

# Akciğerin Mantar İnfeksiyonlarının Tanısında Kültür ve Serolojik Testlere Güncel Yaklaşımlar

Çağrı Ergin

**Özet:** Solunum sisteminin fungal infeksiyonlarının tanısında etken mantarın üretilmesi, yapılarının gösterilmesi veya etkene karşı vücudun bağışıklık cevabının değerlendirilmesi tedaviye yön vermesi nedeniyle önemlidir. Bu yazıda akciğer infeksiyonlarında mikrobiyolojik tanı öncelikle *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.* ve *Aspergillus spp.* için özetlenmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Akciğer, mantar, kültür, seroloji, *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*.

**Summary:** Contemporary approaches to the culture and serological tests for the diagnosis of pulmonary fungal infections. Evaluation of immunologic reactions to infectious agents, culture of fungi and revealing their structure are important for therapeutic decisions. Microbiological diagnosis in pulmonary infections caused mainly by *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.* and *Aspergillus spp.* are summarized below.

**Key Words:** Lung, fungi, culture, serology, *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*.

## Giriş

Solunum sisteminin fungal infeksiyonlarının tanısında etken mantarın üretilmesi, yapılarının gösterilmesi veya etkene karşı vücudun bağışıklık cevabının değerlendirilmesi tedaviye yön vermesi nedeniyle önemlidir. Üst solunum yolu örneklerinde yoğun flora bulunması, alt solunum yolu örneklerinin değerlendirilmesi sırasında izole edilen mantarın primer etken olarak kabul edilmesini zorlaştırmaktadır. Bakteriyojik kültürlerde kontaminasyon, kolonizasyon ve infeksiyon ayrımını yapabilmek daha zor iken, mikolojik kültürlerde bu ayrıma varmak daha kolaydır. Üst solunum yolunda kolonizasyon olarak bulunan mantarların daha alt kesimlerden kültürünün yapılabilmesi izole edilen mantarın türüne ve virülansına da bağlı olarak infeksiyon varlığı yönüne yorumlanabilir. Kültürün başarılı olamadığı durumlarda veya mikolojik özelliklerinden dolayı yavaş üreyen etkenin varlığı serolojik yöntemler ile taranabilir. Mantarların duvar yapılarının kompleks olması ve genellikle immünojenik moleküllerinin benzerliği nedeni ile serolojik tanı mantarların antijeni aranmaktadır. Akciğerin fungal infeksiyonlarının kesin tanısı, etkenin kültürü ile yapılır. Fungal patojene yönelik kültür işlemlerinde solunum yolu örnekleri diğer vücut bölgelerinden alınan örnekler ile benzer tanısal yolu izler. Solunum yolu örneklerinin fungal kültür işlemlerinin bakteriyel kültür işlemlerinden en önemli farkı, klinik ve/veya histopatolojik ön tanıya göre kullanılan kültür besiyerinin ve işlemlerinin değişkenlik göstermesidir (1). Bu nedenle klinik ön tanı laboratuvara bildirilmelidir. Mikolojik kültür amacına yönelik olarak genellikle tercih edilen besiyeri (maya ve küf formu mantarlar için) Sabouraud'nun dekstrozu agar (SDA) besiyeridir. Mikolojik besiyerlerinin içeriği, çeşitli katkı maddeleri ile hedeflenen mantarın üreme özellikleri göz önüne alınarak değiştirilmektedir (2,3).

Alt solunum yolu örnekleri alındıktan sonra boyanmadan incelenebilir. Opak veya pürülan solunum yolu örneği %10 KOH solüsyonu ve hafif ısıtma yardımı ile mikroskopide inceleme için uygun hale getirilir. Maya hücreleri ve farklı küf yapılarının varlığı hedeflendiğinde, örneğin uygunluğuna göre santrifüj ile yoğunlaştırma ve dip sedimentinden inceleme (çini mürekkebi ile kapsül görüntüleme gibi) yapılabilir. İmmünoüprese hasta gruplarında hem üremenin, hem de tanımlamanın hızlandırılması için farklı besiyerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Klinik ön tanı kullanılacak besiyerinin seçiminde belirleyicidir. Klinik ön tanı sırasında düşünülen etkenin ekoloji ve epidemiyolojisinin bilinmesi hasta örneğinden yapılacak işlemler ve izolasyon oranını artıracaktır. Maya infeksiyonu ön tanısında malt-maya özütü agar veya V8 agar; kırmızı pigmentli maya ön tanısında mısır unlu agar; siyah pigmentli maya ön tanısında yulaf unlu agar, malt özütü agar veya patatesli dekstrozu agar; esmer mantar ("dematiaceous") infeksiyonu ön tanısında yulaf unlu agar veya patatesli-havuçlu agar (plevral efüzyon, bronkoalveoler lavaj gibi yüksek volümlü örneğin filtrasyonu ile); histopatolojik olarak hyalen küf varlığında malt özütü agar veya patatesli dekstrozu agar; *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* veya *Fusarium spp.* ön tanısında malt özütü agar veya Czapek-Dox agarı; zigomiset ön tanısında malt özütü agar; *Cryptococcus neoformans* ön tanısında Staib agarı, askomiset veya sölomiset infeksiyonu ön tanısında yulaf unlu veya kserofilik özellikli, selüloz kaynaklı besiyerlerine ekim, etkenin izolasyonu için çok önemlidir (3). Bu yazıda, alt solunum yolu infeksiyon etkeni olarak sık görülen mikoz etkenleri için seroloji ve kültür işlemleri özetlenmektedir.

## *Candida spp.*

Alt solunum yolu örneklerinde *Candida spp.* maya mantarları ile çoğunlukla üst solunum yolunda bulunan asemptomatik kolonizasyon kaynaklı kontaminasyon olarak karşılaşılmaktadır. *Candida pnömonisinde* balgam veya bronkoal-

veoler lavaj çoğunlukla doku invazyonunu göstermemektedir. Örneklerin mikroskopik incelemelerinde mayadan köken alan yalancı hif ve/veya hif yapılarının görülmesi fungal infeksiyon yönünde yorumlanır. Tanıda balgamın direkt boyalı mikroskopik incelemesinden ziyade histopatolojik incelenmesi gereklidir. Bununla birlikte kandidemiye bağlı hematogen *Candida* pnömonisi durumlarında klinik birliklik önemlidir. Mikolojik besiyerlerinin yanı sıra bakteriyel patojenlerin taranması sırasında kullanılan %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar ve seçici Gram-negatif agar besiyerlerinde bazı *Candida* türleri (*C. kefyr* gibi) 24-48 saat arasında göz ile görülebilir koloniler oluşturabilir. Flora bakterileri olduğu bilinen bölgeler için *Candida* spp. mayalarının kültüründe antibiyotik ilaveli (kloramfenikol 40 mg/ml veya penisilin 20 Ü/ml+streptomisin 40 mg/ml içerikli) SDA besiyeri kullanılır. Oda ısısında ve 37°C nemli ortamda inkübasyon *Candida* spp. için yeterlidir. Üreme olmayan besiyerleri, iki haftalık süre sonunda rapor edilmelidir. Besiyerinde %0.05 oranında sikloheksimid (aktidion) bulunması olası küf kontaminasyonunu baskılar (3). Ancak farklı patojenlerin de bulunabileceği göz önüne alınarak kültür işlemleri sikloheksimid bulunan ve bulunmayan besiyerlerinde birlikte yapılmalıdır. *C. albicans* (olguların %40-70'ini oluşturur), *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*, alt solunum yolu örneklerinden sıklıkla izole edilen türlerdir. Sık görülen türlerin dışında izole edilen *Candida* cinsinden maya mantarının, tekrarlayan kültürler ve örneğin mikroskopik incelemesi ile doğrulanması ve ileri tanımlanmasının yapılması gereklidir. Klinik olarak izole edilen kökenler için çimlenme borusu ("germ" tüp) testi, endomiset/hif biçiminde üremenin özellikleri ve şeker fermentasyon ve asimilasyon testleri yeterlidir. Antifungal duyarlılık testlerinin henüz bazı merkezlerde rutin olarak yapılabilmesi, laboratuvarların farklı standardizasyon uygulamalarını izlemeleri nedeni ile *Candida* spp.'nin tür düzeyinde tanımlanması klinik ilaç yaklaşımını etkileyecektir (2-6).

Kandidiyaz varlığında serolojik tanı yaygın olarak kullanılmamaktadır. Kandidiyazın serolojik değerlendirilmesi, akciğerin infeksiyonlarından çok hematolojik maligniteli hastalarda uygulanmaktadır. *Candida* spp.'ye karşı oluşan antikorlar lateks aglütinasyon, tüm hücre aglütinasyonu, indirekt immünfluoresans, radyoimmünoessey ve enzim immünoessey ile saptanabilir (7). Ancak immün sistemin baskılanması, nötralizan antikor varlığı, antikorun hızla elimine edilmesi, kolonizasyona bağlı yalancı pozitiflik tanısız değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır (8). Kandidemi varlığında mannan antijenine karşı antikor oluşumu kuvvetlidir; ancak bu antikorların kaynağının kolonizasyon veya infeksiyon olduğu ayrılamamaktadır. *Candida* spp.'nin neden olduğu invazif kandidiyaz olgularında ısıya duyarlı antijen, mannan, D-arabinitol ve enolaz varlığı tanısız testlerdir. Ancak *Candida* spp. antijenlerine karşı antikor arama testlerinde olduğu gibi solunum sisteminin *Candida* spp. infeksiyonlarında tanısız kullanımı çok sınırlıdır (7).

#### ***Cryptococcus* spp.**

En sık saptanan kriptokokkoz etkeni *C. neoformans*'tır. *C. gattii* (*C. neoformans* serotip B ve *C. neoformans* serotip C) ise diğer önemli kriptokokkoz etkeni olmakla birlikte henüz ülkemizde klinik veya çevresel izolasyonu yapılmamıştır.

Rutin bakteriyolojik besiyerlerinde *Cryptococcus* spp. üremez veya yeteri kadar uzun inkübasyonu yapılan besiyerlerinde çok zayıf üreme gösterebilir. Klinik örneğin mikroskopik incelemesinde maya hücrelerine ilaveten hif yapılarının görülmediği, belirgin kapsül yapısının gösterilebildiği örneklerde *Cryptococcus* spp. varlığı sorgulanmalıdır. Bununla birlikte balgam, bronş lavajı veya plevral sıvı örneklerinde *Cryptococcus* spp. üretilen hastaların yaklaşık yarısında pulmoner kriptokokkoz gelişmiştir. Kökenler, kolonizasyon veya spontan remisyona olarak değerlendirilmektedir. İzolasyon amacı ile antibiyotik içeren SDA nonselektif mikolojik besiyeri olarak kullanılır. Staib agarı veya içeriğinde L-DOPA ve benzeri maddeleri bulunan besiyerlerinde *C. neoformans* kahverengi pigment yapması (tirozinaz aktivitesi) nedeni ile klinik örnekler için primer kültürde ve tanımlama aşamalarında kullanılır. *Cryptococcus* spp. türüne göre düşük konsantrasyonlarda sikloheksimid ile inhibe olur. Bu nedenle genellikle rutin olarak kullanılan sikloheksimid konsantrasyonlarında *Cryptococcus* spp. üremesi olmaz. Örnekler oda ısısında ve 37°C'de iki hafta süre ile inkübe edilmelidir. Genellikle rutin mikolojik besiyerlerinde kullanılan glikoz oranı bazı *Cryptococcus* türlerinin üremesini inhibe edebilir (3,9,10).

*Cryptococcus* spp.'ye karşı kanda antikor saptanması genel olarak akciğer infeksiyonlarının tanısında kullanılmaz. *C. neoformans* kapsüller polisakarid antijenini gösteren lateks aglütinasyon ve ELISA testleri kriptokok menenjit veya sistemik kriptokokkoz için uygulanmaktadır. Enzim immünoessey yöntemlerinde ölçümü yapılan ana yapı glukuronoman polisakariddir (7,9). *C. neoformans*'ın üst ve alt solunum sisteminde de kolonize olabilmesi, konağın immün sisteminin durumuna göre infeksiyona yol açabilmesi nedeni ile hastanın antijen tayini ile değerlendirilmesi menenjit ve sistemik infeksiyonlarda farklılık gösterir. Bu geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış testlerin varlığına rağmen pulmoner kriptokokkoz kliniğinin ortaya çıkmaması muhtemeldir. Bu nedenle tanıya yönelik testlerin yüksek riskli hastalarda daha önemli olduğu düşünülmektedir (9). İmmünoessey model çalışmalarına göre primer pulmoner kriptokokkozlu immünoessey hastanın serumundan *C. neoformans* antijen varlığının saptanması pulmoner tutulum olduğunun göstergesidir (9,11). İmmünoessey varlığında, bronkoalveolar lavaj sıvısında 1/8 ve daha yüksek dilüsyonda antijen saptanması pulmoner kriptokokkoz olarak değerlendirilebilir (12). Bu yöntemin yalancı pozitiflik oranı yüksek olmakla birlikte, semptomatik akciğer kriptokokkozunda tanısız değeri bulunmaktadır. Antijen testi transtorasik aspiratlar için de uygulanabilmektedir (13). Akciğer kriptokokkozunda duvar yapısında düşük oranda gluklan bulunmasından dolayı β-glukan testi tanısız değildir.

#### ***Aspergillus* spp.**

*Aspergillus* türleri alt solunum yollarında allerjik bronko-pulmoner aspergilloz, aspergilloma ve invazif aspergilloz (İA) etkeni olarak bulunurlar (14). Hastanın bağışıklık durumu ve etkenin patojenitesi kliniği doğrudan etkiler. Granülomatöz hastalıklarda ve kaviter akciğer lezyonlarında fırsatçı patojendir. Akciğer kaynaklı tüm örnekler %10 KOH preparasyonu ile doğrudan incelenebilir veya histopatolojik olarak boyanabilir. Uzun, dallanan, hyalen, septumlu, keskin açılar ile

dallanan, yaklaşık 3.0 (2.5-8) µm çaplı hif yapıları *Aspergillus* spp. ön tanılı kabul edilir. *A. fumigatus*, *A. niger* ve *A. terreus* bu benzer yapıları doku mikroskopisinde gösterirken *Acromonium*, *Fusarium*, *Paecilomyces* ve *Scedosporium* infeksiyonlarının histopatolojik görünümü aspergilloz ile sıklıkla karışır. Zigomiset infeksiyonlarından dokuda hif yapısı büyüklüğü, radyal dağılmama, dik açı ile dallanma özelliklerinin olmaması ile kolaylıkla ayrılabilir (15). İA'da kesin tanı, örnekte hiflerin gösterilmesi ve aynı örneklerden patojenin üretilmesidir (16). Kültür için SDA, Czapek-Dox agarı, inhibitörlü küf agarı veya florayı baskılamak amacı ile içine antibiyotik ilave edilen mikolojik besiyerleri kullanılabilir. *Aspergillus* spp. şüpheli klinik örnekler farklı ısı derecelerinde (28-30°C ve 37°C) kültüre edilmelidir. 37°C'de üreme çevresel nonpatojen *Aspergillus* spp.'den ayırımında önemlidir (17). Birçok saprofit veya patojen *Aspergillus* türünün üremesi sikloheksimid ile inhibe olur (18). *A. fumigatus* hızlı üreten bir türdür. Tipik kadifemsi, mavi-yeşil renkte, uniseriat konidyal yapıları 24-48 saat içinde mikolojik besiyerlerinde ve rutin olarak kullanılan koyun kanlı agar besiyerlerinde gelişir. Diğer sık görülen İA etkenlerinden *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* ve *A. terreus* da mikolojik besiyerlerinde yaklaşık bir hafta içinde üreyerek tanımlanabilir. Klinik ön tanılı hastalar için kültür bir ay süreli izlenmelidir. *Aspergillus* spp. türlerinin tanımlanması sırasında kullanılan Czapek-Dox agarı ve malt özütlü agar primer kültürler için genellikle önerilmektedir. *Aspergillus* cinsi içindeki farklı antifungal özellikler gösteren türlerin varlığı nedeni ile tür tanımlama gereklidir (15). Atipik ve az sporülasyon yapan türler genellikle antifungallere daha dirençli kökenlerdir (19). Doğada sık bulunan *Aspergillus* spp.'nin kültür besiyerinde üretilmesi ancak mikroskopik olarak görülmemesi durumunda, granülositopenik hastalar için besiyerinde tek üremenin bile önemli kabul edilerek rapor edilmesi yönünde görüşler bulunmaktadır (15,20).

Kültür örneği almadaki zorluklar, üst solunum yolu florası kontaminasyonu ve *Aspergillus* spp.'nin üreme ve tanımlanmasındaki gecikmelerin (dört haftaya kadar işlem süresi uzayabilmektedir) tedavi sürecinde meydana getirdiği olumsuzluklar nedeni ile infeksiyon varlığının hızlı gösterilmesinde *Aspergillus* spp. antijenleri taranmaktadır. Serolojik tanıda en sık serumda galaktomannan antijeni saptanması kullanılmaktadır, (1-3)-β-D-glukan varlığının gösterilmesi henüz yeni bir test olarak kullanıma yeni sunulmuştur (21,22). Galaktomannan, *Aspergillus* türlerinde hücre duvarında bulunan ve ayrıca ekzo-antijen olarak da salgılanabilen bir maddedir. Nonimmünojenik mannan içyapı ve çeşitli uzunluklardaki immünojenik yan galaktofuranozil ünitelerden meydana gelmiştir (16,23). Lateks aglütinasyonu, radyoimmünoessey, enzim immünoessey ve sandviç ELISA yöntemleri ile antijen saptanabilir (7). Test esnasında kullanılan monoklonal antikor (sıçan kökenli, EB-A2) galaktomannan molekülünün (1,5)-β-galaktofuranoz epitopuna özgüdür. Bu yapı hem duvar yapısında hem de salgılanan galaktomannan antijeninde bulunur (16,23,24). Halen ticari olarak temin edilebilen galaktomannan tek basamaklı sandviç ELISA yöntemleri ile incelenen test örneğinde 0.5-1 ng/ml antijen varlığı saptanabilir. Testin haftada iki defa yapılarak ardı ardına gelen serum örneklerinin İA olarak değerlendirilmesi önerilmektedir. Galaktoman-

nan antijeni varlığı serum, bronkoalveoler lavaj ve beyin omurilik sıvısında araştırılabilir. Avrupa ve Amerika'da çeşitli organizasyon ve kuruluşlar İA tanısında enzim immünoessey yöntemi ile galaktomannan antijeni saptanmasını tanısal mikrobiyolojik kriter olarak kabul etmişlerdir (25). Halen kullanımda olan ELISA kitlerinde sınır değerleri ("cut-off") için 1.5 önerilmekte ise de İA'nın tanısının hızlı olması kaygısıyla farklı merkezlerde "cut-off" değeri 0.5-1.0-1.5 değerleri kullanılmaktadır. Ancak "cut-off" değerinin 0.5'e kadar düşük alınması da yalancı pozitiflik oranlarını artırmaktadır (16). Amerika Birleşik Devletleri'nde FDA önerisi ile 0.5, Avrupa'da ise 0.7 olarak yaygın kullanımda kabul görmektedir (17,26). Galaktomannan antijeni hastalığın 5-8. (ortalama) günlerinde saptanabilir. Bu nedenle galaktomannan antijeni saptanması İA için yüksek risk kabul edilen hastalarda rutin olarak yapılmalıdır (27,28). Ekinokandinler dışında uygulanan antifungal tedaviye cevabın takibinde de galaktomannan antijeninin titrasyon takibi faydalıdır. Ancak antifungal tedavide kullanılan ilacın etki mekanizmasına göre kan galaktomannan seviyesini değiştirebileceği, buna bağlı olarak yalancı negatif sonuçların alınabileceği bildirilmektedir (29). Pozitif kabul edilen hastaların serum örneklerinin ardışık veya tek olması, farklı merkezlerde farklı "cut-off" okuma değerlerinin kullanılması ve kanıtlanmış İA olgularının sayısının az olmasına rağmen galaktomannan antijeninin enzim immünoessey ile saptanmasında duyarlılık %80.7 (FDA verisi, EORTC-MSG kriterine göre), özgüllük %89.2 (FDA verisi, EORTC-MSG kriterine göre) olarak bildirilmiştir (16,30,31). Ancak bu oranlar çalışma merkezlerine göre önemli farklılıklar (duyarlılık %63-100; özgüllük %65-100) göstermektedir (16,29). Yalancı pozitif sonuçlar genellikle başka bir küf mantarının, mikotik infeksiyonun varlığında rastlanır. Bu hataya en sık *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, *Rhodotorula rubra* ve *Paecilomyces variotii* neden olur. Çocukluk yaş grubunda çocuğun normal beslenmesi ile aldığı bazı yiyecekler (ekmek, kek, mısır gevreği, pirinç, hindi, susam vb.) de intestinal mukozal hasara bağlı olduğu düşünülen bir mekanizma ile yalancı pozitif sonuçlara yol açar. Damar içi yol ile kullanılan piperasilin/tazobaktam, siklofosamid yalancı pozitif sonuçlara neden olur (32,33). Gastrointestinal içerikte yüksek oranda *Bifidobacterium* spp. bulunması da bu bakterilerin lipoteikoik asid yapısının *Aspergillus* galaktomannan yapısına benzerliğinden dolayı serumda yalancı pozitif sonuçlara yol açtığı bilinmektedir (34). Aynı zamanda *Penicillium marneffeii* infeksiyonlarının tanısında da *Aspergillus* galaktomannan antijeninin saptanması önerilmektedir (35). Deneysel histoplazmoz modelinde yalancı *Aspergillus* galaktomannan pozitifliği saptandığı bildirilmiştir (36). Son zamanlarda klinik tanıda kullanım için hücre duvar yapısında bulunan (1,3)-β-D glukan antijeni varlığı klinik örneklerde aranmaktadır. Ancak *Aspergillus* spp. dışındaki diğer bazı mantarlarda da bulunması (*Candida* spp., *Fusarium* spp., *Acromonium* spp. ve *Pneumocystis jirovecii*) İA için kullanımını kısıtlamaktadır. *Zygomycetes* ve *Cryptococcus* spp.'de ise çok azdır. Yalancı pozitiflik oranları diğer tanısal serolojik testlere göre daha düşüktür. Henüz geliştirilme aşamasında olması nedeni ile klinik veri azdır (37). Genel olarak İA tanısı için antikor taraması saptanması yapılmaz (17,39). Hastaların çoğunun immünitesinin bozuk olması antikor cevabını

düşürmüştür ve tanısal antikor seviyesine ulaşılammamaktadır (38). Ancak subakut İA'da ve nötropenik olmayan hastaların İA tanısında *Aspergillus* spp.'ye karşı antikor seviyesi immüno-difüzyon, karşıt immünoelektroforez, radyoimmünoessey ve ELISA ile araştırılabilir. İA tanısında *Aspergillus* spp. metabolitlerinin (metalloproteazlar, fosfolipazlar, gliotoksin, mannitol vb.) varlığının gösterilmesi henüz çalışma aşamasındadır (17,29,39).

### Dimorfik Mantarlar

Son yıllarda ülkemizde dimorfik mantar olguları rapor edilmekle birlikte, henüz hastadan kültür ile tanımlanmış dimorfik mikoz olgu raporu bulunmamaktadır. Ülkemizde yapılan seroprevalans çalışmaları, hayvan otopsipleri, insanda histopatolojik tanımlamalar ve çevresel taramalarda üretilmesi sonucu *Histoplasma capsulatum* varlığı ortaya konmuştur (40). Isıya bağlı dimorfik mantarlar olarak bilinen *H. capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Penicillium marneffe* ve *Sporothrix schenckii* insanlarda akciğer infeksiyonlarına yol açar. Etkenlerin çoğunlukla solunum yolu ile alınmasına rağmen hastalığın şekli ve şiddeti konağın immünitesi ile ilişkilidir. Klinik ön tanı hastalar için laboratuvara önceden haber verilmelidir. Akciğer kaynaklı tüm örnekler %10 KOH preparasyonu ile doğrudan incelenebilir veya histopatolojik olarak boyanabilir. Histopatolojik yöntemler hızlı tanı koymasına rağmen duyarlılığı düşüktür. Dimorfik mantarların kültür inkübasyon süresi iki aydır. SDA rutin mikolojik besiyeri olmasına rağmen dimorfik mantarların kültürü hedeflendiğinde kalp infüzyon agarı genellikle tüm dimorfik mantarlar için tercih edilir. İnkübasyon, oda ısısı ve 37°C'de yapılmalıdır. Üreyen kolonilerde *C. immitis* dışında in vitro dimorfik dönüşümün gösterilmesi gereklidir. *C. immitis*'in tanısal hayvan inokülasyonu ile sferül formunda maya mantarına dönüşümü saptanmalıdır. Üreyen kolonilere moleküler onaylama yapılmaz (41,42). Ülkemiz gibi dimorfik mantarların endemik olmadığı bölgelerde serolojik tanımlaması hastalığın tanısına yönelik olmaktan çok seroepidemiolojik özelliklerini saptamak için yapılır. *H. capsulatum* infeksiyonunda olguların %90'ında antikor cevabı oluşmasına rağmen serolojik olarak tanı için süre 2-6 haftadır. İmmün sistemin baskılandığı durumlarda ise antikor cevabı olmayabilir. Histoplazmozda standard olarak immüno-difüzyon testi (H ve M presipitin bandları için), kompleman fiksasyon testi ve lateks aglütinasyon testi uygulanır. Dimorfik mantarlarda tanı için kullanılan testlerde histoplazmoz, parakoksidioidomikoz, blastomikoz, aspergilloz, koksidioidomikoz ve kandidiyaz olgularında çapraz reaksiyon görülür. Deri testleri ile antikor cevabının değerlendirilmesi yalancı pozitif sonuçlara yol açar. Dimorfik mantarların özellikle histoplazmozun akciğer infeksiyonlarında serolojik değerlendirmelerde duyarlılık düşüktür, özgüllük yüksektir. Histoplazmozda "Western blot" testi doğrulama olarak kullanılır (7,43).

### Diğer Fungal Etkenler

Solunum sistemi örneklerinin yukarıda bahsedilen mantarların dışında rutin mikrobiyolojik kültüründe önerilen mikolojik besiyeri SDA'dır. Mikolojik besiyerine flora baskılanması amacına yönelik antibiyotik dışında herhangi bir in-

hibitör madde ilave edilmemesi önerilir. Kültür oda ısısı ve 37°C'de iki hafta süre ile takip edilmelidir. Kültür ile üreyen mantar standard yöntemler ile isimlendirilmelidir. Dünya üzerinde endemik olarak fungal kolonizasyon bilinen bölgelere seyahat hikayesi varlığında, rutin mikolojik kültür besiyerleri çeşitlerine yukarıda belirtildiği şekilde zenginleştirici ve seçici besiyerleri eklenmelidir. Küf mantarlarında cins düzeyinde tanımlama rapor edilmeli, tür düzeyinde tanımlama referans merkezlerden onay alındıktan sonra kliniğe bildirilmelidir.

### Kaynaklar

1. [http://www.idsociety.org/Content/NavigationMenu/Practice\\_Guidelines/Standards\\_Practice\\_Guidelines\\_Statements/Standards\\_Practice\\_Guidelines\\_and\\_Statements.htm](http://www.idsociety.org/Content/NavigationMenu/Practice_Guidelines/Standards_Practice_Guidelines_Statements/Standards_Practice_Guidelines_and_Statements.htm)
2. <http://www.doctorfungus.com/thelabor/labproce.htm>
3. de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. *Atlas of Clinical Fungi*. 2nd ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002
4. Haron E, Vartivarian S, Anaissie E, Dekmezian R, Bodey GP. Primary Candida pneumonia. *Medicine* 1993; 72: 137-42
5. <http://www.doctorfungus.com/mycoses/human/candida/Pneumonia.htm>
6. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, et al. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 161-89
7. Kalkancı A. Mikozların serolojik tanısında yenilikler. In: 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 2005) *Tutanakları*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2005: 21-32
8. McLintock LA, Jones BL. Advances in the molecular and serologic diagnosis of invasive fungal infection in haematology-oncology patients. *Br J Haematol* 2004; 126: 289-97
9. Casadevall A, Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. Washington, DC: ASM, 1998: 381-405
10. Ergin Ç, İkit M. *Cryptococcus neoformans*. In: Cengiz AT, ed. *Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 1119-23
11. Goldman D, Lee SC, Casadevall A. Pathogenesis of pulmonary *Cryptococcus neoformans* infection in the rat. *Infect Immun* 1994; 62: 4755-61
12. Baugman RP, Rhodes JC, Dohn MN, Henderson H, Frame PT. Detection of Cryptococcal antigen in bronchoalveolar lavage fluid: a prospective study of diagnostic utility. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1226-9
13. Liaw YS, Yang PC, Yu CJ, et al. Direct determination of cryptococcal antigen in transthoracic needle aspirate for diagnosis of pulmonary cryptococcosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1588-91
14. Stevens DA, Kan VL, Judson MA, et al. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 696-709
15. McClenny N. Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by microscopic observation and culture: the traditional approach. *Med Mycol* 2005; 43 (Suppl. 1): 125-8
16. Altundal Y. Galaktomannan antijen testi: tanı ve izlemdeki yeri. In: Ener B, ed. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Sempozyumu: Aspergillus Türleri ve Oluşturdukları Hastalıklar* (15-18 Haziran 2006, Bursa) *Sempozyum Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2006: 185-91
17. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 609-22.
18. Sutton DA. Specimen collection, transport, and processing: mycology. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington, DC: ASM, 2003: 1659-67
19. Balajee SA, Weaver M, Imhof A. *Aspergillus fumigatus* variant with decreased susceptibility to multiple antifungals. *Antimicrob*



- Agents Chemother* 2004; 48: 1197-203
20. Nalesnik MA, Myerowitz RL, Jenkins J. Significance of Aspergillus species isolated from respiratory secretions in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1980; 11: 370-6
  21. Odabasi Z, Paetznick VL, Rodriguez JR, et al. Differences in beta-glucan levels in culture supernatants of a variety of fungi. *Med Mycol* 2006; 44: 267-72
  22. Verweij PE. Advances in diagnostic testing. *Med Mycol* 2005; 43 (Suppl. 1): 121-4
  23. Latge P, Kobayashi H, Debeauvais JP. Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of Aspergillus fumigatus. *Infect Immun* 1994; 62: 5424-33
  24. Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latge JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 497-500
  25. Ascioğlu S, Rex JH, de Pauw B, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 7-14
  26. Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, et al. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1898-906
  27. Maertens J, Van Eldere J, Verhaegen J, et al. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *J Infect Dis* 2002; 186: 1297-306
  28. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts M. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 2001; 97: 1604-10
  29. Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 349-57
  30. <http://www.doctorfungus.com/mycoses/human/aspergillus/aspergillosis.htm>
  31. Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transplant Infect Dis* 2003; 5: 158-66
  32. Sulahian A, Touratier S. False positive test for Aspergillus antigenemia related to concomitant administration of piperacillin and tazobactam. *N Engl J Med* 2003; 349: 2366-7
  33. Singh N, Obman A, Husain S. Reactivity of Platelia Aspergillus galactomannan antigen with piperacillin-tazobactam: clinical implications based on achievable concentrations in serum. *Anti-microb Agents Chemother* 2004; 48: 1989-92
  34. Mennink-Kersten MA, Klont RR, Warris A, Camp HJ Op den, Verweij PE. Bifidobacterium lipoteichoic acid and false ELISA reactivity in Aspergillus antigen detection. *Lancet* 2004; 363: 325-7
  35. Huang YT, Hung CC, Liao CH, et al. Detection of circulating galactomannan in Penicillium marneffei infection and cryptococcosis among patients infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2858-62
  36. Wheat LJ, Hackett E, Durkin M, et al. Histoplasmosis-associated cross-reactivity in the BioRad Platelia Aspergillus enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 638-40
  37. Odabaşı Z. Beta glukon antijen testi: tanı ve izlemedeki yeri. In: Ener B, ed. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu: Aspergillus Türleri ve Oluşturdıkları Hastalıklar* (15-18 Haziran 2006, Bursa) *Simpozyum Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2006: 192-4
  38. Young RC, Bennett JE. Invasive aspergillosis. Absence of detectable antibody response. *Am Rev Respir Dis* 1971; 104: 710-6
  39. Schonheyder H. Pathogenic and serological aspects of pulmonary aspergillosis. *Scand J Infect Dis [Suppl.]* 1987; 51: 1-62
  40. Tümbay E, Metin DY. Dimorfik endemik mikozlar. In: 3. *Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi* (27-30 Mayıs 2003, Bodrum) *Kongre Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2003: 145-51
  41. Kauffman CA. Histoplasmosis. A clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 115-20
  42. Ergin Ç, Şengül M, Kaleli İ, et al. Turizme yeni açılan Denizli-Kaklık Mağarası'nda Histoplasma capsulatum varlığının araştırılması. *İnfeks Derg* 2004; 18: 333-8
  43. O'Shaughnessy EM, Shea YM, Witebsky FG. Laboratory diagnosis of invasive mycoses. *Infect Dis Clin Am* 2003; 17: 135-58