılım göstererek dissemine enfeksiyonlara yol açar. Fusaryoza benzer şekilde damar içinde spor salınımıyla fungemiye yüksek oranda yol açar. Bu sebeple olguların %50-70'inde disseminasyon gözlenir. Klinik bulgular aspergillozisten ayırt edilemez. Amfoterisin B direnci olması nedeniyle, invaziv fungal hastalık düşünülen bir hastada bu antifungal ajana rağmen tedaviye yanıt alınamaması durumunda *Scedosporium spp.* enfeksiyonu akla gelmelidir. Doku tanısında mikroskopik incelemede renksiz septalı hifler ve uçlarında açık renkli konidyumları gözlenir. Kesin tanı için etkenin kültürde üretilmesi gerekmektedir (40).

***Trichosporon spp.* Enfeksiyonları**

Trichosporon spp. doğada ve sık olarak insan deri, solunum sistemi ve gastrointestinal sistem normal florasında bulunan bir mantardır. İnsanda enfeksiyon yapan türler, *T. asahii* *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. mocoides*, *T. ovoides*' dir.

İnvaziv enfeksiyon için başlıca risk faktörleri nötropeni varlığıdır. Klinik olarak yüzeysel , mukoza ilişkili ve sistemik enfeksiyonlara yol açabilirler. Tanı solunum sistemi salgıları veya doku örneklerinden, deri biyopsisinden elde edilen örneklerde etkenin gösterilmesi ile konur. Mikroskopik olarak incelendiğinde psödohif, gerçek hif, artrokonidyum ve blastokonidyum şeklinde yapılar gözlenir.

İnvaziv *Trichosporon spp.* enfeksiyonlarında mortalite antifungal tedavilere rağmen %80'e yaklaşmaktadır (40).

***Cryptococcus spp.* enfeksiyonları**

Cryptococcus spp. tomurcuklanarak çoğalan kapsüllü bir maya mantarıdır. Doğada 30'u aşkın türü olmakla birlikte insanda enfeksiyon yapan başlıca türler *C. neoformans* ve *C. gattii*'dir.

Enfeksiyonların oluşması için maya hücrelerinin veya sporlarının solunum yoluyla alınması gerekmektedir. Bundan sonra etken ya enfeksiyona yol açar ya da kolonize halde kalarak immünsüpresyon geliştikten sonra enfeksiyonlara yol açabilir. Enfeksiyon için risk faktörlerinin başında hücrel immün yetmezliğe yol açan durumlar, özellikle HIV enfeksiyonu olmak üzere malignensiler ve sitotoksik tedaviler olarak sayılabilir.

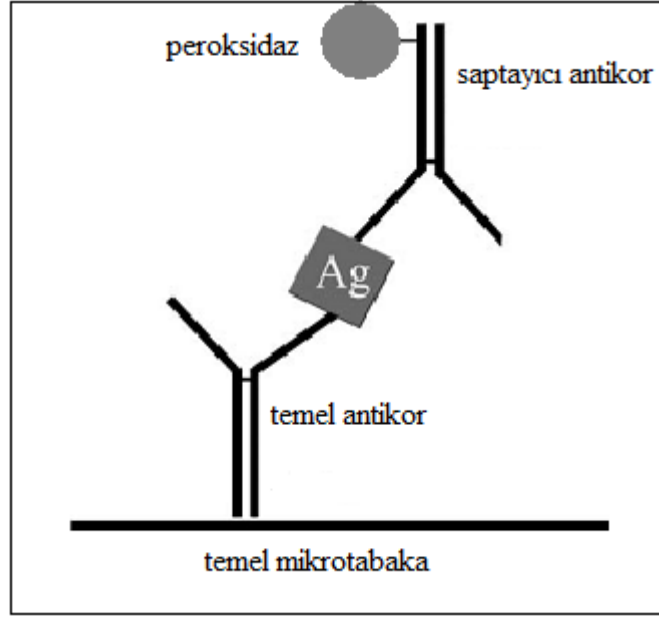
En sık klinik tablo santral sinir sistemi enfeksiyonu veya solunum sistemidir, ancak tüm diğer sistemleri de tutabilir. Pulmoner tutulumda asemptomatik kolonizasyondan akut respiratuvar distrese yol açacak ağır pnömoniye varan geniş bir yelpazede klinik tablolar görülebilir. Solunum sistemini takiben etken hematogen yolla yayılım gösterir ve en sık santral sinir sistemi olmak üzere diğer organlara da yayılır. Santral sinir sisteminde menenjit ve meningoensefalit tablolarına yol açabilir. Tanı için BOS'ta çini mürekkebi ile incelemede kapsüllü maya hücrelerinin görülmesi, etkenin kültürde üretilmesi veya histopatolojik incelemeyle sınıflandırılması gerekir. Ayrıca kriptomokkal kapsül polisakkarit antijeninin serum veya diğer vücut sıvılarında saptanması da tanı koydurucudur. Tedavi edilmediğinde mortalitesi çok yüksektir (40).

2.6.a. Galaktomannan

Galaktomannan *Hyalohyphomycetes* grubu küf mantarlarının hücre duvar yapısında bulunan polisakkarit yapıda bir moleküldür. 25-75 kilo/Dalton büyüklüğündeki bu molekül immünojenik olmayan bir mannan çekirdeğine bağlı farklı uzunluklardaki çok sayıda immünreaktif galaktofuranosil ünitelerinden oluşmaktadır (41). *Aspergillus* enfeksiyonları sırasında damarlar başta olmak üzere çevre yapılara invazyon gösteren fungus çok miktarda galaktomannan salgılar ve bu sayede enfeksiyon sırasında hem serumda hem de enfeksiyon sahasındaki vücut sıvılarında bol miktarda saptanabilir (42).

Geçmişte invaziv aspergillozis tanısında *Aspergillus* antikorları kullanılmış, ancak antikor pozitifliği geçirilmiş ve aktif enfeksiyonlar arasında ayırım yapılmasını sağlayamadığından kullanımı yaygınlaşmamıştır. Yeni tanı yöntemleri arayışları devam ederken ilk defa 1978'de Lehmann ve Reiss (43) invaziv aspergilloziste kanda dolaşan bir antijen rapor etmişlerdir. Deneysel olarak *Aspergillus fumigatus* ile enfekte edilmiş tavşanlardan elde ettikleri serumu sağlıklı tavşanlara vererek immünizasyon sağlamış ve bu tavşanların serumunun da *Aspergillus* hiflerinden elde edilen özütteki bir antijen ile çökelti oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Aynı antijeni invaziv aspergillozisli hastaların serum ve idrarlarında da saptamışlardır. Daha sonra kimyasal analiz yapılarak bu immünreaktif antijenin galaktomannan olduğu anlaşılmıştır. Bu antijeni saptamak için önce radyoimmünassay tekniği kullanılan testler geliştirilmiş ancak düşük antijen konsantrasyonlarında başarısız olması ve kitlerin raf ömrünün kısa olması nedeniyle bu testler yaygın kabul görmemiştir. Ardından serumdaki 10ng/ml galaktomannan düzeyine kadar düşük değerleri bile saptayabilen enzim immünassay yöntemiyle çalışan testler kullanıma girmiş ve şu anda tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (44).

Günümüzde kullanımda olan kitler immünoenzimatik sandviç mikrotabaka analiz yöntemiyle çalışmaktadır. Hasta serumları testi etkileyebilecek protein yapıları veya immüno kompleksleri uzaklaştırmak üzere ortamda etilen diamin tetra asetik asit varlığında ısıyla muamele edilir. Kitte β (1→5) bağlı galaktofuronazı saptayan sıçan monoklonal antikorları kullanılmaktadır. Bu antikorlar hem temel mikrotabakayı kaplamakta hem de peroksidaz-bağlı monoklonal antikorlardan oluşan üst saptayıcı mikrotabakayı oluşturacak reaktifte bulunmaktadır. İmmüno kompleksleri ve proteinleri uzaklaştırılmış serum kitteki yerine eklenerek üzerine saptayıcı reaktif eklendiği zaman monoklonal antikor - galaktomannan - enzim bağlı monoklonal antikor kompleksi oluşmakta ve bu kompleks de substrat eklendiğinde reaksiyona girerek mavi renk oluşturmaktadır. Daha sonra örneklerin optik dansitesi ölçülmektedir (şekil 2.11) (42,45).



Şekil 2.11. Galaktomannan enzim immünoassay testinin mekanizması –
Wheat L.J. (45)'den alınmıştır.

Galaktomannan temel olarak *Aspergillus* ve *Penicillium* türü mantarlarda bulunabilse de bir çok küf mantarının hücre duvarında saptanabilir (Tablo 2.9). Ancak diğer mantarlar hem insanda çok seyrek olarak enfeksiyona yol açtıklarından hem de çok düşük miktarda galaktomannan salınımı yaptıklarından klinik olarak önemsiz sayılırlar (46).

Tablo 2.9. Yapısında galaktomannan bulunan mantarlar.

<i>Aspergillus spp.</i>
<i>Penicillium spp.</i>
<i>Acremonium spp.</i>
<i>Alternaria alternata</i>
<i>Botrytis tulipae</i>
<i>Cladosporium spp.</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Geotricum capitatum</i>
<i>Paecilomyces variotii</i>
<i>Rhodotorula rubra</i>
<i>Trichophyton spp.</i>
<i>Wallemia sebi</i>
<i>Wangiella dermatitidis</i>

Galaktomannan testinin yanlış pozitif saptandığı bir çok durum tanımlanmıştır. Bunlar; mantarlardan üretilen antibiyotiklerin kullanılması, gastrointestinal mukoza hasarı olan hastalarda diyetten galaktomannan kontaminasyonu, benzer hücre duvarı olan mantarlarla enfeksiyon ve hemodiyaliz yapılması olarak sıralanabilir (46).

Serum galaktomannan düzeyini etkileyen temel faktörler enfekte dokunun büyüklüğü, antifungal antibiyotik kullanımı ve galaktomannanın böbrek yoluyla uzaklaştırılma kapasitesidir (46). Galaktomannan antijeni serumdan kısa sürede uzaklaştırıldığından haftada 2 defa veya daha sık bakılması önerilmektedir (26). İki ya da daha fazla ardışık serum örneğinin pozitif olması testin duyarlılığını daha da arttırmaktadır. Ayrıca BAL sıvısında saptanması serumda saptanmasından daha duyarlıdır (47).

2.6.b. Galaktomannanın İnvaziv Aspergillozis Tanısındaki Rolü

İlk defa 1994 yılında Stynen ve ark. (42) tarafından kullanılmaya başlandığından itibaren, üretici firmanın da belirttiği gibi galaktomannan indeksi 1.5 ve üzerinde olduğunda test pozitif, 1'in altındaki değerler negatif ve 1-1.49 arasındaki değerler gri zon olarak kabul ediliyordu (44). Ancak zaman geçtikçe çalışmacılar daha erken tanı koyabilmek için eşik indeks değerlerini 1 ve daha üstündeki değerler pozitif olacak şekilde kullanmaya başlamışlardır (11,44,48-50). Serum galaktomannan ölçümü 2003 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından kanser hastalarında invaziv aspergillozisin tanısında faydalı bir yöntem olarak kabul edilmiş ve 0.5 ve üzerindeki indeks değerler pozitif olarak tanımlanmıştır (51). Şu anda üretici firma da test kitinin kullanma kılavuzunda 0.5 ve üzerindeki galaktomannan indeks değerlerinin pozitif kabul edilmesi gerektiğini ifade etmektedir.

Kawazu ve ark. (52)'nin 96 hematolojik malignensili kemoterapi almakta olan yetişkin hastada yaptıkları prospektif çalışmada antibiyotiğe yanıtız febril nütropenide haftalık galaktomannan ölçümleri yapılmış, 0.5 ve üzerindeki galaktomannan indeksi pozitif kabul edilmiş ve toplam 149 atakta EORTC/MSG kriterlerine göre 9 kanıtlanmış, 2 muhtemel ve 13 olası invaziv aspergillozis teşhisi konmuştur. Çalışmada galaktomannan testinin sensitivitesi %100, spesifitesi %83 bulunmuştur (52).

Weisser ve ark. (53)'nin kök hücre nakli yapılan veya kemoterapi alan 109 yetişkin hastadaki 161 febril nütropeni atağında haftada 2 defa galaktomannan ölçümü yapılmış ve iki veya daha fazla ölçümdeki 0.5 ve üzerindeki indeks değerler pozitif kabul edildiğinde sensitivite %80 ve spesifite %71 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada invaziv fungal enfeksiyonu olmayan 20 hastada (%18) en az iki ölçümde test pozitif saptanmış, yüksek yanlış pozitiflik oranı hastalarda piperasilin-tazobaktam kullanılmasıyla ilişkilendirilmiştir (53).

Yoo ve ark. (54)'nin febril nütropenisi olan 128 yetişkin hastada yaptıkları çalışmada antibiyotiğe yanıtız ateşin başlangıcından itibaren haftada 2 defa yaptıkları galaktomannan ölçümleriyle 0.5 ve üzerindeki değerler pozitif kabul edildiğinde testin sensitivitesi %86 ve spesifitesi %78 bulunmuştur. Çalışma sırasında verilerin analizinde EORTC/MSG kriterlerine göre 2 kanıtlanmış ve 12

muhtemel invaziv aspergillozis hastanın değerleri kullanılmış olası invaziv aspergillozis olguları dahil edilmemiştir (54).

Suankratay ve ark. (55)'nin hematolojik malignensisi olan 44 ntopenik yetişkin hastada yaptıkları prospektif çalışmaya 50 febril ntopeni atağı dahil edilmiş ve 0.75 ve üzerindeki galaktomannan indeksleri pozitif olmak üzere en az 2 defa pozitiflik saptanması halinde galaktomannan testinin sensitivitesi %94 ve spesifitesi % 61 bulunmuştur. Veriler analiz edilirken EORTC/MSG tanı kriterlerine göre sadece kanıtlanmış ve muhtemel invaziv fungal enfeksiyonlu ataklar kullanılmış, olası invaziv aspergillozisli ataklar hesaplamalara katılmamıştır (55).

Foy ve ark.'nın (10) kök hücre nakli yapılan 71 yetişkin ve 50 ocuk hastada yaptıkları retrospektif çalışmada, iki haftada bir düzenli olarak galaktomannan düzeyi ölçülmüş olan hastaların verileri incelenmiş ve 0.5 ve üzerindeki değerler pozitif kabul edildiğinde testin sensitivitesi %50 ve spesifitesi %94 saptanmıştır. 7 hastada test yanlış pozitif sonuç vermiştir. Veriler analiz edilirken ocuk hastalar tek başına değerlendirildiğinde testin sensitivitesi % 25 ve spesifitesi %90 olarak hesaplanmıştır (10).

Herbrecht ve ark.'nın (11) hematoloji onkoloji bölümlerinden yetişkin ve ocuk hastalarla yaptıkları çalışmada 797 febril ntopeni atağında toplanan toplam 3294 serum örneğinde galaktomannan çalışılmış ve EORTC/MSG kriterlerine göre kanıtlanmış, muhtemel ve olası invaziv aspergillozis tanısı konan ataklarda sensitivite sırasıyla %64,5, %16,4 ve %25,5 bulunmuştur. Galaktomannan indeksi eşik değeri 1,5 ve üzeri olarak kabul edildiğinde spesifite %94,8 hesaplanmıştır (herbrecht). Çocuklarda yetişkin hastalara oranla %44 ile çok yüksek yanlış pozitiflik rapor edilmiş ancak yanlış pozitifliklerin etyolojisi aydınlatılamamıştır (11).

Steinbach ve ark.'nın (12) kök hücre nakli yapılan 64 ocuk hastada yaptıkları çalışmada ntopeni süresince haftada iki defa galaktomannan çalışılmış ve toplam 826 örnekte, EORTC/MSG tanı kriterlerine göre invaziv aspergillozis tanısı konan ataklarda 0,5 ve üzeri indeks değerleri pozitif kabul edildiğinde testin spesifitesi %87,3 bulunmuştur. Sensitivite konusunda bilgi verilmeyen çalışmada çoğu piperasilin-tazobaktam kullanımıyla açıklanan %12,7 oranında yanlış pozitiflik bildirilmiştir (12).

Hayden ve ark.'nın (13) invaziv aspergillozis için yüksek riskli çocuk onkoloji hastalarında prospektif olarak yaptıkları çalışmada 56 hastada toplam 990 örnekte galaktomannan çalışılmış ve EORTC/MSG tanı kriterlerine göre invaziv aspergillozis tanısı alan 17 hastada galaktomannan testinin sensitivitesi %65,7 ve spesifitesi %87,2 saptanmıştır. Radyografik olarak tanı konmadan ortalama 10 gün önce galaktomannan testinin pozitifleştiği gözlemlenmiştir. İnvaziv fungal enfeksiyonu olmayan 39 hastada %12,8 oranında yanlış pozitiflik görülmüş ve yanlış pozitifliğin etyolojisiyle ilgili bir açıklama yapılmamıştır (13).

Castagnola ve ark.'nın (14) yoğun kemoterapi alan veya allojenik kök hücre nakli yapılan çocuk hastalarda retrospektif olarak yaptıkları çalışmada 119 hastada 1812 örnek test edilmiş ve tek sonucun 0,7 ve üzerinde olması ya da iki ve daha fazla sonucun 0,5 ve daha üzerinde olduğunda galaktomannan testi pozitif kabul edildiğinde sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer (PPV) ve negatif prediktif değerleri (NPV) sırasıyla %32, %98, %70 ve %92 bulunmuştur. Çalışmada %7 oranında yanlış pozitiflik saptanmış ve kısmen piperasilin-tazobaktam kullanımıyla ilişkilendirilse de piperasilin-tazobaktam bütün yanlış pozitiflikleri açıklamada yetersiz kalmıştır (14).

El-Mahallawy ve ark.'nın (15) yoğun kemoterapi alan invaziv aspergillozis için yüksek riskli çocuk hastalarda yaptıkları prospektif çalışmada 91 febril nötropeni atağında, 15 kanıtlanmış, 13 muhtemel ve 14 olası invaziv aspergillozis tanısı konmuş ve çalışmada galaktomannan testinin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla % 79, %61, %54 ve % 83 olarak bildirilmiştir (15).

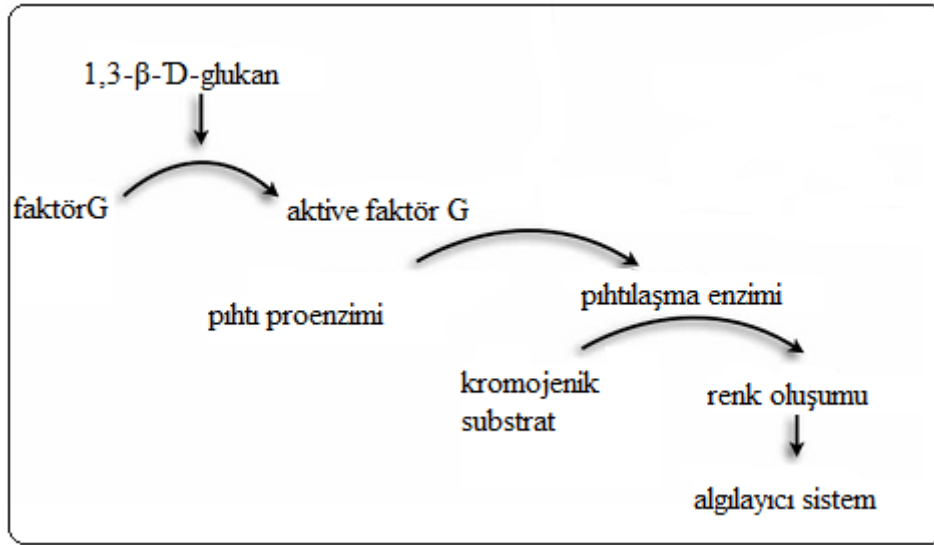
Öz ve Kiraz'ın (3) çocuk hastalarda invaziv fungal enfeksiyonların tanı yöntemleriyle ilgili çalışmaların incelendiği derlemede çocuk hasta grubunda serum galaktomannan ölçümünün en büyük kısıtlamasının bu hasta grubunda görülen yüksek pozitiflik oranı olduğu ifade edilmiştir. Bu sebeple invaziv aspergillozis tanısının tek ölçümle değil yüksek riskli hastalarda seri ölçümlerle ve laboratuvar verileriyle klinik tablonun bulguların kombine edilmesiyle konulması önerilmiştir (3).

2.7.a. 1,3-β-D-glukan

BG çoğu mantar türünün hücre duvarında bulunan major bir karbonhidrat fraksiyonudur. Fungal enfeksiyonlar sırasında immün sistem hücreleri ve bazı reseptörlerle etkilşerek immün cevapları ve bazı efektör yolakları harekete geçirme etkisi de vardır (56).

İlk defa 1968'de Levin ve Bang (57) *Limulus polyphemus* adındaki Amerikan atnalı biti amebosit lizatlarıyla bakteriyel endotoksinleri göstermek için bir test geliştirmişlerdir. 1978'de Lehmann ve Reiss (43) deneysel olarak *Aspergillus fumigatus* ile enfekte edilmiş tavşan ve sıçanlardan elde ettikleri serumu kullanarak galaktomannan olduğu sonradan anlaşılan bir antijen bulmuşlardır. Bu deneyler sırasında serumda BG varlığı saptanmış ancak antijenik olmadığı düşünülmüştür. 1981'de ise Kakinuma ve ark. (58) Levin ve Bang'in geliştirdiği testi kullanarak BG'nin anti tümör ajan olarak kullanılabilirliğini incelerken tesadüfen BG'nin test kitinin rengini değiştirdiğini farketmişlerdir. Yine aynı yıl içinde Morita ve ark. (59) Japon atnalı biti lizatlarıyla çalışırken BG'nin *Limulus* testini faktör G adı verilen bir proenzimi aktive edip pıhtılaşma kaskadını harekete geçirdiğini bulmuşlardır. 1986'da Obayashi ve ark. (60) invaziv fungal enfeksiyonların teşhisinde non invaziv bir yöntem olarak kullanılabilir bu esaslarla çalışan kromojenik bir test geliştirmişlerdir. Temel kanıtlama çalışmalarının ardından 1995'te ilk çok merkezli geçerlilik çalışmasını yayınlamışlardır (61). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından benzer bir test 2004'te kullanılmış ve prospektif bir geçerlilik çalışmasının ardından invaziv fungal enfeksiyonların teşhisinde yardımcı bir tanı yöntemi olarak kabul edilmiştir (62).

Günümüzde kullanılan kitlerde BG, *Limulus Polyphemus* lizatlarındaki faktör G'yi aktive faktör G 'ye dönüştürerek pıhtılaşma kaskadını çalıştırır ve bu şekilde kromojenik substrat renk değiştirerek BG'nin serumdaki düzeyi saptanabilir(şekil 2.12) (56).



Şekil 2.12. 1,3-β-D-glukan testlerinin mekanizması – Marty F.M (56)'den alınmıştır.

BG *Cryptococcus neoformans* ve *Zygomycetes* dışındaki nerdeyse tüm mantarların hücre duvarında bulunur (tablo 2.10). İnvaziv kandidiyazis tanısında kullanılabilen BG, sistemik tutulumun olmadığı mukozal kandidiyaziste serumda saptanamamaktadır (56).

Tablo 2.10. Serum 1,3-β-D-glukan'ın tanıda kullanılabileceği fungal etkenler

<i>Candida spp.</i>
<i>Aspergillus spp.</i>
<i>Fusarium spp.</i>
<i>Acremonium spp.</i>
<i>Trichosporon spp.</i>
<i>Scedosporium spp.</i>
<i>Fonsecaea spp.</i>
<i>Phaeoacremonium spp.</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
<i>Pneumocystis jirovecii</i>

BG bazen invaziv fungal enfeksiyonlar dışında da kanda bulunur ve bu durumlarda test yanlış pozitif saptanır (Tablo 2.11). Tabloda sıralanan durumlarda bu ürünlerin üretim sürecinde BG ile kontamine oldukları düşünülmektedir. Gram-pozitif bakteriyemi varlığı ise kesin olarak kanıtlanamamakla birlikte bazı çalışmalarda yanlış pozitif sonuçlara yol açtığı rapor edilmiştir (56).

Tablo 2.11. 1,3-β-D-glukan'ın yanlış pozitif saptandığı durumlar.

Selüloz içeren membranlarla hemodiyaliz yapılması
İntravenöz immünglobulin, albumin gibi ticari kan ürünleri verilmesi
Cerrahi olarak vücuda yerleştirilen yama materyalleri
Piperasilin-tazobaktam, amoksisilin-klavulonat, azitromisin ve diğer birçok intravenöz antibiyotik kullanımı
Gram-pozitif bakteriyemi varlığı
Mukozit varlığı veya <i>Candida</i> kolonizasyonu

BG'nin serumdaki konsantrasyonu tedavi edilmeyen fungal hastalığın progresyonuna, enfekte doku yüküne, etyolojideki fungal ajana, bu ajanın anjiinvazyon kapasitesine ve enfeksiyon sırasında salınan BG moleküllerinin yapısı ve büyüklüğüne bağlıdır. Küçük molekül büyüklüğü olan moleküller böbreklerden sekrete edilerek kandan temizlenirken daha büyük moleküller ise karaciğerde Kupffer hücreleri tarafından temizlenmektedir. Kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda invaziv fungal enfeksiyon tedavi edilerek galaktomannan negatifleştikten sonra dahi uzun yıllar boyunca serumda BG pozitif kaldığı gösterilmiştir (56).

2.7.b. İnvaziv Fungal Enfeksiyonların Tanısında 1,3-β-D-glukan'ın Rolü

Odabaşı ve ark. (62) miyelodisplastik sendrom veya AML'li, indüksiyon kemoterapisi alan 283 yetişkin hastada yaptıkları çalışmada nötropeni başlangıcından itibaren haftada iki defa hastaların serum örneğinde kör olarak BG çalışılmıştır. Test edilen hastaların hepsinde standart kemoterapi protokolünün yanısıra itrakonazol veya kaspofungin ile antifungal profilaksi kullanılmıştır. Çalışma sırasında 16

kanıtlanmış ve 4 muhtemel invaziv fungal hastalık atağı bulunmuştur. Bu çalışmada Fungitell marka BG test kitleri kullanılarak 60 pg/ml ve üzerindeki değerler pozitif kabul edildiğinde , sonradan invaziv fungal hastalık tanısı alan hastalarda en az bir serum örneğinin pozitif olduğu saptanmıştır. Tek örnekteki pozitiflik değerlendirildiğinde testin sensitivitesi %100, spesifitesi %90 saptanmışken, iki örnek pozitif olduğunda ise sensitivitenin %65 ve spesifitenin %96 olduğu bulunmuştur. Kanıtlanmış veya muhtemel invaziv fungal enfeksiyon teşhisi alan hastalarda klinik teşhis konmadan ortalama 10 gün kadar önce testin pozitifleştiği gösterilmiştir. Testin negatif prediktif değerinin %100 olduğu rapor edilmiştir . Bu çalışmada bilindiği kadarıyla fungal enfeksiyonu olmayan 10 hastada da en az bir defa yanlış pozitif BG testi saptanmış ve bu hastaların selüloz membranlarla hemodiyaliz yapılan, intravenöz immünglobulin tedavisi alanlar ve BG ile kontamine cerrahi materyal kullanılmış hastalar olduğu rapor edilmiştir. Yine aynı çalışmada olası fungal pnömoni tanısı alan bazı hastalarda testin negatif olduğu saptanmış, yazarlar tarafından bu durum, EORTC/MSG kriterlerine göre olası fungal hastalık tanımının, gerçekte viral veya bakteriyel pnömoni de olabilecek klinik durumları da kapsamından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. (62).

Senn ve ark. (63)'nın lösemi nedeniyle takip edilen ve immünsüpresif tedavi alan 95 yetişkin hastada yaptıkları prospektif çalışmada toplam 190 nötropenik atak takip edilmiştir. Nötropeni başladıktan sonra haftada iki defa ve hastaların febril hale gelmesinden sonra Wako kolorimetrik kit kullanılarak günlük seri BG ölçümleri yapılmıştır. Çalışma süresince 5 kanıtlanmış ve 10 olası fungal hastalık olmak üzere toplam 30 invaziv fungal hastalık teşhis edilmiş ve 11 pg/ml eşik değeri ile tek pozitif değer referans alındığında sensitivite %50 ve spesifite %89 iken 7 pg/ml eşik değeri ile iki pozitif değer referans alındığında ise sensitivite ve spesifite sırasıyla %63 ve %96 saptanmıştır. Hastalarda fungal hastalık klinik tanı kriterlerine göre teşhis edilmeden en geç 3 gün en erken 16 gün önce BG pozitifliğinin başladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, gastrointestinal fungal kolonizasyon veya mukoziti olan, persistan nötropenik ateş nedeniyle ampirik antifungal terapi alan ve hastaların %4'ünü oluşturan bir grupta yanlış pozitiflik saptanmış ve bu durum hastalarda henüz teşhis edilmemiş erken evre bir fungal hastalık olabileceğini düşündürmüştür. Kanıtlanmış veya muhtemel fungal hastalığı olan 11 hastada ise yanlış negatiflik

saptanmıştır. Bu hastaların 6'sı profilaktik veya ampirik antifungal tedavi almaktayken diğer 5 hastadaki yanlış negatiflik etyolojideki fungal türün, tür spesifik hücre duvar BG miktarının az olmasınana bağlanmıştır (63).

Ostrosky-Zeichner ve ark. (64)'nin kanıtlanmış veya muhtemel invaziv fungal hastalık tanısı almış 163 yetişkin hasta ve 170 sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, invaziv fungal hastalık tanısı konduktan sonraki 72 saatte alınan örneklerde BG çalışılmış ve eşik değeri 60 pg/ml olduğu zaman sensitivite ve spesifitesinin sırasıyla %69.9 ve %87.1 iken, 80 pg/ml için yine sırasıyla %64.4 ve %92.4 olduğu bulunmuştur. BG değerleri kanıtlanmış invaziv fungal hastalık olgularında muhtemel invaziv fungal hastalık tanısı alanlarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Olası fungal hastalık tanısı alanlar tek başına değerlendirildiğinde test kitinin sensitivitesinin %49.2'ye düştüğü gösterilmiş ve bu durumun, bu olguların bir kısmının etyolojisinde fungal hastalık dışında patolojilerin olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Çalışmada hemodiyaliz yapılan bir olguda BG yanlış pozitif saptanmış ve sonucun selüloz diyaliz membranının BG kontaminasyonundan kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (64).

Ellis ve ark. (65)'nin antibiyotiğe yanıtız febril nütropenisi olan hematolojik malignensili 100 yetişkin hastada yaptıkları çalışmada invaziv fungal hastalık teşhisi alan 38 hastada diğer hastalara oranla BG düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur. Febril nütropenin geliştiği andan itibaren gün aşırı olarak yapılan seri BG ölçümlerinde 80 pg/ml ve üzeri pozitif kabul edildiğinde iki veya daha fazla pozitif değerin spesifitesinin %81.3, sensitivitesinin %86.8, pozitif prediktif değerinin %76.7 ve negatif prediktif değerinin %86.5 olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada kan örneklemesine antibiyotiğe yanıtız ateşin ilk gününden değil de febril nütropenin başladığı günden itibaren başladığında %50 hastanın klinik invaziv fungal hastalık teşhisinden 5 gün önce teşhis edilebileceği ifade edilmiştir (65).

Koo ve ark. (66)'nin 871 hematolojik malignensi veya transplant sonrası immünsüpresyon nedeniyle invaziv fungal hastalık risk faktörlerini taşıyan yetişkin hastayı retrospektif olarak incelediği çalışmada BG testinde 80 pg/ml'nin üzerindeki tek değer pozitif olarak kabul edildiğinde sensitivitenin % 64 ve spesifitenin %84 olduğunu bulmuşlar ve birden fazla ölçümün sensitivite ve spesifiteyi arttırdığını

belirtmişlerdir. Yanlış pozitif sonuçlar diğer çalışmalarda olduğu üzere intravenöz albumin, immünglobulin ve çeşitli antibiyotiklerin kullanımı ve selüloz membranlar ile hemodiyaliz yapılması ile açıklanmıştır. Bu çalışmada 126 olası fungal hastalık tanısı alan hastada BG'nin tanı kriterlerine katılması durumunda hastaların %54'ünde tanı kategorisinin muhtemel fungal enfeksiyona yükseleceği ifade edilmiştir (66).

Racil ve ark. (67)'nin 91 hematolojik malignensili yetişkin hastada yaptıkları çalışmada invaziv fungal enfeksiyon riski taşıyan bu hastalardan haftada iki defa BG için kan örneği alınmış ve retrospektif olarak çalışılmıştır. Toplam 104 kemoterapi siklusu çalışmaya dahil edilmiş ve bu siklusların 9 tanesinde kanıtlanmış veya muhtemel ve 9 tanesinde olası invaziv fungal enfeksiyon teşhisi konmuştur. 60 pg/ml'nin üzerindeki tek pozitif değer esas alındığında testin spesifitesi %20 ve sensitivite %89 saptanmıştır. Eşik değeri 80 pg/ml'ye yükseltildiğinde veya bir hastada birden çok pozitif örnek alındığında spesifitenin düştüğü ve sensitivitenin yükseldiği gözlemlenmiştir. Bütün kemoterapi siklusları göz önüne alındığında 60 pg/ml'nin üzerinin pozitif kabul edildiği durumda toplam 38 kemoterapi siklusunda çalışılan BG'nin yanlış pozitif olduğu rapor edilmiştir. Bu yüksek yanlış pozitifliğin testin çok hassas olmasından kaynaklanabileceği, tüm hastalar ampirik veya profilaktik antifungal tedavi aldıklarından, klinik olarak fark edilemeyen erken evre bir invaziv fungal hastalığa bağlı olabileceği ve klinik olarak ortaya çıkamadan kullanılan antifungal tedaviyle ortadan kaldırılmış olabileceği öne sürülmüş ancak bu hipotezi kanıtlayacak verilere ulaşılamamıştır. Çalışmadaki yüksek yanlış pozitifliğin sebeplerini açıklamak üzere hastalar özellikle mukozit, kandida kolonizasyonu, bakteriyemi, kullanılan antibiyotikler, eritrosit ve trombosit filtreleri, kan tüpleri ve venöz kateterlerin BG kontaminasyonu açısından tekrar değerlendirilmiştir. Değerlendirilen 8 bakteriyemi siklusunun 6'sında yanlış pozitiflik görülmüştür. Hastalarda kullanılmış olan antibiyotikler BG açısından test edildiğinde sadece sefepimin sulandırılmadan test edildiğinde BG değerinin 60 pg/ml'nin üzerinde olduğu görülmüş, ancak uygun şekilde sulandırıldığında BG testi eşik değer altına inmiştir. Değerlendirmeler sonucunda bu parametrelerin hiçbiri tek başına yanlış pozitifliklerin tümünü açıklayamazken, toplamda 38 yanlış pozitif siklusun sadece 13'ünde yanlış pozitifliği açıklayacak olası bir neden bulunamamıştır. Diğer 25 siklusta yukarıda bahsedilen nedenlerden en az biri yanlış pozitifliği açıklamak için

kullanılabilmiştir. Sonuç olarak ise BG pozitifliğinin antifungal tedavi başlamak için tek başına yeterli olmadığı ifade edilmiştir (67).

Digby ve ark. (68)'nin 46 yetişkin yoğun bakım hastası ve 8 sağlıklı hastada yaptıkları çalışmada, çalışılan kitin standardına göre 20 pg/ml'nin üzerindeki değerler pozitif alındığında bütün sağlıklı kontrollerde BG negatifken, gram pozitif bakteri veya fungal enfeksiyonu olan hastalarda pozitif saptanmıştır. Bu iki enfeksiyon grubu arasında BG değerleri açısından fark saptanmamıştır (68).

Alexander ve ark. (69)'nin akciğer transplant alıcısı 73 yetişkin hastada yaptıkları çalışmada, 14 kanıtlanmış veya muhtemel invaziv fungal enfeksiyon saptamış ve eşik değeri 60 pg/ml olarak alındığında testin sensitivitesi %64.3 ve spesifitesi % 8.5 saptanmıştır. İnvaziv fungal hastalığı olmayan 59 hastanın %92'sinin en az bir defa BG pozitifliği saptanmıştır. Bu yüksek yanlış pozitiflik nedeniyle testin negatif prediktif değeri %97 saptanmıştır. Çalışmacılar yaptıkları incelemelerde hastalarındaki yanlış pozitifliklerin etyolojisinde intravenöz piperasilin-tazobaktam kullanımı, selüloz membranlarla hemodiyaliz ve bakteriyemi olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlar doğrultusunda BG testinin hastalarda invaziv fungal enfeksiyon olmadığını göstermek konusunda yardımcı olabileceğini ifade etmişlerdir (69).

Pickering ve ark. (70)'nin yaptıkları çalışmada 36 sağlıklı yetişkin hastada çalışılan BG negatif iken, 25 bakteriyemisi olan hastanın 14 tanesinde BG pozitif saptanmıştır. Bu hastaların 5 tanesinde BG pozitif olabilecek antibiyotik kullanımı, birinde hemodiyaliz ve birinde de intravenöz immünglobulin kullanımı saptanmışken geri kalan yanlış pozitifliklerin kaynağı bulunamamıştır. Çalışmacılar üretim sırasında kontamine olan antitümör ilaçların da yanlış pozitiflikte rol alabileceğini ifade etseler de bakteriyemisi olan hastalardaki yanlış pozitifliklerin çoğu açıklamasız kalmıştır (70).

Kersten ve ark. (71) ise 9 hematolojik malignensili ve *P.aureginosa* bakteriyemisi olan hastanın 2 tanesinde BG yanlış pozitifliği saptadıktan sonra, *P.aureginosa* kültürlerinden alınan materyali BG açısından test ederek testin yüksek pozitif olduğunu göstermişler ve sadece BG pozitifliğinin invaziv fungal hastalık tedavisi başlamak konusunda tek başına kullanılmaması gerektiği ifade edilmiştir.

Aynı çalışmada 1 hastada da *S.pneumoniae* bakteriyemisine bağlı BG yanlış pozitifliği saptanmıştır (71).

Smith ve ark. (16) immün sistemi baskılanmamış ve enfeksiyonu olmayan 120 sağlıklı çocukta BG çalışmışlar ve ortalama değerleri 68 ± 128 pg/ml saptamışlardır. Olguların BG değerleri oldukça heterojen bir dağılım göstermiş ve 947 pg/ml'ye varan sonuçlar saptanmıştır. Eşik değerine göre sınıflandırıldığında ise olguların %68'inde BG 60 pg/ml'nin altında, %7'sinde 60-79 pg/ml arasında ve %15'inde 80 pg/ml'nin üstünde saptanmıştır. (16)

Mokaddas ve ark. (2)'nin 63 malignensili çocuk hastada yaptıkları çalışmada *Candida spp.* ile kolonize hastalar belirlenmiş ve bu hastalarda BG, manan ve *candida* DNA düzeyleri çalışılmıştır. Diğer iki testte yanlış pozitiflik görülmezken *Candida spp.* ile kolonize hastaların %30'unda BG yanlış pozitifliği saptanmıştır. Bu yanlış pozitifliğin kontamine antibiyotik kullanımı, diyaliz veya bakteriyel sepsise bağlı olabileceği gibi mukozite bağlı fungal translokasyon sonucu olabileceği ifade edilmiştir (2).

Mularoni ve ark. (17)'nin 4 kanıtlanmış invaziv fungal enfeksiyonu olan çocuk hastada çalıştıkları BG düzeyleri 523 pg/ml'nin üzerinde saptanmış ve bu sonuçlardan yola çıkarak çocuk hastalarda fungal enfeksiyon varlığında yetişkinlere oranla daha yüksek BG düzeyleri görüleceği rapor edilmiştir. (17)

Öz ve Kiraz (3)'ün çocuk hastalarda fungal enfeksiyonların mikrobiyolojik, serolojik ve moleküler tanı yöntemleriyle ilgili araştırmaları inceledikleri derlemede; çocuk hastalarda BG ile ilgili literatürde yapılmış az sayıda çalışma olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmaların incelenmesi sonucunda çocuk hasta grubunda BG yanlış pozitifliğinin yüksek olması, enfeksiyonu saptasa bile fungusun tipini gösterememesi ve teknik olarak hassas bir test olması nedeniyle bu testin çocuk hastalarda tanı için tek başına kullanılmaması gerektiği, antifungal tedavi başlanmadan önce muhakkak diğer tanı yöntemleriyle tanının doğrulanması gerektiği ifade edilmiştir. (3)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 1.1.2010 – 1.6.2010 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı'nda hematolojik malignensi, aplastik anemi veya onkolojik hastalıklar nedeniyle takip edilen ve febril nötropeni atağı geçiren hastalar dahil edildi.

Hastaların febril nötropeni tanısı Türk Pediatrik Febril Nötropeni Klavuzuna göre; mutlak nötrofil sayısının $500/\text{mm}^3$ veya daha az olması ya da $1000/\text{mm}^3$ veya daha az iken 24-48 saat içinde $500/\text{mm}^3$ 'ün altına inmesinin beklendiği durumlarda axiller yolla ölçülen ateşin bir kez 38.0°C veya üzerinde saptanması ya da en az bir saat süreyle 37.5°C ve üzerinde seyretmesi halinde konuldu (23). Hastaların ailelerinden yazılı aydınlatılmış onam alındıktan sonra ayrıntılı sistemik muayeneden geçirilerek şikayetleri sorgulandı, ilk değerlendirme amacıyla tam kan sayımı, periferik yayma, eritrosit sedimentasyon hızı, C-reaktif protein ve kan, boğaz sürüntü, gaita, idrar kültürleri için örnek gönderildi ayrıca akciğer grafisi ve gereken hastalarda sinüs grafileri çekildi. Hastaların almakta olduğu kemoterapotik , antibiyotik, antiviral, antifungal tedaviler, eşlik eden diğer hastalıklarla ilgili tedaviler ve ateşin kaç gün sürdüğü kaydedildi.

Çalışma süresince, birden çok febril nötropeni atağı geçiren hastalarda her atak ayrı değerlendirildi ve toplam 12 hastada 18 febril nötropeni atağı çalışmaya alındı. Febril nötropeni atağı geçiren hastalarda ateşin en az 3 gün boyunca düşük seyretmesinden sonra yeniden yükselmesi yeni bir febril nötropeni atağı olarak kabul edildi.

Febril nötropenin başladığı zaman 0. gün olmak üzere febril nötropenin 1. ve 3. günlerinde galaktomannan indeksi için antekübital venlerden jelli ve vakumlu steril tüplere 4'er cc kan alınarak, 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve tüm serumlar çalışma sonuna kadar -80°C 'de tutuldu.

Benzer şekilde febril nötropenin 1. ve 5. günlerinde de 1,3- β -D-glukan düzeyleri için steril tüplere 4'er cc kan alınarak 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı, tüm serumlar biriktirilerek çalışma tamamlanana kadar -80°C sıcaklıkta saklandı.

Hastaların takip ve tedavisi servis sorumlu doktorları tarafından sürdürüldü ve febril nötropeni klavuzuna göre gerekli görülen hastalara yüksek rezolüsyonlu toraks tomografisi, sinüs tomografisi veya batin ultrasonografisi incelemeleri yapıldı.

Çalışma bitiminde çalışmaya alınan hastaların atakları febril nötropenin altında yatan patolojiye göre idiopatik febril nötropeni, bakteriyel enfeksiyon veya invaziv fungal enfeksiyon olarak sınıflandırıldı. İnvaziv fungal enfeksiyonlar ise EORTC/MSG 2008 uluslararası invaziv fungal enfeksiyon konsensus raporu kriterlerine göre ‘kanıtlanmış, muhtemel, olası’ fungal enfeksiyon şeklinde sınıflandırıldı . Hastalıklı dokularda fungal enfeksiyonun gösterilmesi kanıtlanmış fungal enfeksiyon olarak kabul edildi. Muhtemel fungal enfeksiyon tanısı ise EORTC/MSG tarafından belirlenen hastaya ait ve klinik faktörlere ek olarak mikolojik indirekt tanı yöntemlerinin pozitifliği ile kondu. İnvaziv fungal enfeksiyon riski taşıyan hastalarda mikolojik kanıt olmaksızın bir klinik ve bir konak faktörünün bir arada olması durumunda da olası fungal enfeksiyon olarak tanımlandı (25).

Galaktomannan çalışılmak üzere dondurulmuş serumlar aynı anda çözülerek Platelia Aspergillus EIA test kiti (Bio-Rad) ile galaktomannan düzeyi ölçüldü. Serumlar üretici firmanın kullanım klavuzuna göre tek tek kitteki yerlerine yerleştirildi ve optik dansite 450-620 nanometre arasında okundu. Her kit için üreticiden temin edilmiş olan negatif, pozitif ve kalibratör kontrol serumları da kullanılarak, hasta serumlarının optik dansitesi ile üreticinin kontrol serumlarının optik dansitesinin ortalaması oranlanarak elde edilen indeks 0.5 ve üzerinde ise test sonucu pozitif, 0.5’in altında ise negatif olarak değerlendirildi (41).

1,3-β-D-glukan düzeyleri de Fungitell (Cape cod) test kiti ile çalışıldı. Bu amaçla aynı şekilde saklanan serumlar aynı anda çözülerek çalkalanarak karıştırıldı, serum örnekleri test edilmeden önce 20 mikrolitre alkalin reaktif ile 37 °C’de 10 dakika muamele edildi, ardından elde edilen çözeltinin 100 mikrolitresi test kitinde her örnek kitte iki çukura da eklenerek ikili test edildi. Daha sonra kit 405 nanometre dalga boyunda 37 °C’de 40 dakika işleminden geçirildi. İşlem sonuçları mili-absorbans ünitesi/dakika cinsinden ortalama optik dansite değişimi olarak elde edildi ve üreticinin temin ettiği bilgisayar yazılımı ile standart kit eğrisi ile karşılaştırılarak pg/ml birimine çevrildi. Üreticinin klavuzuna göre 60 pg/ml’nin altındaki değerler

negatif, 80 pg/ml ve üzerindeki değerler pozitif ve aradaki değerler muhtemel pozitif olarak değerlendirildi (61).

Sonuçlar değerlendirilirken febril nötropeni atakları iki gruba ayrıldı; idiyopatik febril nötropeni veya bakteriyel enfeksiyon tanısı konan 13 atak grup 1'i ve invaziv fungal hastalık tanısı konan 5 atak grup 2'yi oluşturdu.

Hem galaktomannan hem de BG testi için ayrı ayrı sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerler hesaplandı. Testlerin hastalığı saptama gücünü gösteren sensitivite; pozitif saptanan test sayısının invaziv fungal hastalık atak sayısına bölünmesiyle, hasta olmayanları saptama gücünü gösteren spesifite; negatif saptanan test sayısının invaziv fungal enfeksiyonu olmayan atak sayısına bölünmesiyle bulundu. Pozitif bir test sonucunun prediktif değeri (pozitif prediktif değer); gerçek pozitif test sayısı toplam pozitif test sayısına bölünerek, negatif bir test sonucunun prediktif değeri ise (negatif prediktif değer); gerçek negatif test sayısı toplam negatif test sayısına bölünerek hesaplandı (72).

EORTC/MSG tanı kriterlerine göre invaziv fungal hastalık tanısı alan ataklardaki negatif galaktomannan veya BG sonuçları yanlış negatif ve invaziv fungal enfeksiyon dışındaki ataklarda bulunan pozitif test sonuçları ise yanlış pozitif olarak değerlendirildi.

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde 'SPSS Windows 16' (SPSS Inc.,Chicago,IL) programı kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart deviasyon (SD) olarak gösterildi. Verilerin karşılaştırılması için Independent Samples T test, Mann Whitney U test, Wilcoxon Signed Ranks test ve parametreler arasındaki korelasyonu inceleyen Spearman korelasyon testi kullanıldı. 0.05'in altındaki p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışma protokolü Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 21.03.2010/46 sayılı karar ile onaylandı.

4. BULGULAR

Çalışmaya 1.1.2010 – 1.6.2010 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı'nda hematolojik malignensi, aplastik anemi veya onkolojik hastalıklar nedeniyle takip edilen ve febril nötropeni atağı geçiren hastalar dahil edildi. Bu sürede 18 hastada toplam 26 febril nötropeni atağı görüldü. Ancak birinci ve/veya beşinci günlerde 1,3- β -D-glukan için uygun koşullarda örnek alınamayan 6 hastadaki 8 atak çalışmadan çıkarıldı. Sonuçta toplamda 12 hastada 18 febril nötropeni atağı çalışmaya dahil edildi. Bu 12 hastanın 7 tanesi 1 defa, 4 tanesi 2 defa ve bir hasta da çalışma süresince 3 defa febril nötropeni atağı geçirdi.

Çalışmaya alınan hastaların yaşları ortalama olarak $99,42 \pm 56,49$ ay idi (min:52, max:230). Toplam 12 hastanın 5'i erkek (%41,7), 7'si kızdı (%58,3) (Tablo 4.1). Hastaların 9 tanesinin tanısı hematolojik malignensiydi (%75) (Tablo 4.2).

Tablo 4.1. Hastaların cinsiyete göre dağılımları

<u>Cinsiyet</u>	n	%
Erkek	5	41,7
Kız	7	58,3

Tablo 4.2. Hastaların primer tanıları

<u>Primer tanı</u>	n	%
ALL	7	58,3
AML	1	8,3
Bifenotipik lösemi	1	8,3
Aplastik anemi	2	16,7
Nöroblastom	1	8,3
Toplam	12	100

Febril nötropeni etyolojisinde atakların 3 tanesinde (%16,7) bakteriyel enfeksiyon, 5 tanesinde (%27,92) invaziv fungal hastalık saptanırken geri kalan 10 tanesinde (%55,4) ise herhangi bir etken gösterilememiş olup idiyopatik febril nötropeni olarak kabul edildi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Febril nötropeni ataklarının etyolojisi

Etyoloji	n	%
İdiopatik febril nötropeni	10	55,6
Bakteriyemi	2	11,1
Bakteriyel idrar yolu enfeksiyonu	1	5,6
İnvaziv aspergillozis	3	16,7
Muhtemel Fungal sinüzit	1	5,6
Hepatosplenik kandidiyazis ve <i>P.Jirovecii</i> pnömonisi (kanıtlanmış)	1	5,6
Toplam	18	100

Ataklar sırasında hastaların ortalama hemoglobin değerleri $7,58 \pm 1,71$ g/dl (min:4,1, max:11,7) , beyaz küre sayısı $1783 \pm 1935/\text{mm}^3$ (min:500, max:68 001 783), mutlak nötrofil sayısı $161 \pm 206 /\text{mm}^3$ (min:0, max:700), trombosit sayısı $68977 \pm 9 /\text{mm}^3$ (min:3000, max:310 000) bulundu. Atakların 17'sinde (%94,4) mutlak nötrofil sayısı $\leq 500/\text{mm}^3$ ve 11'inde (%61,1) $\leq 100/\text{mm}^3$ saptandı. İnvaziv fungal enfeksiyon ataklarının 3'ünde başlangıçtaki mutlak nötrofil sayısı 0 iken diğer iki atakta sırasıyla $300/\text{mm}^3$ ve $700/\text{mm}^3$ saptandı. Febril nötropeni ataklarının 15'inde (%83,3) trombositopeni ($<150000/\text{mm}^3$) mevcuttu (Tablo 4.4).

Ataklar sırasında ortalama eritrosit sedimentasyon hızı $71,72 \pm 30,63$ mm/saat (min:12, max:119) bulundu. Çalışmaya dahil edilen 18 ataktan 16'sında (%88) CRP çalışılabilir ve ortalama $79,09 \pm 75,86$ mg/L (min:3,5, max:255,7) saptandı (Tablo 4.4).

Ataklarda ateş ortalama $9,78 \pm 16,81$ gün (min:1, max:64) devam etti. Atakların 7'sinde (%38,9) ateş 5 günden uzun sürdü (Tablo 4.4). Ataklar sırasında atak başına ortalama 4 kan kültürü çalışıldı.

Tablo 4.4. Febril nötropeni ataklarında ateş süresi ve labaratuvar verileri

<u>Parametre</u>	<u>ort± SD</u>	<u>min-max</u>
Hemoglobin (g/dl)	7,58±1,71	4,1-11,7
Lökosit (/mm ³)	1783±1935	500-6800
Mutlak nötrofil (/mm ³)	161±206	0-700
Trombosit (/mm ³)	68977±9	3000-310000
Sedimentasyon (mm/saat)	71,72±30,63	12-119
CRP (mg/L)	79,09±75,86	3,5-255,7
Ateş süresi (gün)	9,78±16,81	1-64

Ateşin ve enfeksiyon tablosunun antibiyotik tedavisine rağmen devam ettiği durumlarda hastaların antibiyotik tedavileri değiştirilmiş ve ataklar süresince ortalama $4 \pm 2,84$ çeşit (min:2, max:11) farklı antibiyotik kullanıldı. Hastaların %27,8'inde ≥ 5 ve 45 gün süren febril nötropeniden sonra hepatosplenik kandidiyazis ve *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi nedeniyle exitus olan hastada ise 11 farklı antibiyotik kullanıldı.

Tablo 4.5. Febril nötropeni atakları sırasında kullanılan antibiyotik sayısı

<u>Antibiyotik sayısı</u>	<u>n</u>	<u>%</u>
11	1	5,6
10	1	5,6
8	1	5,6
5	2	11,1
4	2	11,1
3	3	16,7
2	8	44,4
Toplam	18	100

Atakların hiçbirinde profilaktik antifungal tedavi kullanılmadı ancak pediatrik febril nütropeni kılavuzuna uygun olarak gereken durumlarda antifungal tedavi başlandı ve atakların 8'inde (%44,4) antifungal tedavi ihtiyacı oldu. Bu atakların %62'sini sonradan invaziv fungal hastalık tanısı alan 5 atak oluşturmaktayken, geri kalan 3 atak ise febril nütropeni etyolojisi gösterilememiş olan idiyopatik febril nütropeni grubundandı.

Tablo 4.6. Febril nütropeni atakları sırasında 1,3- β -D-glukan düzeyleri ve Galaktomannan indeksleri.

<u>Parametre</u>	<u>ort\pm SD</u>	<u>min-max</u>	<u>p</u>
1.Gün galaktomannan	1,37 \pm 1,74	0,31-7,7	0,104
3.Gün galaktomannan	0,81 \pm 0,59	0,31-2,5	
1.Gün BG (pg/ml)	203,50 \pm 70,39	93-340	0,089
5.Gün BG (pg/ml)	266,67 \pm 147,67	114-687	

1. gün ve 3. gün ortalama galaktomannan indeksleri sırasıyla 1,37 \pm 1,74 (min:0,31, max:7,7) ve 0,81 \pm 0,59 (min:0,31, max:2,5) bulundu (Tablo 4.6).

Ortalama 1,3- β -D-glukan değerleri ise 1. günde 203,50 \pm 70,39 pg/ml (min:93, max:240) ve 5. günde 266,67 \pm 147,67 pg/ml (min:114, max:687) saptandı (Tablo 4.6).

Tüm ataklar beraber değerlendirildiğinde 1.-3. gün galaktomannan indeksleri arasında ve 1.-5. gün BG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.6).

1.günde çalışılan galaktomannan ve BG arasında korelasyon saptanmadı (r=0.102, p>0.05) .

Sonuçlar değerlendirilirken febril nütropeni atakları iki gruba ayrıldı; grup 1 idiyopatik febril nütropeni veya bakteriyel enfeksiyon tanısı konan 13 atak ve grup 2 invaziv fungal hastalık tanısı konan 5 ataktan oluştu.

Verilerin istatistiksel analizinde trombosit sayısı grup 2'de grup 1'e göre anlamlı olarak düşük saptandı (p<0,05). CRP grup 2'de grup 1'e göre anlamlı olarak yüksekti (p<0,05). Ateş süresi grup 2'de grup 1'e göre ileri derecede anlamlı olarak

uzun bulundu ($p<0,01$). Gruplar arasında hemoglobin, lökosit sayısı, nötrofil sayısı ve eritrosit sedimentasyon hızı açısından fark yoktu (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Grupların ateş süresi ve laboratuvar verilerinin karşılaştırılması

<u>Parametre</u>	<u>Grup</u>	<u>ort±SD</u>	<u>min-max</u>	<u>p</u>
Hemoglobin (g/dl)	Grup 1	7,49±1,59	4,1-9,6	0,729
	Grup 2	7,82±2,18	6,4-11,7	
Lökosit (/mm ³)	Grup 1	1576±1725	600-6800	0,483
	Grup 2	2320±2548	500-6700	
Mutlak nötrofil (/mm ³)	Grup 1	146±166	0-500	0,634
	Grup 2	200±308	0-700	
Trombosit (/mm ³)	Grup 1	86615±1	3000-310000	0,017
	Grup 2	23120±1	7600-33000	
Sedimentasyon (mm/saat)	Grup 1	71,69±31,88	12-119	0,995
	Grup 2	71,8±30,63	24-102	
CRP (mg/L)	Grup 1	52,05±39,82	3,5-114,6	0,008
	Grup 2	160,22±106,12	24-255,7	
Ateş süresi (gün)	Grup 1	3,69±2,75	1-12	0,008
	Grup 2	25,60±27,31	4-64	

1. ve 3. günlerde çalışılan galaktomannan indeksleri açısından da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.8).

İnvaziv fungal hastalığı olmayan grup 1’de 13 atağın 4 tanesinde her iki günde de test pozitifken, 5 tanesinde sadece bir defa pozitif saptandı. Geri kalan 4 atakta galaktomannan her iki günde de negatifti. Böylece invaziv fungal hastalığı olmayan hasta grubunda hastaların %69’unda en az bir defa yanlış pozitiflik görüldü. Grup 1’de ortalama galaktomannan indeksi 1.günde $1,4 \pm 2,02$ (min:0,40, max:7,7) ve 3. günde $0,85 \pm 0,68$ (min:0,31, max:2,5) idi (Tablo 4.8).

İnvaziv fungal hastalığı olan atakların 3 tanesinde hem 1.gün hem de 3.gün galaktomannan indeks değerleri 0,5'in üzerinde olması nedeniyle pozitif olarak değerlendirildi. Bir atakta ise her iki günde de test negatif, diğer bir atakta ilk gün pozitifken üçüncü günde test negatifleşti. Bu grupta ortalama galaktomannan indeksi 1.günde $1,1 \pm 0,69$ (min:0,31, max:2.2) ve 3. günde $0,69 \pm 0,27$ (min:0,40, max:1,04) bulundu (Tablo 4.8).

Grupların 1.-3.gün galaktomannan indeksleri ve 1.-5.gün BG düzeyleri grup bazında kıyaslandığında her iki grupta da farklı günlerde çalışılan test sonuçları arasında fark saptanmadı (Tablo 4.9).

Çalışmamızda galaktomannan testinin sensitivitesi %80, spesifitesi % 30, negatif prediktif değeri % 80 ve pozitif prediktif değeri ise %30 bulundu (Tablo 4.10).

1. gün BG grup 2'de grup 1'e göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0,05$). 5. günde ise iki grup arasında BG düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.8).

İnvaziv fungal hastalığı olmayan grup 1'de de tüm hastalarda hem 1. hem de 5. günlerde BG testi pozitif. Ortalama BG düzeyi 1.günde $181,92 \pm 58,97$ pg/ml (min:93, max:260) ve 5.günde $270,38 \pm 160,75$ pg/ml (min:114, max:687) saptandı (Tablo 4.8).

Grup 2'deki hastaların hepsinde hem 1.gün hem de 5.gün BG düzeyleri 80 pg/ml eşik değerine göre pozitif. Bu grupta ortalama BG düzeyi 1.günde $259,60 \pm 71,9$ pg/ml (min:152, max:282) ve 5. günde ise $257 \pm 122,45$ pg/ml (min:124, max:251) bulundu (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Gruplar arasında 1,3- β -D-glukan düzeylerinin ve galaktomannan (GM) indekslerinin karşılaştırılması.

<u>Parametre</u>	<u>Grup</u>	<u>ort± SD</u>	<u>min- max</u>	<u>p</u>
1.gün BG (pg/ml)	Grup 1	181,92±58,97	93-260	0,031
	Grup 2	259,60±71,99	152-340	
5.gün BG (pg/ml)	Grup 1	270,38±160,75	114-687	0,869
	Grup 2	257±122,45	124-406	
1.gün GM	Grup 1	1,4±2,02	0,40-7,7	0,28
	Grup 2	1,1±0,69	0,31-2,2	
3.gün GM	Grup 1	0,85±0,68	0,31-2,5	0,13
	Grup 2	0,69±0,27	0,40-1,04	

Tablo 4.9. Grupların 1.-3.gün galaktomannan (GM) indeksleri ve 1.-5.gün BG düzeylerinin karşılaştırılması.

	<u>Grup 1</u>	<u>p</u>	<u>Grup 2</u>	<u>p</u>
1.gün GM indeksi	1,4	0,28	1,1	0,19
3.gün GM indeksi	0,85		0,69	
1.gün BG (pg/ml)	181,92	0,04	259,60	1
5.gün BG (pg/ml)	270,38		257	

İnvaziv fungal enfeksiyonu olan hastaların hepsinde pozitif saptanması nedeniyle çalışmamızda BG testinin sensitivitesi %100 idi. Tüm ataklar ele alındığında BG testinde %72,2 oranında yanlış pozitiflik görüldü. Bu kadar yüksek yanlış pozitiflik oranı yüzünden testin spesifitesi %0 ve negatif prediktif değeri de aynı şekilde %0 saptandı. Testin pozitif prediktif değeri ise %27 idi (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Galaktomannan ve 1,3- β -D-glukan testlerinin sensitivite, spesifite ve negatif, pozitif prediktif değerleri ve yanlış pozitiflik oranları.

	<u>Sensitivite</u>	<u>Spesifite</u>	<u>NPV</u>	<u>PPV</u>	<u>Yanlış poz.</u>
Galaktomannan	% 80	% 30	% 80	% 30	% 69
1,3- β -D-glukan	% 100	% 0	% 0	% 27	% 72,2

5. TARTIŞMA

Febril nötropenide enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmalar tedavinin verildiği merkezin coğrafi özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. Ancak tüm dünyada febril nötropeni hastalarının sadece %10-30'luk bir kısmında enfeksiyon etkeni mikrobiyolojik olarak gösterilebilmektedir (73-78). Geri kalan idiyopatik febril nötropeni grubunda ateş, tanısı konamayan enfeksiyonlara ek olarak immün sistemin; virüslere, mukozal hasarlanmaya, çeşitli kemoterapotiklere, kan ürünleri transfüzyonuna veya malignensinin kendisine karşı infalarnatuvar bir cevabı olarak da ortaya çıkabilmektedir (79). Ayrıca çocuk hastalardan yeterli miktarda kan alınmaması nedeniyle kan kültürlerinde etkenlerin üreme oranı yetişkinlerden daha düşüktür. Etyolojisi belirlenebilen febril nötropeni ataklarında en sık enfeksiyon etkeni olarak bakteriler görülmektedir (73). Fungal etkenler genel olarak bakteriyel etkenlerden daha seyrek görülse de fungal enfeksiyonlara bağlı mortalite bakteriyel enfeksiyonlardan daha yüksektir (3). Çocuk AML hastalarının enfeksiyona bağlı mortalitesi %41 *Aspergillus spp.*'a , %25.9 *Candida spp.*'a ve %15.5 α -hemolitik streptokoklara bağlıdır (5). Çocuk hastalarda İnvaziv fungal enfeksiyonların mortalitesi yetişkin hastalara göre daha yüksektir. Çocuk hastalarda en sık görülen iki fungal enfeksiyon tablosu olan invaziv aspergillozis ve invaziv kandidiyazisin mortaliteleri sırasıyla % 52.5-87.5 ve %20-48 arasında değişmektedir (6, 7).

Literatürdeki bilgilere paralel olarak çalışmamızda febril nötropeni ataklarının %44'ünde etyoloji belirlenebildi. Hastalardan atak başına ortalama 4 kan kültürü çalışıldı, ancak çocuk hastalarda kan kültüründe etkeni üretme oranı daha düşük olduğundan idiyopatik ataklar çoğunluğu oluşturdu. İdiyopatik atakların bir kısmının da malignite ateşi veya ilaç reaksiyonuna bağlı ateş olabileceği düşünüldü. Etyolojisi belirlenebilen atakların 3 tanesinde (%37,5) etken bakteriyel iken geri kalan 5 tanesinde (%62,5) invaziv fungal enfeksiyon saptandı. Ancak invaziv fungal enfeksiyonların sadece 1 tanesinde (%20) histopatolojik olarak fungal etken gösterilebildi ve geri kalan ataklarda tanı EORTC/MSG tanı kriterlerine göre konuldu. Çalışmamızdaki fungal enfeksiyonların etyolojisinde literatürde belirtildiği gibi en sık iki etken *Aspergillus spp.* ve *Candida spp.* yer almaktadır. 5 fungal enfeksiyon atağının 3 tanesi invaziv aspergillozis, 1 tanesi invaziv kandidiyazis'e ek olarak *P.jirovecii* pnömonisi ve diğer atak da etkenin belirlenemediği fungal sinüzit

şeklindeydi. İnvaziv fungal enfeksiyon ataklarında mortalite %40 idi, tüm febril nötropeni atakları ele alındığında ise mortalite %11 olarak hesaplandı. Mortalite oranlarımızın literatürde rapor edilen oranlara benzer olduğu görülmektedir.

P. Jirovecii pnömonisinde mortalite tedaviye rağmen yüksek olup sağkalım %50-%65 arasında değişmektedir. Mortalitenin bu kadar yüksek olması sebebiyle immünsüprese hastalarda *P. Jirovecii* profilaksisi için TMP-SMX kullanılmaktadır. Ancak dirençli suşlar nedeniyle profilakside kullanılmak üzere yeni antibiyotiklere ihtiyaç vardır (38). Çalışmamızda da bir atakta hasta TMP-SMX profilaksisi aldığı halde hepatosplenik kandidiyazise ek olarak *P.jirovecii* pnömonisi gelişerek tedaviye rağmen eksitus oldu.

Febril nötropenisi olan hastalarda invaziv fungal enfeksiyon riskini belirleyen en önemli faktörler uzamış ve derin nötropeni, uzamış ve yüksek doz kortikosteroid kullanımındadır (23). Çalışmamızda da invaziv fungal enfeksiyonu olan hastalarda febril nötropeni süresi diğer grupla karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı olarak uzun bulundu ($p<0,01$).

İlk tanımlanan akut faz reaktanı olan CRP, 1930'lu yıllarda tanımlandığında adını *Strep. pneumonia* somatik C-polisakkaritini presipite edebilmesinden almıştır. CRP, kalsiyum bağımlı-ligand bağlanma özelliği olan plazma proteini ailesi pentraksinlerin bir üyesidir. Her türlü doku hasarı, inflamasyon, enfeksiyon ve neoplastik durumlarda serumdaki düzeyi hızla artar. Hasarın olduğu bölgedeki makrofaj ve endotel hücrelerinden salınan sitokinlerin uyarısıyla hepatositlerde hızla üretilip dolaşıma salınır. CRP üretiminin transkripsiyonel kontrolünü interlökin-6 sağlamaktadır. Akut faz uyarısından sonra 6 saat içinde serumdaki düzeyi onlarca katına çıkar ve 48 saat içinde serumda en yüksek düzeye ulaşır. Serum CRP konsantrasyonu doğrudan sentez miktarına ve sentez miktarı da doku hasarının yoğunluğuna bağlıdır. CRP plazma proteinlerine, hasarlı hücre membranlarına, bakteri, fungus ve parazitlerin çeşitli yüzey elemanlarına bağlanma kapasitesine sahiptir ve bu bağlanma gerçekleştiğinde kompleman sisteminin elemanı olan C1q tarafından tanınarak klasik kompleman yolunu aktive etmektedir. Ayrıca kompleman sisteminin temel adezyon molekülü olan C3 ve mikroorganizmalarla savaşta önemli rol oynayan kompleman sistemi elemanları olan membran atak kompleksi C5-9'a da bağlanma kapasitesi vardır. Bu mekanizmalarla CRP doğal savunma

mekanizmalarından biridir ve her çeşit mikroorganizma ile savaşta anahtar rol oynamaktadır. Bakteriyel, fungal veya paraziter enfeksiyonlarda serumda hızla yükselir ve serumdaki konsantrasyonu enfeksiyonun şiddetiyle doğru orantılı olarak artar (80). Fungal enfeksiyonlardaki rolüyle ilgili yapılan çalışmalardan birinde hepatosplenik kandidiyazisi olan yetişkin kök hücre alıcılarında invaziv fungal enfeksiyonu olmayan hastalara oranla serum CRP düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (81). Başka bir çalışmada ise yüksek riskli febril nötropenisi olan kanser hastası çocuklarda toplam monosit sayısı, CRP yüksekliği ve ateşin 4 günden uzun sürmesi invaziv fungal enfeksiyon geliştirme açısından en önemli risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (82). Yine bir çalışmada interlökin-6, interlökin-8 ve CRP düzeyinin, invaziv fungal enfeksiyonların tedavi başarısının değerlendirilmesinde en önemli prognostik faktörler olduğu bildirilmiştir (83).

Bizim çalışmamızda da invaziv fungal enfeksiyonu olan ataklarda CRP düzeyi anlamlı olarak yüksek saptandı ($p < 0,05$). Bu sonuç invaziv fungal enfeksiyonlar sırasında oluşan doku invazyonu sonucu gelişen ağır doku hasarının indirekt bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Aspergillus türlerinin hücre duvarında bulunan bir molekül olan galaktomannanın serumda ve diğer vücut sıvılarındaki düzeyinin ölçümü invaziv aspergillozis tanısında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Yetişkin hastalarda yapılan çalışmalarda galaktomannan testinin sensitivitesi %71-100, spesifitesi %85-100 arasında değerlerde rapor edilmiştir (9). Kök hücre nakli yapılan yetişkin ve çocuk hastaların değerlendirildiği çalışmada çocuk hastalar ayrı olarak değerlendirildiğinde sensitivite %25 ve spesifite %90 olarak bildirilmiştir (10). Hematoloji ve onkoloji bölümlerinde takip edilen yetişkin ve çocuk hastaların incelendiği çalışmada EORTC/MSG kriterlerine göre tanı konulan hastalarda kanıt düzeyi arttıkça sensitivitenin arttığı, en yüksek sensitivitenin kanıtlanmış invaziv aspergilloziste görüldüğü %64,5 rapor edilmiştir (11). Kök hücre nakli yapılan 64 çocuk hastada yapılan çalışmada 0,5 ve üzerindeki değerler pozitif kabul edildiğinde testin sensitivitesi %87,3 saptanmıştır (12). İnvaziv aspergillozis için yüksek risk taşıyan çocuk onkoloji hastalarıyla yapılan çalışmada ise testin sensitivitesinin %65,7, spesifitesinin %87,2 olduğu ve radyolojik olarak tanı konmadan ortalama 10 gün önce pozitif saptanabildiği ifade edilmiştir (13). Yoğun kemoterapi alan veya

allojenik kök hücre nakli yapılan çocuk hastaların değerlendirildiği iki farklı çalışmada testin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %32-79, %98-61, %70-54 ve %92-83 bulunmuştur (14, 15).

Çalışmamızda 1. ve 3. günlerde çalışılan galaktomannan indeksleri açısından invaziv fungal hastalığı olan ve olmayan iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. En az bir defa ölçülen 0,5 ve üzerindeki indeks değerler pozitif kabul edildiğinde galaktomannan testinin sensitivitesi %80, spesifitesi % 30 olarak hesaplandı. İnvaziv fungal enfeksiyon ataklarının çoğunda pozitif saptanması testin sensitivitesini yükseltirken, spesifitenin literatürde rapor edilen değerlere oranla düşük çıkması çalışmamızda yanlış pozitiflik oranının yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir. Benzer şekilde testin negatif prediktif değeri % 80 ve pozitif prediktif değeri ise yine yüksek yanlış pozitifliğe bağlı olarak %30 gibi düşük bir değer olarak bulundu.

Çeşitli çalışmalarda galaktomannan testinin yetişkin hastalarda %3-10 ve çocuk hastalarda %10-44 oranında yanlış pozitif sonuç verebileceği rapor edilmiştir (9,11-13,84). Doğada, yiyecek ve içeceklerde yaygın olarak bulunan galaktomannan gaytada da yüksek oranlarda saptanabilmektedir (44). Mukozitlere bağlı gastrointestinal bütünlüğün bozulduğu durumlarda yanlış pozitiflikler görülebilmektedir (26,30,47). Süt çocukluğu döneminde barsaklarda yaygın olarak bulunan *Bifidobacterium* türlerine bağlı olarak serumda yanlış pozitiflikler bildirilmiştir (85). Bu bakterinin yapısında bulunan lipoteikoid asit adı verilen maddenin galaktomannana benzer molekül yapısı nedeniyle testi pozitifleştirdiği ifade edilmektedir (44). Üretim aşamasında mantarların da kullanıldığı yarı-sentetik penisilin türevi antibiyotiklerle tedavi sırasında ve sonrasında da yanlış pozitiflik görülmektedir (3,12,46,86). Literatürde özellikle ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, amoksisilin-kalvulonat yanlış pozitiflikten sorumlu tutulmuştur. Bu antibiyotiklerin kullanılması durumunda kullanımdan 10 gün sonraya kadar serumda galaktomannan pozitifliği görülebildiği bildirilmiştir (46). Bir çok antibiyotiğin galaktomannan içeriği açısından test edildiği bir çalışmada ampisilin-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktamda galaktomannan testini pozitifleştirecek düzeyde galaktomannan bulunduğu kanıtlanmıştır (87). Hücre duvarında galaktomannan içeren *Penicillium spp.* gibi mantarlarla enfekte kişilerde de yanlış pozitiflikler

olabileceği bildirilmiştir ancak bu mantarlar insanlarda çok nadiren enfeksiyona yol açabilmektedirler (44,47). Hemodiyaliz yapılan hastalarda da galaktomannanın serumdan uzaklaştırılmasındaki yetersizliklere bağlı yanlış pozitiflik rapor edilmiştir (46). Ayrıca oto-antikör pozitifliği olan hastalarda, aspergilloma olgularında, alerjik bronkopulmoner aspergilloziste, glukonat içeren intravenöz mayi almış hastalarda da yanlış pozitiflikler görülebilmektedir (26,30,46,47). Örnek alınması veya işlenmesi sürecinde galaktomannan ile kontaminasyon gibi teknik sorunlar da yanlış pozitifliğin nedenleri arasında sayılabilir (47). Kanıtlanamamış olsa da bazı bakteri enfeksiyonları ve siklofosfamid kullanımının galaktomannan testini pozitifleştirebileceği öne sürülmüştür (44).

Literatürdeki %44'lük yanlış pozitiflik oranından daha yüksek olarak çalışmamızda atakların %69'unda galaktomannan yanlış pozitif bulundu. Yüksek yanlış pozitifliğin sebepleri arasında hastalarımızda yoğun kemoterapiye bağlı yaygın mukozitler olması, bazı hastalarımızda piperasilin-tazobaktam kullanımı sayılabilir. Ayrıca çalışmamızda yanlış pozitiflik oranının yüksek olması ülkemizde yoğurt tüketiminin yoğun olmasına bağlı olabilir. İdiyopatik febril nötropeni grubunda teknik nedenlerle kanıtlanamamış olup tanı aşamasına gelmeden antifungal tedavi ile gerileyen erken evre invaziv fungal enfeksiyonlar da olabilir. İnvaziv fungal enfeksiyonların gerçek oranı belirlenebilmiş olsa idi yanlış pozitiflik oranının daha düşük olabileceği düşünüldü. Ancak bütün yanlış pozitifliklerimizi açıklayabilecek kesin sebepler bulunmamaktadır.

Çocuk hastalarda yeterli çalışma olmaması, mevcut çalışmalarda yaşa bağlı olarak değişken sonuçlar elde edilmesi ve yüksek yanlış pozitiflik görülmesi nedeniyle galaktomannan ölçümü yeterince güvenilir bir tanı yöntemi değildir (9,11-13,84). Özellikle tek ölçüm ile değerlendirme çocuk hastalarda yeterli olmadığından yüksek riskli hasta gruplarında seri ölçümler yapılması ve devam eden pozitifliklerin klinik bulgularla kombine edilerek değerlendirilmesi önerilir. Ayrıca çocuklara özgü eşik değerlerin belirlenmesi ve seri ölçümlerin sensitivite ve spesifiteye etkisinin araştırılması için çocuk hasta grubunda yapılacak geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Son yıllarda invaziv fungal enfeksiyonların tanısında kullanılma sıklığı giderek artan BG, çoğu mantar türünün hücre duvarında bulunan bir moleküldür.

Yetişkin hasta grubunda BG ile ilgili çalışmaların incelendiği meta-analizde; 365 kanıtlanmış invaziv fungal hastalığı olan hasta ile 2253 fungal enfeksiyonu olmayan kontrol olgunun değerlendirildiği toplam 14 çalışmada ortalama BG sensitivite ve spesifitesi sırasıyla % 79,1 ve % 87.7 , 594 kanıtlanmış veya muhtemel invaziv fungal hastalığı olan hasta ve 2385 fungal hastalığı olmayan kontrol olguların değerlendirildiği toplam 16 çalışmada ise ortalama BG sensitivite ve spesifitesi sırasıyla % 76,8 ve % 85,3 saptanmıştır. Aynı meta-analizde olası invaziv fungal hastalığı olan 130 hastayı değerlendiren toplam 5 çalışmada ortalama BG pozitifliği %27,7 bulunmuştur. Ancak sağlıklı kontrollerin de test edildiği toplam 8 çalışma değerlendirildiğinde toplamda BG yanlış pozitifliği %1 olguda görülmüştür (88). BG testinin pozitifliği, invaziv fungal enfeksiyon tanısında kullanılan kriterlere göre değişse de yetişkin hastalarda genel olarak sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerler %44-100, %20-96, %43-79 ve %80-100 arasında bildirilmektedir (3).

Literatürde çocuk hastalarda BG ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Kanıtlanmış, muhtemel veya olası invaziv fungal enfeksiyonu olan çocuk hastalarda yapılan bir çalışmada BG testinin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %81,8, %82,4, % 48,6 ve %95,7 bulunmuştur (18). Kanıtlanmış invaziv fungal enfeksiyonu olan 4 çocuk hastayla yapılan başka bir çalışmada tüm BG düzeyleri 523 pg/ml'nin üzerinde saptanmış ve bu sonuçlardan yola çıkarak çocuk hastalarda fungal enfeksiyon varlığında yetişkinlere oranla daha yüksek BG düzeyleri görülebileceği ifade edilmiştir (17). Hematolojik malignensili çocuk hastalarda yapılan çalışmada ise *Candida spp.* ile kolonize hastaların %30'unda BG yanlış pozitifliği saptanmış ve bu durum kontamine antibiyotik kullanımı, diyaliz, bakteriyel sepsis veya mukozite bağlı fungal translokasyona bağlanmıştır (2).

Bizim çalışmamızda ise BG testinin sensitivitesi %100, spesifitesi %0, pozitif prediktif değeri %27 ve negatif prediktif değeri ise %0 bulundu. İnvaziv fungal enfeksiyonu olan tüm ataklarda pozitif saptanması nedeniyle sensitivite %100 iken invaziv fungal enfeksiyonu olmayan bütün ataklarda da 60 pg/ml eşik değerine göre test pozitif olduğundan spesifite %0 olarak hesaplandı ve %72,2 oranındaki yanlış pozitifliğe bağlı olarak pozitif bir testin prediktif değeri %27 kadar düşük saptandı.

Literatürde %3-92 arasında oldukça değişken BG yanlış pozitifliği bildirilmiştir (2,62,63,67,69). Yüksek yanlış pozitiflik oranları nedeniyle bazı çalışmacılar BG testinin pozitif saptanmasının antifungal tedavi başlamak için yeterli bir kriter olmadığını belirtmişlerdir (67).

BG yanlış pozitifliği farklı çalışmalarda ortak bazı durumlarla ilişkilendirilmiştir. En önemli sebepler; mukozit ve/veya *Candida* kolonizasyonu (2,63,65,89), en sık *Streptokok*, *P.aureginosa* olmak üzere bakteriyemiler (2,67-70), sefepim, piperasilin-tazobaktam, meropenem ve amoksisilin-klavulonat gibi intravenöz antibiyotiklerin kullanımı (2,66,67,69,70), intravenöz immünglobulin, albumin gibi ticari kan ürünlerinin kullanımı (62,66,70,90), BG ile kontamine cerrahi materyal kullanımı (56,62,91-93), selüloz membranlarla hemodiyaliz yapılması (2, 62,64,66,69,70), selüloz filtrelerden geçirilmiş trombosit, eritrosit süspansiyonları gibi kan ürünlerinin transfüzyonu (67, 94-95) olarak sayılabilir.

Çalışmamızda yanlış pozitiflik saptanan atakların 2 tanesinde *Streptococcus spp.* bakteriyemisi mevcuttu. Diğer yanlış pozitiflikleri açıklayabilecek nedenler; febril nötropeni hastalarımızda Piperasilin-tazobaktam, sefepim ve diğer antibiyotiklerin yaygın olarak kullanımı, uzun süren febril nötropenide hastalara immün sistemi desteklemek üzere immünglobulin tedavisi verilmesi, kemoterapi alan çocuk hastalarımızda sıkça gözlenen yaygın mukozitler, trombositopeni veya anemi nedeniyle de gereken hastalarımıza kan ürünleri transfüzyonu yapılması, bazı durumlarda albumin tedavisi verilmesi olarak sıralanabilir. Ancak çalışmamızdaki hastaların hiç birinde hemodiyaliz öyküsü yoktu ve hiçbir hastamıza cerrahi işlem uygulanmadı.

Bazı çalışmalarda BG yanlış pozitiflikleri hastaların bir kısmında, klinik olarak henüz bulgu vermemiş veya ampirik antifungal tedaviyle iyileştiği için saptanamamış erken evre invaziv fungal hastalık bulunması ile açıklanmıştır (63, 66). Bu hipotez bizim çalışmamız için de düşünülebilir ancak daha önce de belirtildiği gibi bu durumu kanıtlayabilecek yeterli veri bulunmamaktadır.

Yanlış pozitiflikler ile ilgili diğer bir açıklama ise invaziv fungal hastalığı olmayan çocuk hastalarda BG eşik değerlerinin yetişkin hastalardan çok daha yüksek olabileceğidir. İmmün sistemi baskılanmamış ve herhangi bir enfeksiyonu olmayan 120 sağlıklı çocukta yapılan bir çalışmada ortalama BG düzeyi 68 ± 128 pg/ml

saptanmıştır. Aynı çalışmada olguların BG değerleri oldukça heterojen bir dağılım göstermiş ve 947 pg/ml'ye varan sonuçlar elde edilmiştir. Eşik değerine göre sınıflandırıldığında ise BG olguların %68'inde 60 pg/ml'nin altında, %7'sinde 60-79 pg/ml arasında ve %15'inde 80 pg/ml'nin üstünde bulunmuştur (16). Bizim çalışmamızda invaziv fungal hastalığı olan hastalarda 1.gün BG, fungal enfeksiyonu olmayan hastalara göre anlamlı olarak yüksek saptandı. Ancak invaziv fungal enfeksiyonu olmayan hastalarımızın test sonuçları da üreticinin eşik değerine göre pozitif bulundu. Çok sayıda hastayla yapılacak yeni çalışmalarla invaziv fungal enfeksiyonu olmayan çocuk hastalar veya sağlam kontroller için yeni eşik değerlerin belirlenmesine ihtiyaç vardır. Daha yüksek eşik değerlerin kullanılmasıyla çocuk hastalarda testin pozitif prediktif değerinin ve spesifitesinin yükseltilmesi gerekmektedir.

Serum BG testi her ne kadar çok çeşitli invaziv fungal enfeksiyonlarda pozitif saptanabilirse de etyolojide hangi fungal etkenin olduğunu belirlemede yardımcı olamamaktadır. İnvaziv fungal enfeksiyonların tedavi başarısını etkileyen en önemli faktörlerden biri uygun antifungal ajanın belirlenmesi olduğundan bu durum BG testinin en önemli dezavantajıdır (3). Çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişebilen yüksek yanlış pozitiflik oranları da testin diğer bir dezavantajıdır. Bu sebeple pozitif saptanan bir BG testinin antifungal tedavi başlatmak veya değiştirmek için yeterli olmadığı unutulmamalı, seri ölçümler yapılarak hastaların klinik, laboratuvar ve radyolojik bulguları beraber değerlendirilmelidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmaya hematolojik malignensi, aplastik anemi veya onkolojik hastalıklar nedeniyle takip edilen ve febril nötropeni atağı geçiren 12 hastada 18 febril nötropeni atağı dahil edildi. Bu 12 hastanın 7 tanesi 1 defa, 4 tanesi 2 defa ve bir hasta da çalışma süresince 3 defa febril nötropeni atağına girdi.

1. Çalışmaya alınan hastaların yaşları ortalama olarak $99,42 \pm 56,49$ ay idi (min:52, max:230). Toplam 12 hastanın 5'i erkek (%41,7), 7'si kızdı (%58,3).
2. Febril nötropeni etyolojisinde atakların 3 tanesinde (%16,7) bakteriyel enfeksiyon, 5 tanesinde (%27,92) invaziv fungal hastalık saptanırken geri kalan 10 tanesinde (%55,4) ise herhangi bir etken gösterilememiş olup idiyopatik febril nötropeni olarak kabul edildi.
3. Ataklar sırasında hastaların ortalama hemoglobin değerleri $7,58 \pm 1,71$ g/dl (min:4,1, max:11,7), beyaz küre sayısı $1783 \pm 1935/\text{mm}^3$ (min:500, max:68 001 783), mutlak nötrofil sayısı $161 \pm 206 /\text{mm}^3$ (min:0, max:700), trombosit sayısı $68977 \pm 9 /\text{mm}^3$ (min:3000, max:310 000) bulundu. Atakların 17'sinde (%94,4) mutlak nötrofil sayısı $\leq 500/\text{mm}^3$ ve 11'inde (%61,1) $\leq 100/\text{mm}^3$ saptandı. İnvaziv fungal enfeksiyon ataklarının 3'ünde başlangıçtaki mutlak nötrofil sayısı 0 iken diğer iki atakta sırasıyla $300/\text{mm}^3$ ve $700/\text{mm}^3$ saptandı. Febril nötropeni ataklarının 15'inde (%83,3) trombositopeni ($<150000/\text{mm}^3$) mevcuttu.
4. Ataklar sırasında ortalama eritrosit sedimentasyon hızı $71,72 \pm 30,63$ mm/saat (min:12, max:119) bulundu. Çalışmaya dahil edilen 18 ataktan 16'sında (%88) CRP çalışılabilir ve ortalama $79,09 \pm 75,86$ mg/L (min:3,5, max:255,7) saptandı.
5. Ataklarda ateş ortalama $9,78 \pm 16,81$ gün (min:1, max:64) devam etti. Atakların 7'sinde (%38,9) ateş 5 günden uzun sürdü (Tablo 4.4). Ataklar sırasında atak başına ortalama 4 kan kültürü çalışıldı.
6. Ataklar süresince ortalama $4 \pm 2,84$ çeşit (min:2, max:11) farklı antibiyotik kullanıldı.
7. Atakların 8'inde (%44,4) antifungal tedavi ihtiyacı oldu. Bu atakların %62'sini sonradan invaziv fungal hastalık tanısı alan 5 atak oluşturmaktayken, geri kalan 3 atak ise febril nötropeni etyolojisi gösterilememiş olan idiyopatik febril nötropeni grubundandı.

8. 1. gün ve 3. gün ortalama galaktomannan indeksleri sırasıyla $1,37 \pm 1,74$ (min:0,31, max:7,7) ve $0,81 \pm 0,59$ (min:0,31, max:2,5) bulundu.
9. Ortalama 1,3- β -D-glukan değerleri ise 1. günde $203,50 \pm 70,39$ pg/ml (min:93, max:240) ve 5. günde $266,67 \pm 147,67$ pg/ml (min:114, max:687) saptandı.
10. Tüm ataklar beraber değerlendirildiğinde 1.-3. gün galaktomannan indeksleri arasında ve 1.-5. gün BG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.
11. Tüm ataklar beraber değerlendirildiğinde 1.günde çalışılan galaktomannan ve BG arasında korelasyon saptanmadı ($r=0.102$, $p>0.05$).
12. Sonuçlar değerlendirilirken febril nütropeni atakları iki gruba ayrıldı; grup 1 idiyopatik febril nütropeni veya bakteriyel enfeksiyon tanısı konan 13 atak ve grup 2 invaziv fungal hastalık tanısı konan 5 ataktan oluştu.
13. Gruplar arasında hemoglobin, lökosit sayısı, nötrofil sayısı ve eritrosit sedimentasyon hızı açısından fark yoktu.
14. Trombosit sayısı grup 2'de grup 1'e göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0,05$).
15. CRP grup 2'de grup 1'e göre anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$).
16. Ateş süresi grup 2'de grup 1'e göre ileri derecede anlamlı olarak uzun bulundu ($p<0,01$).
17. 1. ve 3. günlerde çalışılan galaktomannan indeksleri açısından da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.
18. Grup 1'de ortalama galaktomannan indeksi 1.günde $1,4 \pm 2,02$ (min:0,40, max:7,7) ve 3. günde $0,85 \pm 0,68$ (min:0,31, max:2,5) idi.
19. Grup 2'de ortalama galaktomannan indeksi 1.günde $1,1 \pm 0,69$ (min:0,31, max:2,2) ve 3. günde $0,69 \pm 0,27$ (min:0,40, max:1,04) bulundu.
20. Grupların 1.-3.gün galaktomannan indeksleri ve 1.-5.gün BG düzeyleri grup bazında kıyaslandığında her iki grupta da farklı günlerde çalışılan test sonuçları arasında fark saptanmadı.
21. Çalışmamızda galaktomannan testinin sensitivitesi %80, spesifitesi %30, negatif prediktif değeri %80 ve pozitif prediktif değeri ise %30 bulundu.
22. Galaktomannan testinde %69 oranında yanlış pozitiflik görüldü.

23. 1. gün BG grup 2'de grup 1'e göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0,05$). 5. günde ise iki grup arasında BG düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.
24. Grup 1'de ortalama BG düzeyi 1.günde $181,92 \pm 58,97$ pg/ml (min:93, max:260) ve 5.günde $270,38 \pm 160,75$ pg/ml (min:114, max:687) saptandı.
25. Grup 2'de ortalama BG düzeyi 1.günde $259,60 \pm 71,9$ pg/ml (min:152, max:282) ve 5. günde ise $257 \pm 122,45$ pg/ml (min:124, max:251) bulundu.
26. BG testinin sensitivitesi %100, spesifitesi %0, negatif prediktif değeri %0 ve pozitif prediktif değeri ise %27 saptandı.
27. Tüm ataklar ele alındığında BG testi %72,2 oranında yanlış pozitif bulundu.

KAYNAKLAR

1. Ascoglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, Denning DW, Donnelly JP, Edwards JE, Erjavec Z, Fiere D, Lortholary O, Maertens J, Meis JF, Patterson TF, Ritter J, Selleslag D, Shah PM, Stevens DA, Walsh TJ; Invasive Fungal Infections Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer; Mycoses Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis.* 2002 ;34(1):7-14.
2. Mokaddas E, Burhamah MH, Khan ZU, Ahmad S. Levels of (1→3)-β-D-glucan, Candida mannan and Candida DNA in serum samples of pediatric cancer patients colonized with Candida species. *BMC Infect Dis.* 2010 6;10:292.
3. Oz Y, Kiraz N. Diagnostic methods for fungal infections in pediatric patients: microbiological, serological and molecular methods. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011 ;9(3):289-98.
4. Hale KA, Shaw PJ, Dalla-Pozza L, MacIntyre CR, Isaacs D, Sorrell TC. Epidemiology of paediatric invasive fungal infections and a case-control study of risk factors in acute leukaemia or post stem cell transplant. *Br J Haematol.* 2010 ;149(2):263-72.
5. Sung L, Lange BJ, Gerbing RB, Alonzo TA, Feusner J. Microbiologically documented infections and infection-related mortality in children with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2007 ;110(10):3532-9.
6. Ozen M, Dündar NO. Invasive aspergillosis in children with hematological malignancies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011 ;9(3):299-306.
7. Mor M, Gilad G, Kornreich L, Fisher S, Yaniv I, Levy I. Invasive fungal infections in pediatric oncology. *Pediatr Blood Cancer.* 2011 ;56(7):1092-7.
8. Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, Knudsen TA, Sarkisova TA, Schaufele RL, Sein M, Sein T, Chiou CC, Chu JH, Kontoyiannis DP, Walsh TJ. Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis.* 2005 ;41(5):634-53.

9. Thomas L, Baggen L, Chisholm J, Sharland M. Diagnosis and treatment of aspergillosis in children. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009 ;7(4):461-72.
10. Foy PC, van Burik JA, Weisdorf DJ. Galactomannan antigen enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13(4):440-3.
11. Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, Lioure B, Waller J, Campos F, Villard O, Liu KL, Natarajan-Amé S, Lutz P, Dufour P, Bergerat JP, Candolfi E. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Oncol.* 2002 1;20(7):1898-906.
12. Steinbach WJ, Addison RM, McLaughlin L, Gerrald Q, Martin PL, Driscoll T, Bentsen C, Perfect JR, Alexander BD. Prospective Aspergillus galactomannan antigen testing in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *Pediatr Infect Dis J.* 2007 ;26(7):558-64.
13. Hayden R, Pounds S, Knapp K, Petraitiene R, Schaufele RL, Sein T, Walsh TJ. Galactomannan antigenemia in pediatric oncology patients with invasive aspergillosis. *Pediatr Infect Dis J.* 2008 ;27(9):815-9.
14. Castagnola E, Furfaro E, Caviglia I, Licciardello M, Faraci M, Fioredda F, Tomà P, Bandettini R, Machetti M, Viscoli C. Performance of the galactomannan antigen detection test in the diagnosis of invasive aspergillosis in children with cancer or undergoing haemopoietic stem cell transplantation. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16(8):1197-203.
15. El-Mahallawy HA, Shaker HH, Ali Helmy H, Mostafa T, Razak Abo-Sedah A. Evaluation of pan-fungal PCR assay and Aspergillus antigen detection in the diagnosis of invasive fungal infections in high risk paediatric cancer patients. *Med Mycol.* 2006; 44(8):733-9.
16. Smith PB, Benjamin DK Jr, Alexander BD, Johnson MD, Finkelman MA, Steinbach WJ. Quantification of 1,3-beta-D-glucan levels in children: preliminary data for diagnostic use of the beta-glucan assay in a pediatric setting. *Clin Vaccine Immunol.* 2007 ;14(7):924-5.
17. Mularoni A, Furfaro E, Faraci M, Franceschi A, Mezzano P, Bandettini R, Viscoli C, Castagnola E. High Levels of beta-D-glucan in immunocompromised

- children with proven invasive fungal disease. *Clin Vaccine Immunol.* 2010 May;17(5):882-3.
18. Zhao L, Tang JY, Wang Y, Zhou YF, Chen J, Li BR, Xue HL. Value of plasma beta-Glucan in early diagnosis of invasive fungal infection in children. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2009;11(11):905-8.
 19. Gençer S. Doğal savunma mekanizmaları. İç : Akova M., Akan H., editörler. *Febril nötropeni.* Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.43-62.
 20. Ali R. Hematolojik maligniteler. İç : Akova M., Akan H., editörler. *Febril nötropeni.* Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.333-350.
 21. Bartfai T, Conti B. Fever. *ScientificWorldJournal.* 2010 ;10:490-503.
 22. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, Feld R, Pizzo PA, Rolston KV, Shenep JL, Young LS. 2002 Guidelines For the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer. *Clin Infect Dis.* 2002;34(6):730-51.
 23. Kebudi R, Devecioglu Ö, Gürler N. Definitions and Diagnostic Approach in Childhood Febrile Neutropenia. *Flora* 2004; 9 (2):73-105.
 24. Taşova Y. Hangi mikrobu tedavi edelim?. İç : Akova M., Akan H., editörler. *Febril nötropeni.* Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.127-140.
 25. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg BJ, Marr KA, Muñoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennett JE; 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. *Clin Infect Dis.* 2008; 46 (12): 1813-21.
 26. Ener B. Mikrobiyolojik tanı: Fungal yöntemler. İç : Akova M., Akan H., editörler. *Febril nötropeni.* Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.251-267.

27. Doğan Çelik A., Öztürk R. Febril nötropenik hastalarda invaziv kandida enfeksiyonları. İç : Akova M., Akan H., editörler. Febril nötropeni. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.415-429.
28. Ben-Ami R, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Enemy of the immunosuppressed state: an update on the pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* infection. *Br J Haematol.* 2010 ;150(4):406-17.
29. Çalık Başaran N., Akova M. İnvaziv aspergillozis. İç : Akova M., Akan H., editörler. Febril nötropeni. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.431-449.
30. Sherif R, Segal BH. Pulmonary aspergillosis: clinical presentation, diagnostic tests, management and complications. *Curr Opin Pulm Med.* 2010;16(3):242-50.
31. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2002 ;34(7):909-17.
32. Steinbach WJ. Invasive aspergillosis in pediatric patients. *Curr Med Res Opin.* 2010;26(7):1779-87.
33. Karaman CZ. Akciğerin mantar enfeksiyonlarında radyolojik bulgular. *Kli mik der.* 2008; 21(2): 47-53.
34. Burgos A, Zaoutis TE, Dvorak CC, Hoffman JA, Knapp KM, Nania JJ, Prasad P, Steinbach WJ. Pediatric invasive aspergillosis: a multicenter retrospective analysis of 139 contemporary cases. *Pediatrics.* 2008;121(5):e1286-94.
35. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis.* 2001;32(3):358-66.
36. McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan MA, Conn LA, Plikaytis BD, Warnock DW. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis.* 2001;33(5):641-7
37. Zaoutis TE, Heydon K, Chu JH, Walsh TJ, Steinbach WJ. Epidemiology, outcomes, and costs of invasive aspergillosis in immunocompromised children in the United States, 2000. *Pediatrics.* 2006;117(4):e711-6.
38. Catherinot E, Lanternier F, Bougnoux ME, Lecuit M, Couderc LJ, Lortholary O; *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *Infect Dis Clin North Am.* 2010 ;24(1):107-138

39. Akova M., Kontoyiannis P. D. Kanser hastalarında Zigomikoz: güncelleme. İç : Akova M., Akan H., editörler. Febril nötropeni. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.451-467.
40. Sancak B., Arıkan S. Yeni önem kazanan mantarlar. İç : Akova M., Akan H., editörler. Febril nötropeni. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2010.s.469-498.
41. Latgé JP, Kobayashi H, Debeaupuis JP, Diaquin M, Sarfati J, Wieruszeski JM, Parra E, Bouchara JP, Fournet B. Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun.* 1994 ;62(12):5424-33.
42. Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latgé JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(2):497-500.
43. Lehmann PF, Reiss E. Invasive aspergillosis: antiserum for circulating antigen produced after immunization with serum from infected rabbits. *Infect Immun.* 1978 ;20(2):570-2.
44. Maertens J, Theunissen K, Lodewyck T, Lagrou K, Van Eldere J. Advances in the serological diagnosis of invasive *Aspergillus* infections in patients with haematological disorders. *Mycoses.* 2007;50 (1):2-17.
45. Wheat LJ, Walsh TJ. Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008;27(4):245-51.
46. Aquino VR, Goldani LZ, Pasqualotto AC. Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycopathologia.* 2007; 163(4):191-202.
47. Wheat LJ, Walsh TJ. Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008;27(4):245-51.
48. 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(6):1604-10.

49. Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, Lagrou K, Verhaegen J, Boogaerts M, Eldere JV. Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol.* 2004; 126(6):852-60.
50. Verweij PE, Erjavec Z, Sluifers W, Goessens W, Rozenberg-Arska M, Debets-Ossenkopp YJ, Guiot HF, Meis JF. 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(6):1612-6.
51. Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transpl Infect Dis.* 2003; 5(4):158-66.
52. Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, Aoki K, Kurokawa M, Chiba S, Motokura T, Hirai H, Ogawa S. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1→3)-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(6):2733-41.
53. Weisser M, Rausch C, Droll A, Simcock M, Sendi P, Steffen I, Buitrago C, Sonnet S, Gratwohl A, Passweg J, Fluckiger U. Galactomannan does not precede major signs on a pulmonary computerized tomographic scan suggestive of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies. *Clin Infect Dis.* 2005; 41(8):1143-9.
54. Yoo JH, Choi JH, Choi SM, Lee DG, Shin WS, Min WS, Kim CC. 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(3):392-8.
55. Suankratay C, Kanitcharaskul P, Arunyingmongkol K. Galactomannan antigenemia for the diagnosis of invasive aspergillosis in neutropenic patients with hematological disorders. *J Med Assoc Thai.* 2006; 89(11):1851-8.
56. Marty FM, Koo S. Role of (1→3)-beta-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol.* 2009; 47:233-40.

57. Levin J, Bang FB. Clottable protein in *Limulus*; its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin. *Thromb Diath Haemorrh*. 1968 ;19(1):186-97.
58. Kakinuma A, Asano T, Torii H, Sugino Y. Gelation of *Limulus* amoebocyte lysate by an antitumor (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan. *Biochem Biophys Res Commun*. 1981;101(2):434-9.
59. Morita T, Tanaka S, Nakamura T, Iwanaga S. A new (1 \rightarrow 3)-b-D-glucan mediated coagulation pathway found in *Limulus* amebocytes. *FEBS Lett* 1981; 129: 318-321.
60. Obayashi T, Tamura H, Tanaka S, Ohki M, Takahashi S, Arai M, Masuda M, Kawai T. A new chromogenic endotoxin-specific assay using recombined *limulus* coagulation enzymes and its clinical applications. *Clin Chim Acta*. 1985; 149 (1): 55-65.
61. Obayashi T, Yoshida M, Mori T, Goto H, Yasuoka A, Iwasaki H, Teshima H, Kohno S, Horiuchi A, Ito A. Plasma (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet*. 1995 ;345(8941):17-20.
62. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, Ketchum PA, Finkelman MA, Rex JH, Ostrosky-Zeichner L. 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;39(2):199-205.
63. Senn L, Robinson JO, Schmidt S, Knaup M, Asahi N, Satomura S, Matsuura S, Duvoisin B, Bille J, Calandra T, Marchetti O. 1,3-Beta-D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis*. 2008;46(6):878-85.
64. Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, Ketchum PA, Wingard J, Schiff R, Tamura H, Finkelman MA, Rex JH. Multicenter clinical evaluation of the (1 \rightarrow 3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*. 2005;41(5):654-9.
65. Ellis M, Al-Ramadi B, Finkelman M, Hedstrom U, Kristensen J, Ali-Zadeh H, Klingspor L. Assessment of the clinical utility of serial beta-D-glucan

- concentrations in patients with persistent neutropenic fever. *J Med Microbiol.* 2008;57(Pt 3):287-95.
66. Koo S, Bryar JM, Page JH, Baden LR, Marty FM. Diagnostic performance of the (1->3)-beta-D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clin Infect Dis.* 2009;49(11):1650-9.
 67. Racil Z, Kocmanova I, Lengerova M, Weinbergerova B, Buresova L, Toskova M, Winterova J, Timilsina S, Rodriguez I, Mayer J. Difficulties in using 1,3-{beta}-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. *J Med Microbiol.* 2010 ;59:1016-22
 68. Digby J, Kalbfleisch J, Glenn A, Larsen A, Browder W, Williams D. Serum glucan levels are not specific for presence of fungal infections in intensive care unit patients. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10(5):882-5
 69. Alexander BD, Smith PB, Davis RD, Perfect JR, Reller LB. The (1,3){beta}-D-glucan test as an aid to early diagnosis of invasive fungal infections following lung transplantation. *J Clin Microbiol.* 2010;48(11):4083-8.
 70. Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a (1->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol.* 2005 ;43(12):5957-62.
 71. Mennink-Kersten MA, Ruegebrink D, Verweij PE. *Pseudomonas aeruginosa* as a cause of 1,3-beta-D-glucan assay reactivity. *Clin Infect Dis.* 2008 15;46(12):1930-1.
 72. Nicholson J. F., Pesce M. A. Laboratory testing in infants and children. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics.* 16 th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2000. p.2393-2396.
 73. Meckler G, Lindemulder S. Fever and neutropenia in pediatric patients with cancer. *Emerg Med Clin North Am.* 2009 ; 27(3):525-44.
 74. Stabell N, Nordal E, Stensvold E, Gammelsrud KW, Lund B, Taxt A, Buhning F, Greve-Isdahl M, Fornebo HP, Simonsen GS, Klingenberg C. Febrile neutropenia in children with cancer: a retrospective Norwegian multicentre study of clinical and microbiological outcome. *Scand J Infect Dis.* 2008;40(4):301-7.

75. Katsimpardi K, Papadakis V, Pangalis A, Parcharidou A, Panagiotou JP, Soutis M, Papandreou E, Polychronopoulou S, Haidas S. Infections in a pediatric patient cohort with acute lymphoblastic leukemia during the entire course of treatment. *Support Care Cancer*. 2006 ;14(3):277-84.
76. Castagnola E, Fontana V, Caviglia I, Caruso S, Faraci M, Fioredda F, Garrè ML, Moroni C, Conte M, Losurdo G, Scuderi F, Bandettini R, Tomà P, Viscoli C, Haupt R. A prospective study on the epidemiology of febrile episodes during chemotherapy-induced neutropenia in children with cancer or after hemopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2007 ;45(10):1296-304.
77. Mendes AV, Sapolnik R, Mendonça N. New guidelines for the clinical management of febrile neutropenia and sepsis in pediatric oncology patients. *J Pediatr (Rio J)*. 2007 ;83:S54-63.
78. Orudjev E, Lange BJ. Evolving concepts of management of febrile neutropenia in children with cancer. *Med Pediatr Oncol*. 2002;39(2):77-85.
79. te Poele EM, Tissing WJ, Kamps WA, de Bont ES. Risk assessment in fever and neutropenia in children with cancer: What did we learn? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2009 ;72(1):45-55.
80. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805-12.
81. Tunçcan OG, Yegin ZA, Ozkurt ZN, Erbaş G, Akı SZ, Senol E, Yağcı M, Sucak G. High ferritin levels are associated with hepatosplenic candidiasis in hematopoietic stem cell transplant candidates. *Int J Infect Dis*. 2010;14 :e104-7.
82. Villarroel M, Avilés CL, Silva P, Guzmán AM, Poggi H, Alvarez AM, Becker A, O'ryan M, Salgado C, Topelberg S, Tordecilla J, Varas M, Viviani T, Zubieta M, Santolaya ME. Risk factors associated with invasive fungal disease in children with cancer and febrile neutropenia: a prospective multicenter evaluation. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 ;29(9):816-21.
83. Chai LA, Netea MG, Teerenstra S, Earnest A, Vonk AG, Schlamm HT, Herbrecht R, Troke PF, Kullberg BJ. Early proinflammatory cytokines and C-reactive protein trends as predictors of outcome in invasive Aspergillosis. *J Infect Dis*. 2010 ;202(9):1454-62.

84. Herbrecht R, Auvrignon A, Andrès E, Guillemain R, Suc A, Eyer D, Pailler C, Letscher-Bru V, Leverger G, Schaison G. Efficacy of amphotericin B lipid complex in the treatment of invasive fungal infections in immunosuppressed paediatric patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2001 ;20(2):77-82.
85. Mennink-Kersten MA, Rugebrink D, Klont RR, Warris A, Gavini F, Op den Camp HJ, Verweij PE. Bifidobacterial lipoglycan as a new cause for false-positive platelia *Aspergillus* enzyme-linked immunosorbent assay reactivity. *J Clin Microbiol.* 2005 ;43(8):3925-31.
86. Sulahian A, Touratier S, Ribaud P. False positive test for aspergillus antigenemia related to concomitant administration of piperacillin and tazobactam. *N Engl J Med.* 2003 ;349(24):2366-7.
87. Yücesoy M, Ergon MC. Investigation of *Aspergillus* galactomannan levels in antimicrobial agents. *Mikrobiyol Bul.* 2007; 41(4):565-70.
88. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011;52(6):750-70.
89. Pazos C, Pontón J, Del Palacio A. Contribution of (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol.* 2005 ;43(1):299-305.
90. Usami M, Ohata A, Horiuchi T, Nagasawa K, Wakabayashi T, Tanaka S. Positive (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan in blood components and release of (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan from depth-type membrane filters for blood processing. *Transfusion.* 2002 ;42(9):1189-95.
91. Kimura Y, Nakao A, Tamura H, Tanaka S, Takagi H. Clinical and experimental studies of the limulus test after digestive surgery. *Surg Today.* 1995;25(9):790-4.
92. Nakao A, Yasui M, Kawagoe T, Tamura H, Tanaka S, Takagi H. False-positive endotoxemia derives from gauze glucan after hepatectomy for hepatocellular carcinoma with cirrhosis. *Hepatogastroenterology.* 1997 ;44(17):1413-8.
93. Mohr JF, Sims C, Paetznick V, Rodriguez J, Finkelman MA, Rex JH, Ostrosky-Zeichner L. Prospective survey of (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan and its relationship to

invasive candidiasis in the surgical intensive care unit setting. *J Clin Microbiol.* 2011 ;49(1):58-61.

94. Kedzierska A, Kochan P, Pietrzyk A, Kedzierska J. Current status of fungal cell wall components in the immunodiagnosics of invasive fungal infections in humans: galactomannan, mannan and (1-->3)-beta-D-glucan antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007 ;26(11):755-66.
95. Nagasawa K, Yano T, Kitabayashi G, Morimoto H, Yamada Y, Ohata A, Usami M, Horiuchi T. Experimental proof of contamination of blood components by (1-->3)-beta-D-glucan caused by filtration with cellulose filters in the manufacturing process. *J Artif Organs.* 2003;6(1):49-54.

