

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV ASPERGİLLOZİS TANISINDA YARDIMCI TESTLERİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ayşe ŞENDUR**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak hazırlanmıştır.**

**ANKARA  
2015**



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV ASPERGİLLOZİS TANISINDA YARDIMCI TESTLERİN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ayşe ŞENDUR**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANLARI**  
**Doç. Dr. Sibel AŞÇIOĞLU HAYRAN**  
**Doç. Dr. Mine DURUSU TANRIÖVER**

**ANKARA**  
**2015**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında gösterdikleri ilgi ve çok değerli katkıları için tez danışmanlarım Doç. Dr. Sibel Aşçıoğlu Hayran ve Doç. Dr. Mine Durusu Tanrıöver'e içtenlikle teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında her konuda desteği ile hep yanımda olan çok sevgili eşim Dr. Süleyman Nahit Şendur'a teşekkür ederim.

## ÖZET

**Şendur A. İnvaziv Aspergillozis Tanısında Yardımcı Testlerin Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2015.** İnvaziv aspergillozis (İA), immünsüprese hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. İA tanısında altın standart yöntem biyopsi materyalinde dokuyu invaze eden hiflerin görülmesi ve kültür pozitifliğidir. Ancak her hastaya biyopsi yapılması mümkün olmadığından, invaziv olmayan tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Literatürde bu yöntemlerin tanısal doğruluğu ile ilgili farklı sonuçlar bulunmaktadır. Bu meta-analizde, İA açısından yüksek riskli hastalardan hematolojik malignitesi olan veya kök hücre transplantasyonu yapılanlarda tam kan, serum, bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı galaktomannan (GM) ve PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) testlerinin tanısal doğruluğunun hesaplanması amaçlanmıştır. Literatür taraması sonucu 54 yayın meta-analize dahil edildi. Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında serum GM için havuzlanmış sensitivite ve spesifitesi sırasıyla, 0.5 eşik değeri için, %80 ve %78, 1.0 eşik değeri için %74 ve %96, 1.5 eşik değeri için %70 ve %96 olarak hesaplandı. BAL GM için havuzlanmış sensitivite ve spesifitesi 0.5 eşik değeri için %78 ve %86, 1.0 eşik değeri için %76 ve %94 olarak hesaplandı. Tam kan/serum *Aspergillus* PCR için havuzlanmış sensitivite ve spesifisite, tek pozitif örnek için %72 ve %72, ardışık iki pozitif örnek için, %51 ve %92; BAL *Aspergillus* PCR için, %64 ve %90 olarak hesaplandı. Üretici firma, serum ve BAL GM için eşik değeri 0.5 olarak kabul etse de; bu meta-analiz sonucunda 1.0 eşik değerinde serum ve BAL GM testlerinin tanısal doğruluğunun daha optimal olduğu düşünülmüştür. Serum GM ve BAL GM testlerinin İA tanısında ayırt etme gücü benzerdir. *Aspergillus* PCR testinin İA tanısında, tam kan/serum örneklerinde özellikle ardışık iki pozitif örnek için ve BAL örneklerinde ayırt etme gücü yüksektir. Ancak, sensitivitesi düşük olduğundan İA tarama testi olarak kullanımı uygun olmayacaktır. *Aspergillus* spesifik PCR, standardizasyonu tamamlandıktan sonra yüksek olasılıklı İA tanı kriteri olarak kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** İnvaziv aspergillozis, galaktomannan, PCR, sensitivite, spesifisite, tanısal doğruluk

## ABSTRACT

**Sendur A. Evaluation of the ancillary tests in the diagnosis of invasive aspergillosis. Hacettepe University, Department of Internal Medicine, Speciality Thesis, Ankara, 2015.** Invasive aspergillosis (IA) is an important cause of morbidity and mortality in immunosuppressed patients. The gold standard test in diagnosis of IA is the appearance of invading hyphae in tissue biopsies and positive cultures. However, non-invasive diagnostic methods are needed since biopsy is not possible for each patient. There are various results in the literature about diagnostic accuracy of these methods. The purpose of this meta-analysis is to assess the diagnostic accuracy of whole blood, serum, bronchoalveolar lavage (BAL) fluid galactomannan (GM) and PCR (polymerase chain reaction) in hematologic cancer patients or hematopoietic stem cell transplant recipients. After literature search, 54 reports were included in the meta-analysis. Among patients with proven and probable IA; pooled sensitivity and specificity values for serum GM were %80 - %78, %74 - %96 and %70 - %96 for the cutoff values of 0.5, 1.0 and 1.5, respectively. Pooled sensitivity and specificity values for BAL GM were %78 - %86 and %76 - %94, for the cutoff values of 0.5 and 1.0, respectively. Pooled sensitivity and specificity values for whole blood/serum *Aspergillus* PCR were %72 - %72 and %51 - %92, for single positive sample and two consecutive positive samples, respectively. Pooled sensitivity and specificity values for BAL *Aspergillus* PCR were %64 and %90. Cut off value 1.0 was considered optimal for both serum and BAL GM in this meta-analysis, although values above 0.5 were recommended to be positive by the manufacturer. Discriminative ability of serum GM and BAL GM assays in the diagnosis of IA are similar to each other. For consecutive whole blood/serum and BAL samples, discriminative ability of *Aspergillus* PCR assay in the diagnosis of IA is high. However, it would not be appropriate to use PCR assay for screening of IA, because of the low sensitivity. *Aspergillus* specific PCR can be used as a diagnostic criterion for probable IA after the standardization studies have been completed.

**Keywords:** Invasive aspergillosis, galactomannan, PCR, sensitivity, specificity, diagnostic accuracy

## İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vi</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>x</b>
<b>TABLolar</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. Aspergillus Türleri ve Özellikleri</b> .....	<b>2</b>
<b>2.2. Aspergillus İnfeksiyonları</b> .....	<b>2</b>
<b>2.3. İnvaziv Aspergillozis Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri</b> .....	<b>4</b>
<b>2.4. İnvaziv Aspergillozis Patogenezi</b> .....	<b>5</b>
2.4.1. Organizmaya ait Faktörler .....	<b>5</b>
2.4.2. Konağa ait Faktörler .....	<b>6</b>
<b>2.5. İnvaziv Aspergillozis Klinik Belirti ve Bulguları</b> .....	<b>8</b>
<b>2.6. İnvaziv Aspergillozis Tanısı</b> .....	<b>9</b>
2.6.1. Mikrobiyolojik Tanı .....	<b>9</b>
2.6.2. Radyolojik Tanı .....	<b>10</b>
2.6.3. Serolojik Tanı .....	<b>11</b>
2.6.4. Moleküler Tanı .....	<b>13</b>
<b>2.7. İnvaziv Aspergillozis Tanı Kriterleri</b> .....	<b>13</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1. Literatür Taraması ve Çalışmaların Seçilmesi</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2. Seçilen Yayınlardan Verilerin Elde Edilmesi</b> .....	<b>16</b>
<b>3.3. İstatiksel Analiz</b> .....	<b>18</b>
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1. Galaktomannan</b> .....	<b>19</b>
4.1.1. Serum Galaktomannan .....	<b>21</b>

4.1.2. BAL Galaktomannan .....	25
<b>4.2. <i>Aspergillus</i> PCR .....</b>	<b>28</b>
4.2.1. Tam Kan/Serum <i>Aspergillus</i> PCR için Sensitivite ve Spesifisite Hesaplanması .....	31
4.2.2. BAL <i>Aspergillus</i> PCR için Sensitivite ve Spesifisite Hesaplanması ...	32
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>33</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>41</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>42</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ABPA	Allerjik bronkopulmoner aspergillozis
AIDS	Acquired immune deficiency syndrome
AML	Akut myeloblastik lösemi
AUC	Area under the curve
BAL	Bronkoalveolar lavaj
BG	Beta glukan
CMV	Sitomegalovirüs
EAPCRI	European <i>Aspergillus</i> PCR Initiative
ECIL	European Conference for Infection in Leukemia
ELISA	Enzyme linked immuno sorbant assay
EORTC	European Organisation of Research and Treatment of Cancer
FDA	Food and Drug Administration
GM	Galaktomannan
GVHH	Graft versus host hastalığı
HLA	Human leukocyte antigens
HRCT	High resolution computed tomography
İA	İnvaziv aspergillozis
İFİ	İnvaziv fungal infeksiyonlar
İPA	İnvaziv pulmoner aspergillozis
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
MSG	Mycoses Study Group
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NIAID	National Institute of Allergic and Infectious Diseases
ODI	Optik dansite indeksi
PCR	Polymerase Chain Reaction
PRR	Pathogen recognition receptors
qPCR	Kantitatif PCR
RT PCR	Real time PCR
SROC	Summary receiver operating characteristics
Th-1	T-helper 1

Th-2	T-helper 2
TLR	Toll-like reseptörler
T-reg	T regülatuar

## ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1	İnvaziv Aspergillozis Patogenezi	8
2.2	Akciğer dokusunda <i>Aspergillus</i> hifleri	9
2.3	Halo işareti (Şekil a), hava-hilal işareti (Şekil b)	11
4.1	Literatür taraması ve çalışmaların seçimi	20
4.2	Serum GM çalışmalarının kalite değerlendirmesi	23
4.3	BAL GM çalışmalarının kalite değerlendirmesi	27
4.4	<i>Aspergillus</i> PCR çalışmalarının kalite değerlendirmesi	30

**TABLolar**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
2.1	EORTC/MSG 2008 raporuna göre konak faktörleri, klinik kriterler ve mikolojik kriterler	15
4.1	Serum GM çalışmalarının özellikleri	21
4.2	Serum GM için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları	25
4.3	BAL GM çalışmalarının özellikleri	26
4.4	BAL GM için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları	28
4.5	Tam kan/serum <i>Aspergillus</i> PCR için dahil edilen çalışmaların özellikleri	28
4.6	BAL <i>Aspergillus</i> PCR için dahil edilen çalışmaların özellikleri	29
4.7	Tam kan/serum <i>Aspergillus</i> PCR için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları	31
4.8	BAL <i>Aspergillus</i> PCR için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları	32
5.1	Serum GM için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması	34
5.2	BAL GM için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması	36
5.3	Tam kan/serum <i>Aspergillus</i> PCR için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması	38
5.4	BAL <i>Aspergillus</i> PCR için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması	39

## 1. GİRİŞ

İnvaziv fungal infeksiyonlar (İFİ), özellikle *Aspergillus* infeksiyonları, immünsüprese hastalarda son yıllarda giderek artan morbidite ve mortalite nedenidir. Bu nedenle erken tanı ve tedavi önemlidir. Biyopsi materyalinde dokuyu invaze eden hiflerin görülmesi ve kültür pozitifliği invaziv aspergillozis (İA) tanısında en kesin yöntem olmakla birlikte yeterince duyarlı değildir. Ayrıca çoğu hastada nütropeni, trombositopeni, kanama riski ve diğer olası komplikasyonlar nedeni ile biyopsi yapılması uygun olmayabilir. Bu nedenle erken tanı koymaya yardımcı invaziv olmayan yöntemler üzerinde çalışılmaktadır. Erken dönemde, yüksek çözünürlü bilgisayarlı tomografi (high resolution computed tomography-HRCT), bir *Aspergillus* duvar bileşeni olan galaktomannan (GM) antijeninin saptanması ve PCR (Polymerase Chain Reaction – Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile *Aspergillus* DNA'sının gösterilmesi tanı için yol gösterici olabilmektedir. Literatüre bakıldığında bu yöntemlerin sensitivite ve spesifisitesi ile ilgili çok farklı sonuçlar bulunmaktadır. Bu çalışmada, tam kan, serum ve bronkoalevolar lavaj (BAL) sıvısında GM antijenini saptamaya yönelik testler ve *Aspergillus* PCR ile IA açısından riskli hasta gruplarında yapılmış çalışmaların literatür derlemesini gerçekleştirip, meta-analiz ile bu testlerin havuzlanmış (pooled) sensitivite ve spesifisitesinin hesaplanması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Aspergillus* Türleri ve Özellikleri

*Aspergillus*; septalı, hifleri 45°lik açılarla dallanan bir küf mantarıdır. Doğada çok yaygın olarak bulunan *Aspergillus* türleri genellikle aseksüel olarak sporlarla çoğalır [1]. Patojenik *Aspergillus* türleri kültürde 24-72 saat içinde çok hızlı büyür. Patojenik türlerin diğer türlerden ayırt edici bir özelliği de 37°C’de üreyebilmeleridir. Çoğu tür kültürde 48 saat içinde küçük, beyaz, tüylü kabarık koloniler yapar. Kültürdeki gross görüntüsü ve mikroskopik olarak tipik sporulasyonun görülmesi ile *Aspergillus* ‘tür kompleksi’ olarak tiplendirilse de, kesin olarak hangi alt tür olduğu moleküler yöntemlerle söylenebilir. Moleküler tiplendirme yönteminin gelişmesi ile birlikte 8 alt cins içinde 250’den fazla *Aspergillus* türü sınıflandırılmıştır. İnvaziv aspergillozise neden olan *Aspergillus* türleri ve sıklıkları aşağıda verilmiştir [2].

- *Aspergillus fumigatus* (%50-67)
- *Aspergillus flavus* (%8-14)
- *Aspergillus niger* (%5-9)
- *Aspergillus terreus* (%3-5)

### 2.2. *Aspergillus* İnfeksiyonları

*Aspergillus* ilk kez 1729 yılında Micheli tarafından tanımlanmıştır. İnsanda ilk Aspergillozis vakası ise 1842 yılında Bennett tarafından gösterilmiştir [3]. 1953 yılında ise ilk kez nötropenik hastada fırsatçı infeksiyon olarak tanımlanmıştır [4]. Aradan geçen sürede *Aspergillus* infeksiyonlarının sıklığı giderek artmaktadır. 1978-1992 yılları arasında yapılan 8124 otopsinin sonuçlarının incelendiği bir retrospektif çalışmada, yıllar içinde *Candida* infeksiyonlarının prevalansı değişmezken, *Aspergillus* infeksiyonlarının prevalansının anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir [5]. 1989-2003 yılları arasında hematolojik kanseri olan hastalarda yapılan 1017 otopsi sonucunda, İFİ prevalansının %19’dan %25’e yükseldiği görülmüştür [6]. Bu artışın nedenleri olarak; yeni kemoterapi protokollerinin gelişmesi ile hematolojik kanseri olan hastaların yaşam süresinin uzaması, solid organ ve kök hücre transplantasyonu yapılan hastaların sayısındaki artış ile birlikte immünsüpresif hasta popülasyonunda artış, *Candida* infeksiyonlarının profilaksisi için flukonazol kullanımının artması ile

küf infeksiyonlarının ön plana geçmesi, akkiz immün yetmezlik sendromu (acquired immune deficiency syndrome-AIDS) hastalarının artışı, otoimmün hastalıkların tedavisinde daha agresif immünsüpresif tedavi kullanımı ve yeni geliştirilen tanı yöntemleri sayesinde daha çok İA tanısı konulması sayılabilir [3, 7-10].

*Aspergillus* türleri alerjik reaksiyondan dissemine invaziv aspergillozise kadar geniş spektrumda hastalığa yol açabilir. *Aspergillus* türlerinin neden olduğu klinik tablolar aşağıda özetlenmiştir [2, 3].

#### I. Alerjik aspergillozis

- Alerjik bronkopulmoner aspergillozis (ABPA)
- Alerjik fungal sinüzit

#### II. Saprofitik kolonizasyon ve yüzeysel aspergillozis

- Pulmoner aspergillom
- Sinüs aspergillomu
- Kronik pulmoner aspergillozis
- Onikomikoz
- Otomikoz
- Keratit (özellikle travma ve cerrahi sonrası)

#### III. İnvaziv aspergillozis

##### a) Normal konakta

- Keratit ve/veya endoftalmit
- Kütanöz aspergillozis (örn; yanık ilişkili)
- Cerrahi alan infeksiyonları (örn; subdural ampiyem, prostetik kapak endokarditi)
- Yabancı cisimle ilişkili infeksiyon (örn; kateter)

##### b) İmmün baskılanmış konakta

- Primer kütanöz aspergillozis (özellikle lösemili çocuklarda)
- Akut invaziv pulmoner aspergillozis
- Kronik nekrotizan pulmoner aspergillozis
- Havayolu aspergillozisi
  - Obstrüktif bronşiyal aspergillozis
  - İnvaziv aspergillus trakeobronşiti
  - Ülseratif aspergillus trakeobronşiti

- Pseudomembranöz aspergillus trakeobronşiti
- Rinosinüzit
- Dissemine aspergillozis, özellikle serebral aspergillozis

### 2.3. İnvaziv Aspergillozis Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri

İnvaziv aspergillozis, *Aspergillus spp.*'ye ait hiflerin dokuyu invaze ederek yol açtığı klinik enfeksiyona verilen isimdir. Hematolojik kanseri olan, özellikle allojenik kök hücre transplantasyonu yapılan hastalar İA için yüksek riskli gruplardır. Allojenik kök hücre transplantasyonu yapılan grupta ise akut myeloblastik lösemi (AML) hastaları daha yüksek risk taşımaktadır [11]. Ayrıca öncesinde İA öyküsü olan hastaların sonraki kemoterapi dönemlerinde İA riski diğer hastalara göre artmış bulunmuştur [12].

Hematolojik kanseri olan 1213 hastanın dahil edildiği bir otopsi çalışmasının sonucunda; 1989 – 1993 yılları arasında nötropeni, hastaların %90'ında görülme oranı ile İA için en belirgin risk faktörü iken, 2004 – 2008 yılları arasında bu oran %36 bulunmuştur. Bunun yanında, aynı dönemlerde yüksek doz kortikosteroid kullanımı İA risk faktörü olarak %19'dan %84'e yükselmiştir [13].

Kök hücre transplantasyonu yapılan hastalar İA açısından yüksek riskli gruplardır. Otolog kök hücre transplantasyonu yapılan hastalarda İA insidansı % 0.08 – 2.6 iken, allojenik kök hücre transplantasyonu yapılan grupta % 3.6 – 10.3 arasında değişmektedir [14]. Otolog kök hücre transplantasyonu yapılan hastalarda İA sıklığının azalması; hematopoetik büyüme faktörlerinin kullanımı ve daha yüksek konsantrasyonda kök hücre nakledilmesi sonucunda daha erken engraftman olması ile açıklanabilir [15]. Transplantasyon sonrası erken (ilk 40 gün) ve geç (40 günden sonrası) dönemde İA risk faktörleri değişmektedir. Erken dönem İA risk faktörleri, akraba dışı ve insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigens-HLA) uyumlu olmayan donör, sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonları, gecikmiş nötrofil engraftmanı iken; geç dönem İA risk faktörleri, akraba dışı ve HLA uyumlu olmayan donör, T hücreden arındırılmış veya CD34 hücre seçilmiş graft, CMV enfeksiyonları, Graft versus host hastalığı (GVHD), 0.5 mg/kg/gün'den fazla kortikosteroid kullanımı olarak sayılabilir [14, 16-18].



Klasik risk faktörü olarak nütropeni gösterilmiş olsa da, yakın zamanda nütropenik olmayan hastalarda da İA tanımlanmaya başlanmıştır [19]. Son yıllardaki İA vakalarının % 30 - 50'si nütropenik olmayan hastalardır [20]. 1998 – 2003 yılları arasında yapılan 88 İA vakasının dahil edildiği bir çalışmada, hastaların %41'i nütropenik değildir [21]. Yüksek doz ve uzun dönem kortikosteroid kullanımı nedeni ile solid organ transplantasyonu yapılan hastalar İA açısından riskli gruptadır [22].

İnvaziv pulmoner aspergillozis (İPA) vakalarının %1'inde altta yatan hastalık kronik obstrüktif akciğer hastalığıdır (KOA). Literatürde 2007 yılına kadar bildirilen KOA'lı İPA tanısı alan 56 hastanın 43'ü (%77) hastane kabulü sırasında steroid almaktadır [23]. Bu nedenle KOA'ta İPA risk faktörü olarak steroid kullanımı ön planda olsa da, steroid almayan hastalarda da İPA ortaya çıkabilmektedir.

Yoğun bakım hastalarında İA insidansı %5.8 olarak bildirilmiştir [24]. Bu hastaların çoğunun hematolojik kanseri olmayıp, altta yatan risk faktörleri olarak KOA, solid organ transplantasyonu ve siroz gösterilmiştir [25].

İnvaziv aspergillozis gelişmesinde, konak faktörleri ile birlikte çevresel faktörler de rol oynamaktadır. *Aspergillus* türleri kondiyoforlardan havaya saldıkları sporlar ile kolayca çevrede yayılırlar. Sporların küçük ve pürüzlü yüzeyleri havada uzun süre kalmalarını sağlar ve havayla temas eden herşey *Aspergillus* ile kontamine olabilir. Hastane ortamında İA gelişimi için en önemli çevresel risk faktörü havadaki spor yoğunluğudur. Kontamine havalandırma sistemleri ve hastane inşaatı nedeni ile havadaki spor yoğunluğu artar. Spor yoğunluğu mevsimsel olarak da değişebilmektedir [26].

## 2.4. İnvaziv Aspergillozis Patogenezi

*Aspergillus* türleri, bir hayvan konaktan bağımsız olarak, toprakta ve çürüyen bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu nedenle *Aspergillus* sporları sıklıkla inhale edilse de İA toplumda sık rastlanılan bir hastalık değildir [27]. İnvaziv aspergillozis gelişmesinde organizmaya ve konağa ait çeşitli risk faktörleri rol oynamaktadır.

### 2.4.1. Organizmaya ait Faktörler

*Aspergillus* sporları, 37°C ve uygun nem koşullarında yaklaşık 5 – 12 saat içinde germinasyon ile hifleri oluşturur. En hızlı büyüyen tür *A. fumigatus*'tur [3].

Hidrokortizon farmakolojik dozlarda, *A. fumigatus* ve *A. flavus* büyüme hızını %30-40 arttırır [28]. Ek olarak kortikosteroidler, makrofaj ve nötrofillerin konidya ve hifleri fagositoz aktivitesini bozar [29]. *A. fumigatus* konidyalı 2.0 – 3.5 µm çapındadır ve yeterince küçük olduklarından alevollere rahatça ulaşabilirler. *A. flavus* ve *A. niger* gibi diğer türler büyük olmaları nedeni ile paranazal sinüsler ve üst hava yollarında kalır [30]. *A. fumigatus* ek olarak diğer türlerde olmayan virülans faktörlerine sahiptir. *A. fumigatus* diğer patojenik türlere göre laminin ve fibrinojene daha sıkı bağlanarak, hava yoluna invazyon öncesi kuvvetli adezyon gösterir. Ayrıca melanin sentezi ile fagositozdan korunurken, gliotaksin ile konak hücre apoptozuna yol açar [29]. Salgıladıkları çeşitli fosfolipaz, süperoksit dismutaz ve katalazlar patojeniteye katkıda bulunur.

Demir, biyokimyasal yollarda enzimatik reaksiyonların kofaktörü ve elektron transport zincirinde katalizör olması nedeni ile *Aspergillus* türleri için önemli bir mikrobeseindir. *Aspergillus*, siderofor üreterek ya da indirgeyici demir absorpsiyonu ile demiri konaktan alır. Bu nedenle demir miktarı az olan konakta *Aspergillus* büyümesi yavaş olmaktadır [29, 31].

#### **2.4.2. Konağa ait Faktörler**

##### **Doğal İmmünite:**

Respiratuar epitelyal hücreler, inhale edilen *Aspergillus* sporlarının invazyonuna karşı anatomik bir bariyer oluştururlar. Epitel içinde yaşamlarını sürdürmeleri, fagositlerden kurtulmalarına bağlıdır. Fagositik konak savunmasının ilk basamağını alveolar makrofajlar oluşturur. Ardından periferik kan monositleri ve nötrofiller de infeksiyon bölgesine gelirler. Makrofajlar konidyalı fagosite ederken, doku invazyonu yapan form olan hifleri nötrofiller fagosite edebilmektedir [31].

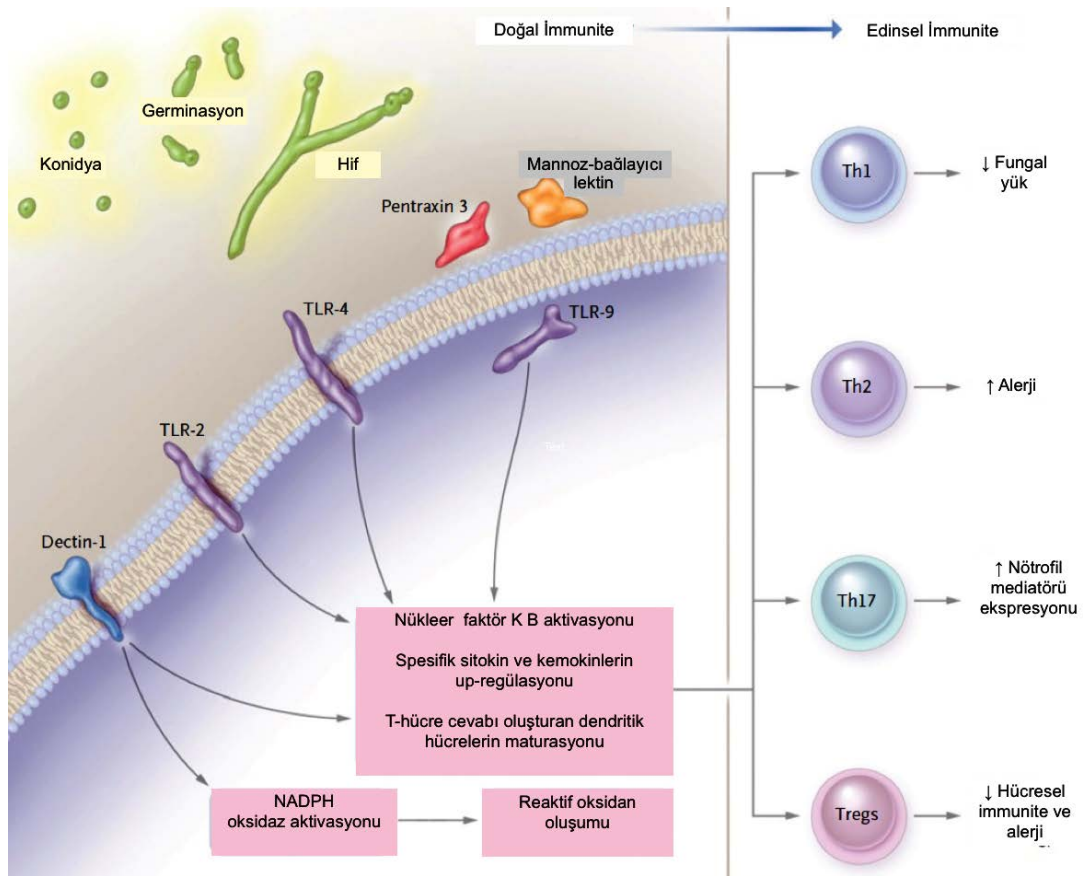
Fagositlerdeki nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, İA'ya karşı esas savunma mekanizmalarından biridir. NADPH oksidazdaki nadir bir mutasyondan kaynaklanan 'kronik granülomatöz hastalık'ta İA riski önemli ölçüde artmıştır [32]. NADPH oksidazın aktive olması sonucu oksijen, antimikrobiyal aktivitesi bulunan süperoksit anyonuna ve reaktif oksidan metabolitlere dönüşür. Nötrofillerdeki NADPH oksidaz, fungal hücre duvarı kalıntıları ile aktive olur ve hiflerin tahribatı için gereklidir [27].

Konaktaki patojen tanıma reseptörleri (pathogen recognition receptors-PRR), çeşitli hücre duvarı komponentlerini (gram negatif bakterilerde endotoksin ya da mantarlarda beta glukanlar) ve mikrobiyal DNA/RNA'yı tanıyarak doğal immünite cevabını tetikler. Toll – like reseptörler (TLR), dektin-1, sürfaktan protein A ve D, mannoz bağlayıcı lektin ve pentraksin-3, PRR sınıflarıdır. Bu reseptörlerin çeşitli yollardan aktive olması ile *Aspergillus* savunmasında önemli proinflamatuvar sitokinler üretilmeye başlanır [27, 30].

### **Edinsel İmmünite:**

PRR aktivasyonu ile T hücre immünesini başlatan antijen sunucu hücrelerin maturasyonu indüklenir. Interferon- $\gamma$ , hücresele immüneyi uyan T-helper 1 (Th1) hücrelerin ana sitokinidir. Th1 hücreler, *Aspergillus*'a karşı efektif immünite oluşmasında önemlidir [27, 30]. İnvaziv aspergillozis hastalarında Th1 sitokin cevabının, T-helper 2 (Th2) sitokin cevabına üstün olması daha iyi sonuçlarla ilişkili bulunmuştur [33]. Th2 hücreler alerji ile ilişkili IL-4, IL-5, IL-13 üretirler. Bronşiyal epitel hücrelerinin *A. fumigatus*'a karşı Th2 baskın yanıt ile sensitize olması sonucu ABPA gelişir. Th2 yanıtının baskılanması deneysel olarak ABPA gelişimini engellemektedir [34]. IL-17 üreten CD4 T hücreler, T helper hücrelerin otoimmün hastalıklarla ilişkili ayrı bir grubudur. IL-17'nin *Aspergillus*'a karşı konak savunmasını bozduğu gösterilmiştir [35]. T regülatuar (T-reg) hücreler ise *Aspergillus*'a karşı toleransı indükleyerek alerjiyi azaltırlar [36]. (Şekil 2.1)

Nötrofillerin *Aspergillus*'a karşı savunmada yetersiz olduğu durumlarda, özellikle nötropenik hastalarda hifler çoğalarak invazyon gerçekleşir. Anjiyoinvazyon İPA patogeneğinde ana unsurdur. Hifler alveoler kapiller bariyeri geçerek, pulmoner arteriollerin lümenine ulaşırlar [29]. Hiflerin neden olduğu endotelyal hasar ve proinflamatuvar sitokin salınımı ile endotel hücre yüzeyinde doku faktörü açığa çıkar. Sonuç olarak koagülasyon kaskadı aktive olur ve intravasküler tromboz oluşur [30]. Bu nedenle *Aspergillus* ile infekte akciğer parankiminin perfüzyonu bozulur ve koagülasyon nekrozu gerçekleşir. Özellikle nötrofil fonksiyonları bozulmuş ya da nötropenik olan hastalarda, santralde yoğun *Aspergillus* hifleri içeren nekrotik alan ve çevresinde alveoler hemoraji görülen tipik İPA lezyonu oluşur [30].



Şekil 2.1. İnvaziv Aspergillozis Patogenezi [27].

## 2.5. İnvaziv Aspergillozis Klinik Belirti ve Bulguları

Primer invaziv hastalığın en sık görülen formu İPA'dır. Tüm İA olgularının %80-90'ını oluşturur. İkinci sıklıkla sinüsler tutulur [37]. Hastaların %25-33'ünde başlangıçta İPA ilişkili semptom olmayabilir. Hasta ne kadar immünsüpresifse o kadar asemptomatiktir. Ancak, bu hastalarda hızlı progresyon görülür [3]. Hastalık ilerledikçe semptomlar ortaya çıkar. Bunlar nonspesifiktir ve genellikle bronkopnömoniyi taklit eder. Antibiyotik tedavisine yanıtız ateş, öksürük, balgam ve dispne görülebilir. Vasküler invazyon sonucu oluşan trombozun neden olduğu küçük infarktlar nedeni ile plevritik göğüs ağrısı ve hemoptizi olabilir. İPA nötropenik hastalarda hemoptizinin en önemli sebeplerindendir ve nötropeniden çıkarken kavitasyon oluşması ile ilişkili olabilir [38].

Santral sinir sistemi, invaziv hastalığın en sık olarak görüldüğü ikincil bölgedir [37]. Santral sinir sistemi tutulumuna bağlı nöbet, serebral infarkt, intrakraniyal

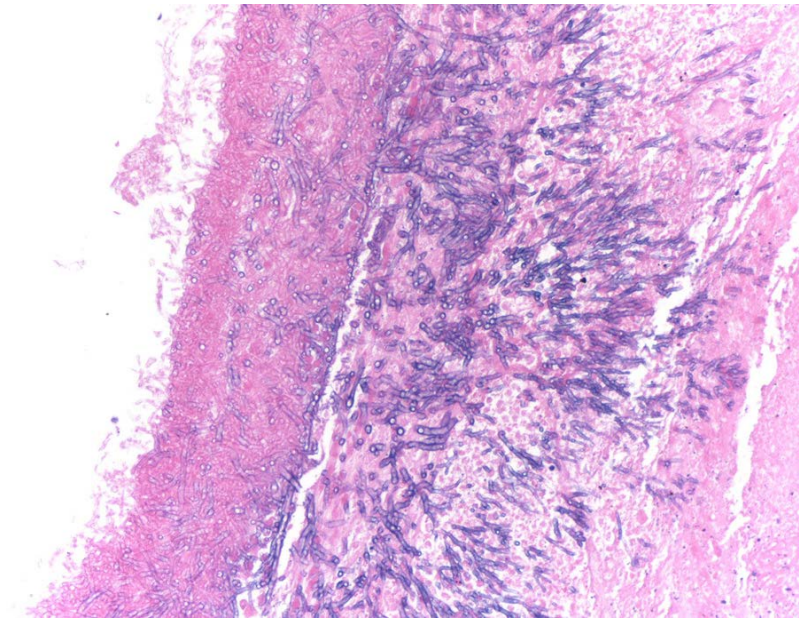
kanama, menenjit ve epidural abse görülebilir. Hematojen yayılım sonucu deri, böbrekler, plevra, kalp, özefagus ve karaciğer tutulumu nadiren görülür [38].

## 2.6. İnvaziv Aspergillozis Tanısı

### 2.6.1. Mikrobiyolojik Tanı

İnvaziv aspergillozisin kesin tanısı, dokuyu invaze eden *Aspergillus* hiflerinin gösterilmesi ve kültürde *Aspergillus* üremesi ile konur. Doku tanısı için çoğu zaman perkütan iğne aspirasyonu, bronkoskopik veya torakoskopik biyopsi gereklidir, fakat hastaların büyük bir kısmının nötropenik ve trombositopenik olması nedeni ile bu gibi işlemlerin yapılması mümkün olmayabilir [39].

Bronkoalveolar lavaj, endotrakeal aspirat gibi sıvı örneklerde doğrudan mikroskopik incelemede, dallanan septalı hiflerin görülmesi İA tanısını desteklese de sensitivitesi yüksek değildir. Benzer görüntü *Scedosporium*, *Fusarium* ve *Scopulariopsis* türlerinde de olabilir. Steril olan bölgeden alınan örnekte dallanan septalı hiflerin gösterilmesi ve kültürde *Aspergillus* üremesi olması kesin tanı koydurur [40]. Kan kültürlerinde çok nadiren üreme olur [41].



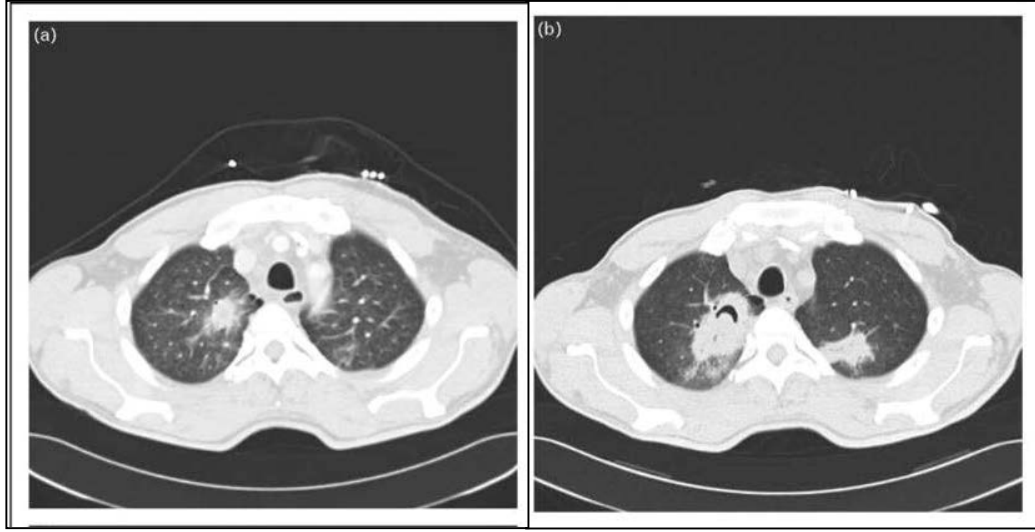
Şekil 2.2. Akciğer dokusunda *Aspergillus* hifleri [42].

### 2.6.2. Radyolojik Tanı

İnvaziv aspergillozis erken dönemlerinde nonspesifik bulgular nedeni ile akciğer grafisi yeterli bilgi vermez. Akciğer grafisinde yuvarlak dansiteler, pulmoner infarkt ile ilişkili plevra tabanlı infiltrasyonlar ve kavitasyon görülebilir. Plevral efüzyon nadirdir [41].

Erken dönem İPA tanısında HRCT, akciğer grafisine göre daha yararlıdır. İnvaziv aspergillozisin en erken radyolojik bulgusu nodüldür [40]. Greene ve arkadaşları tarafından 235 İA hastasında yapılan bir retrospektif çalışmada başlangıçta hastaların %94'ünde bir veya daha fazla makronodül, %61'inde halo işareti, %30'unda konsolidasyon, %27'sinde infarkt şeklinde nodül, %20'sinde kaviter lezyonlar ve %10'unda hava-hilal (air-crescent) işareti görülmüştür [43]. Halo işareti çoğunlukla nötropenik hastalarda İA'nın erken döneminde görülen, nodül ve etrafındaki buzlu cam dansitesinde alandan oluşan bir bulgudur [38] (Şekil 2.3). Histopatolojik olarak ise *Aspergillus* hiflerinin neden olduğu pulmoner infarkt ve çevresindeki alveolar hemorajik alandır. Halo işareti en sık olarak İPA hastalarında görülse de, patognomonik değildir. Diğer fungal infeksiyonlar, bakteriyel ve viral infeksiyonlar, neoplastik hastalıklar, sarkoidoz, amiloidoz, Wegener granülomatözü gibi sistemik hastalıklarda da görülebilir [44]. Halo işareti, infeksiyon bulgularının başlamasında sonraki 5 gün içerisinde HRCT çekilirse görülebilmektedir ve yaklaşık %75'i bir hafta içinde kaybolur. Caillot ve arkadaşları tarafından 25 nötropenik İPA hastasında, seri HRCT çekilerek yapılan bir çalışmada; 0, 3, 7 ve 14. günlerde halo işareti görülme sıklığı sırasıyla %96, %68, %22 ve %19 olarak bulunmuştur [45]. Bu nedenle tanıda erken dönemde HRCT çekilmesi önemlidir.

İnvaziv pulmoner aspergillozisin geç dönem bulgusu olarak hava-hilal işareti görülebilir. İA'nın üçüncü haftasına kadar oluşmadığından erken tanıda yardımcı değildir. Hasta nötropeniden çıkarken, halo işaretini oluşturan nodülün nekroza gitmesi sonucu etrafında hilal şeklinde hipodens bir alan oluşması ile meydana gelir [41] (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Halo işareti (Şekil a), hava-hilal işareti (Şekil b).

### 2.6.3. Serolojik Tanı

#### (1→3)-β-D-Glukan (BG)

Beta Glukan (BG), *Mucor* ve *Cryptococcus* hariç birçok fungal patojenin majör hücre duvarı komponentidir. İnvaziv fungal infeksiyonlar sırasında kana salınır. Kanda tespit edilmesi çoğu İFİ için panfungal belirteçtir. İnvaziv aspergillozis tanısı için spesifik değildir, çoğunlukla invaziv kandidemi tanısında kullanılmaktadır [46].

#### Galaktomannan

Galaktomannan, *Aspergillus* türlerinin polisakkarit hücre duvarı bileşenidir. Fungal çoğalma ve doku invazyonu sırasında dolaşıma salınır. Galaktomannan, *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinde yaygın olarak bulunur fakat teorik olarak *Aspergillus* infeksiyonlarına spesifik olduğu kabul edilir [14].

Galaktomannan antijenini tespit etmek için lateks aglütinasyon, radyoimmünoassay, enzim immünoassay gibi yöntemler kullanılmıştır. Lateks aglütinasyonunun GM antijenini tespit etme alt sınırı diğerlerine göre çok yüksek olduğundan İA tanısında kullanımı sınırlıdır [47].

Monoklonal anti-galaktomannan antikoru EB-A2, *Aspergillus* GM'sinin (1→5)-β-D-galaktofuranosid yan zincirini tanıır. Monoklonal EB-A2 antikorununun hem yakalayıcı hem de peroksidaz ile işaretleyici olarak iki taraflı kullanıldığı sandviç ELISA (enzyme linked immuno sorbant assay) yöntemi (Platelia® *Aspergillus*; Bio-Rad Laboratories) ile 0.5 ng/ml gibi düşük konsantrasyonlarda dahi GM antijeni tespit edilebilmektedir [47]. Platelia® 1990'ların ortalarından itibaren Avrupa'da kullanılsa da, Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) tarafından tanısal kullanımı 2003 yılında onaylanmıştır. Bu yöntemle ölçülen GM antijeni sonuçları optik dansite indeksi (ODI) olarak hesaplanır; 0.5 ODI ve üzerindeki değerler pozitif olarak kabul edilir [48].

Galaktomannan antijeni akut lösemi hastalarında İA klinik bulguları ortaya çıkmadan 48 saat önce (%65.2'sinde 5-8 gün önce), %71.5'inde radyolojik bulgulardan önce serumda tespit edilebilir. Güncel ECIL-3 (European Conference for Infection in Leukemia) kılavuzu, İPA açısından yüksek riskli hasta grubunda haftada iki kez GM antijeni taramasını önermektedir. Yüksek riskli hasta grubunda GM taraması empirik antifungal başlanmasını önemli ölçüde azaltmaktadır [49].

Literatürde GM için farklı sensitivite ve spesifisite bildiren çalışmalar mevcuttur. Pfeiffer ve arkadaşları tarafından yapılan, 27 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analiz sonucunda kanıtlanmış İA vakaları için serum GM antijeni sensitivitesi %71, spesifisitesi %89 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada hematolojik kanseri olanlarda ve allojenik kök hücre transplantasyonu yapılanlarda, solid organ transplantasyonu yapılanlara veya nütropenik olmayanlara göre daha iyi sonuçlar bildirilmiştir [50].

Bronkoalevolar lavajda GM tespiti için çeşitli çalışmalarda, sırasıyla, %76-88 ve %87-100 arası sensitivite ve spesifisite bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda seruma göre daha yüksek sensitivite ve spesifisite bulunurken bazılarında benzerdir [46].

Gereksiz antifungal tedavi başlanmasına neden olan yanlış pozitif sonuçlar GM antijen testinin önemli kısıtlılıklarıdır. Bazı yiyecekler ve enteral beslenme ürünleri, intravenöz β-laktam antibiyotik ya da sodyum glukonat içeren solüsyonların kullanımı, diğer fungal infeksiyonlar, allojenik kök hücre transplantasyonu sonrası geç dönem, gastrointestinal kronik GVHH, *Bifidobacterium*'a bağlı lipoglikan ve multiple myelom varlığında yalancı pozitif sonuçlar görülebilir [51]. Önceleri piperasilin-



tazobaktam kullanımı ile yalancı pozitiflik olduğu bilinse de, yeni jenerik piperasilin-tazobaktam (Tazocin®) ile yalancı pozitiflik arasında ilişki görülmemiştir [52].

#### 2.6.4. Moleküler Tanı

Polimeraz zincir reaksiyonu ile *Aspergillus* nükleik asitlerinin gösterilmesi, İA tanısında henüz araştırma aşamasında olan ve rutin tanısız tetkik olarak önerilmeyen bir yöntemdir. Uzun yıllardır çalışılan bir yöntem olmasına karşın standardizasyon eksikliği PCR için önemli bir problemdir [49]. PCR standardizasyonu için 2006 yılında bir çalışma grubu kurulmuştur. EAPCRI (European *Aspergillus* PCR Initiative) adı verilen bu grup tarafından çeşitli örneklerde *Aspergillus* PCR standardizasyonu için çalışmalar devam etmektedir [53].

Moleküler yöntemlerin bir takım kısıtlılıkları vardır. Örnek alımı sırasında kontaminasyon olabileceği için yanlış pozitif sonuçlar verebilmektedirler. Ayrıca PCR, kolonizasyon ile gerçek infeksiyon ayırımında yetersizdir. Sağlıklı bireylerde BAL örneklerinde PCR ile %25 oranında pozitif sonuç alınabilmektedir [54]. BAL'da *Aspergillus* PCR bakılan 15 çalışmanın sistematik derlemesinde, sensitivite %79, spesifisite %94 bulunmuştur [54].

Kontaminasyon daha az kabul edildiğinden, kan örneklerinde PCR çalışılması, yöntem olarak daha güvenilirdir. Mengoli ve arkadaşları tarafından yapılan ve 16 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde ardışık iki pozitif kan örneği için PCR sensitivitesi %75, spesifisitesi %87 olarak hesaplanmıştır [55].

#### 2.7. İnvaziv Aspergillozis Tanı Kriterleri

İnvaziv fungal infeksiyonların tanısında bir standart geliştirmek amacı ile Avrupa Kanseri Tedavi ve Araştırma Birliği (EORTC) ve Ulusal Alerji ve İnfeksiyon Hastalıkları Enstitülerinin (NIAID) Mantar İnfeksiyonları Çalışma grubunun (MSG) oluşturduğu İFİ Grubu, 2002 yılında uluslararası bir uzlaşma bildirisi yayınlamıştır [56]. Bu rapora göre konak faktörleri, klinik belirti ve bulgular ile mikolojik çalışma sonuçları kriter olarak alınarak tanımlamalar yapılmıştır. Fungal infeksiyonlar kanıtlanmış (proven), yüksek olasılıklı (probable) ve düşük olasılıklı (possible) İFİ olarak sınıflandırılarak bundan sonra yapılacak klinik çalışmalarda benzer gruplar

oluşturulması amaçlanmıştır. Ancak bu tanımlamaların klinikte İFİ tedavisine karar vermek için kullanılması önerilmemiştir.

EORTC/MSG İFİ grubu, 2008 yılında tanımlamaları gözden geçirerek ikinci bir uzlaşı bildirgesi yayınlamıştır [57]. Öncekinden farklı olarak bu raporda yüksek olasılıklı İFİ kategorisi genişletilmiş, düşük olasılıklı İFİ kategorisi daraltılmıştır. Konak faktörleri genişletilmiş fakat ateş, klinik bir bulgu olarak kabul edilip konak faktörlerinden çıkarılmıştır. Kanıtlanmış İFİ kategorisinin tanı kriterleri, doku biyopsisi veya iğne aspirasyonunda alınan steril materyalde fungusun histopatolojik veya sitopatolojik olarak gösterilmesi veya infeksiyon olduğu düşünölen steril bir bölgeden (BAL, idrar ve kraniyal sinüs kavitesi sıvısı hariç) alınan kültürde üreme olmasıdır. Yüksek olasılıklı İFİ tanısı için konak faktörleri, mikolojik kriterler ve klinik kriterlerden en az birer tane karşılanmış olmalıdır. Uygun konak faktörü ve klinik kriter var olup mikolojik kanıt olmadığı durumda düşük olasılıklı İFİ söz konusudur. Konak faktörleri, klinik kriterler ve mikolojik kriterler Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. EORTC/MSG 2008 raporuna göre konak faktörleri, klinik kriterler ve mikolojik kriterler

**Konak Faktörleri**

1. Yakın zamanlı nötropeni ( >10 gün <500 nötrofil/mm<sup>3</sup>)
2. Allojenik kök hücre transplantasyonu yapılmış olması
3. Uzun süreli kortikosteroid kullanımı (>3 hafta minimum 0.3 mg/kg/gün prednizolon ve eşdeğeri)
4. Son 90 gün içinde siklosporin, TNF- $\alpha$  blokörleri, alemtuzumab gibi spesifik monoklonal antikolar veya nükleozid analogu kullanımı
5. Kalıtsal ağır immün yetmezlikler (kronik granülomatöz hastalık, ağır kombine immün yetmezlik)

**Klinik Kriterler**

1. Alt solunum yolu fungal infeksiyonu

Şu üç kriterden biri olmalıdır: Halo işareti ile birlikte ya da halo işareti olmaksızın yoğun iyi sınırlı lezyon, hava-hilal işareti, kavite

2. Trakeobronşit

Bronkoskopik incelemede görülen trakeobronşiyal ülser, nodül, plak psödomembran veya eskar

3. Sinonazal infeksiyon

Sinüziti gösteren görüntülemeye ek olarak akut lokalize ağrı, siyah eskarlı nazal ülser, infeksiyonun kemik bariyerleri aşip orbitaya ulaşması durumundan en az birinin varlığı

4. Santral sinir sistemi infeksiyonu

Görüntülemelerde fokal lezyonlar yada MRG/BT’de meningeal kontrastlanma

**Mikolojik Kriterler**

1. Balgam, BAL, bronşiyal fırçalama, sinus aspiratı örneklerinde doğrudan incelemenin ya da kültürün pozitif olması
2. Aspergillozis için plazma, serum, BAL, beyin omurilik sıvısı örneklerinde GM antijeninin pozitif olması
3. Kriptokokozis ve zigomikozis dışındaki İFİ’ler için serumda  $\beta$ -D-glukan pozitif olması

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Literatür Taraması ve Çalışmaların Seçilmesi

Başlangıç için tarih sınırlandırması olmadan Ekim 2014'e kadar İngilizce olarak yayınlanmış literatür, MEDLINE veritabanında PubMed aracılığı ile tarandı. Tam kan, serum ve BAL örneklerinde galaktomannan antijeni ve *Aspergillus* PCR testlerinin sensitivite ve spesifisitelerinin hesaplandığı çalışmaların taranması amaçlandı. Aramada anahtar kelimeler olarak '(aspergillus pcr OR galactomannan) AND (sensitivity OR specificity)' kullanıldı.

Veri tabanı taraması sonucu ulaşılan çalışmaların arasından; hematolojik kanseri olan ve/veya kök hücre transplantasyonu yapılan yetişkin hastaların dahil edildiği yayınlar seçildi. Eğer bir yayının popülasyonu hematolojik kanser hastalarıyla birlikte başka konak faktörlerini de kapsıyorsa, hematolojik kanser hasta sayısı çoğunlukta olan yayınlar çalışmaya alındı. Tam kan, serum ve BAL dışında örneklerle yapılan çalışmalar dahil edilmedi. Galaktomannan için sadece Platelia yöntemi çalışanlar, PCR için ise *Aspergillus* spesifik PCR kullanılan yayınlar dahil edildi. Panfungal PCR yayınları çalışmaya alınmadı.

Çalışma tasarımı olarak, karşılaştırmalı ve kontrol grubu olan analitik çalışmalar dahil edildi; vaka raporları, vaka serileri, derleme ve sistematik derlemeler dışarıda bırakıldı. Eğer bir çalışmanın hasta popülasyonu ile ilgili başka bir yayın mevcutsa, daha büyük hasta sayısına sahip olan yayın dahil edildi. Yayındaki kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA grubundaki toplam hasta sayısı 5'ten az olan ve sensitivite, spesifisite hesaplanması için yeterli veri içermeyen yayınlar da çalışmaya alınmadı.

#### 3.2. Seçilen Yaynlardan Verilerin Elde Edilmesi

Kriterlere uygun yayınlar detaylı incelenerek, her çalışma için hasta popülasyonunun ve çalışmanın aşağıdaki özellikleri kayıt edildi:

1. Ortalama yaş
2. Cinsiyet yüzdeleri
3. Çalışmanın tasarımı (kohort, vaka-kontrol, randomize kontrollü çalışma)
4. Verilerin toplanma şekli (prospektif, retrospektif)

5. Kullanılan örnek türü (Serum, tam kan, BAL)
6. Örnekleme metodu (ardışık, rastgele)
7. Kullanılan İA tanı kriteri
8. Testin risk grubunun tamamını temsil eden hasta popülasyonuna uygulanıp uygulanmadığı
9. Referans standartın tüm hastalara uygulanıp uygulanmadığı
10. Test sonuçlarına göre değerlendirmenin kör ve bağımsız olarak yapılıp yapılmadığı
11. Test sonuçlarını etkileyebilecek yanlılığın olup olmadığı (özellikle içerme hatası)
12. Galaktomannan antijeni ve *Aspergillus* PCR çalışılan yayınlardan toplam hasta sayısı
13. İA epizodu sayısı
14. Kanıtlanmış, yüksek olasılıklı ve düşük olasılıklı hasta sayıları
15. Hastaların testin çalışıldığı dönemde antifungal tedavi veya profilaksi alma durumu
16. Testin pozitif sayılması için gereken minimum pozitif örnek sayısı
17. Hasta başına ortalama örnek sayısı
18. İA prevalansı
19. Kanıtlanmış veya kanıtlanmamış ve yüksek olasılıklı hasta grubu için sensitivite ve spesifisite
20. Galaktomannan testinin eşik değeri
21. PCR çalışmaları için kullanılan PCR yöntemi ve hedef gen

Çalışmaların kalitesi belirlenirken kullanılan kriterlerden, (testin risk grubunun tamamını temsil eden hasta popülasyonuna uygulanıp uygulanmadığı, referans standartın tüm hastalara uygulanıp uygulanmadığı, hasta sınıflandırmasının kör ve test sonuçlarından bağımsız yapılıp yapılmadığı, içerme hatası -çalışılan testin İA tanısında kullanılması- olup olmadığı) 'evet', 'hayır' ve 'belirsiz' olarak kaydedildi. İA tanısında referans standart olan dokuda biyopsi ile *Aspergillus* hiflerinin gösterilmesi, uygulanması pratikte zor olduğundan hiçbir çalışmada tüm hastalara uygulanmamıştır. Bu nedenle referans standart olarak hangi tanı kriterinin kullanıldığı ek olarak

belirtilmiştir. Tüm çalışmalarda uygun bir referans standart kullanılmıştır. (2008 EORTC/MSG, 2002 EORTC/MSG, EORTC benzeri tanı kriterleri)

### 3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmaya dahil edilen hastalar kanıtlanmış, yüksek olasılıklı, düşük olasılıklı İA olan ve İA olmayan hastalar olarak 4 gruba ayrıldı. İA tanısının kesin olarak dışlanamayışı ve İA varlığının şüpheli olması nedeni ile düşük olasılıklı İA grubu analize dahil edilmedi. Kanıtlanmış/yüksek olasılıklı İA hastaları ile İA olmayan hastalar ve kanıtlanmış İA ile İA olmayan hastalar için 2x2 tablolar oluşturularak gerçek pozitif, yalancı pozitif, yalancı negatif ve gerçek negatif hasta sayısı bulundu. Meta-analiz ile havuzlanmış sensitivite ve spesifisite hesaplandı. Çalışmalar arası heterojenite tutarsızlık testi ( $I^2$ ) ile incelendi. SROC (summary receiver operating characteristics) eğrisi çizilerek eğri altında kalan alan (area under the curve-AUC) hesaplandı. Heterojenite fazla olduğundan alt grup analizleri yapıldı. Galaktomannan için kullanılan eşik değerler farklılık gösterdiğinden 0.5, 1.0 ve 1.5 ODI için ayrı olarak analiz yapıldı. Galaktomannan pozitif sayılması için gereken örnek sayısı çalışmalarda değişkenlik gösterdiğinden tek pozitif ve ardışık en az iki pozitif GM test sonucu için farklı analiz yapıldı. Aynı çalışmanın farklı eşik değerleri ve testin pozitif kabul edilmesi için gerekli minimum örnek sayısı ile yapılan farklı hesaplamalar, ayrı veriler olarak kaydedildi. Verilerin analizi Meta-DiSc 1.4 yazılımı ile yapıldı.

## 4. BULGULAR

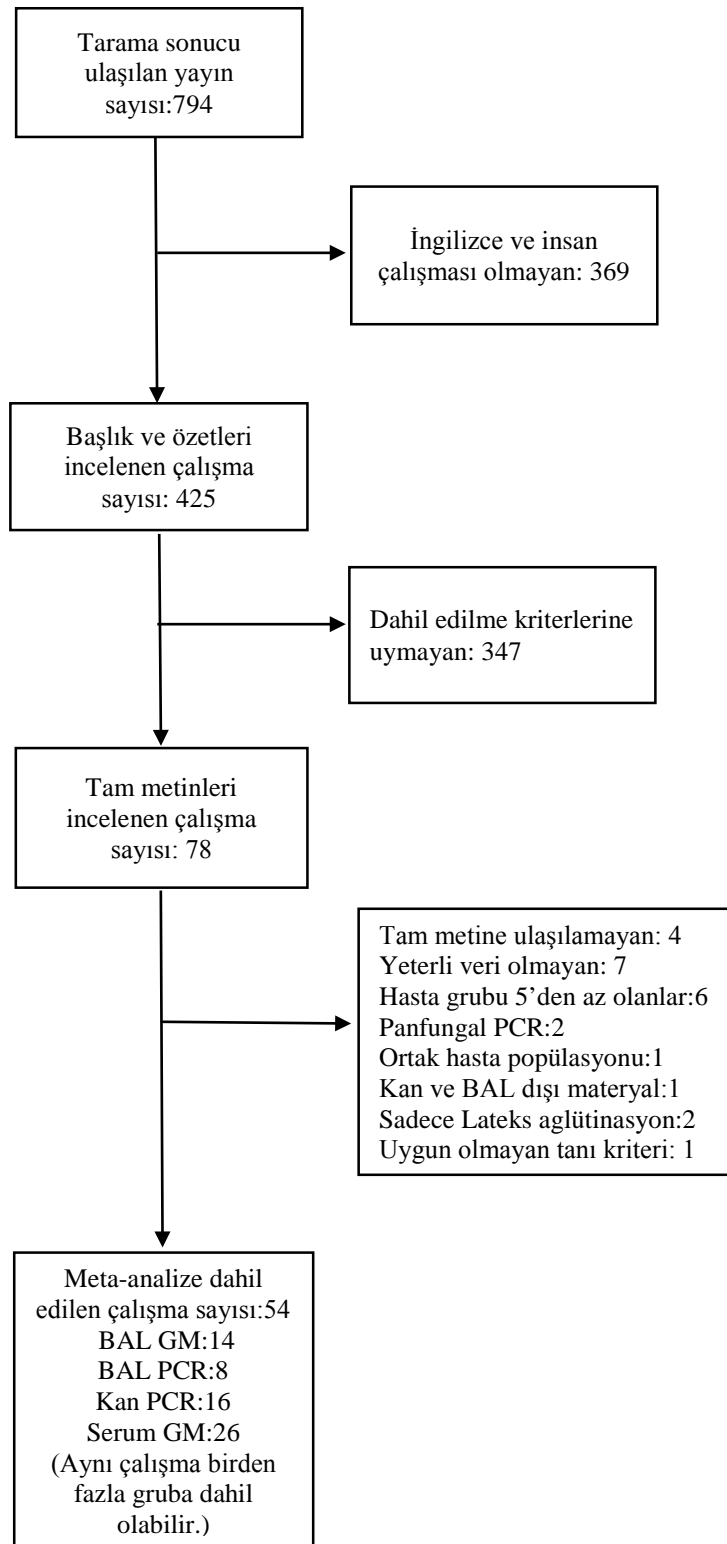
Literatür taraması sonucunda ilk aşamada 794 yayın saptandı. İngilizce olan insan çalışmaları filtre edilerek 425 yayın bulundu. Başlıklarına ve sonrasında özetlerine göre, çalışmamızın kriterlerine uygun olan 78 çalışma tam metinlerinin incelenmesi için seçildi. Tam metine ulaşılamayan 4 çalışma incelenemedi [58-61]. Sensitivite ve spesifisite hesaplamak için yeterli veri içermeyen 7 çalışma [62-68], kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hasta sayısı 5'ten az olan 6 çalışma [69-74], panfungal PCR test edilen 2 çalışma [75, 76], serum ve BAL sıvısı dışında bir materyalden GM ve PCR test edilen 1 çalışma [77], aynı hasta popülasyonu ile yapılmış iki çalışmadan daha az hasta sayısı olan [78], İA sınıflandırması ve tanısı sadece akciğer grafisine göre yapılan 1 çalışma [79] ve lateks aglütinasyon yöntemi ile GM tespit edilen 2 çalışma [80, 81] meta-analizden çıkarıldı. Sonuç olarak 54 çalışma meta-analize dahil edildi (Şekil 4.1). Bunlar 26 serum GM, 14 BAL GM, 16 tam kan PCR, 8 BAL PCR çalışması olarak ayrı ayrı analiz edildi.

Penack ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmanın serum GM spesifisitesi hesaplamak için yeterli verisi olmaması nedeni ile sadece BAL GM kısmı dahil edildi [82]. Bir çalışmada, hasta grubundan otopsi yapılanlar için testin sensitivite ve spesifisitesi ayrıca hesaplandı [83]. Bretagne ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada serum GM birimi ODI olarak verilmediği için sadece PCR verileri dahil edildi [84]. Yetişkin ve pediatrik hastaların birlikte dahil edildiği çalışmalar [83-97] meta-analizden çıkarılmadı fakat ayrı ayrı verilerin hesaplanması uygun olan bir çalışmada sadece yetişkin hasta grubu verileri kullanıldı [98].

Meta-analize dahil edilen çalışmaların 44 tanesi kohort, 10 tanesi vaka-kontrol çalışmaydı. Bu çalışmaların 31 tanesi prospektif olarak dizayn edilmişti. Toplam hasta ve kontrol sayısı 8351, toplam İA epizodu sayısı 8723 olup, 1289 (%14.8) hasta kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA tanısı almıştı.

### 4.1. Galaktomannan

Serum ve BAL GM için farklı eşik değerlerine göre analiz yapıldı. Serum GM için 0.5, 1.0 ve 1.5 ODI eşik değerleri; BAL GM için 0.5 ve 1.0 ODI eşik değerleri ile sensitivite ve spesifisite hesaplandı.



şekil 4.1. Literatür taraması ve çalışmaların seçimi



#### 4.1.1. Serum Galaktomannan

Çalışmaların genel özellikleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Yirmi altı çalışmadan 4502 hasta ve kontrol ve 4761 İA epizodu dahil edildi. Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hasta sayısı toplamı 633 (%13.3) idi.

Tablo 4.1. Serum GM çalışmalarının özellikleri

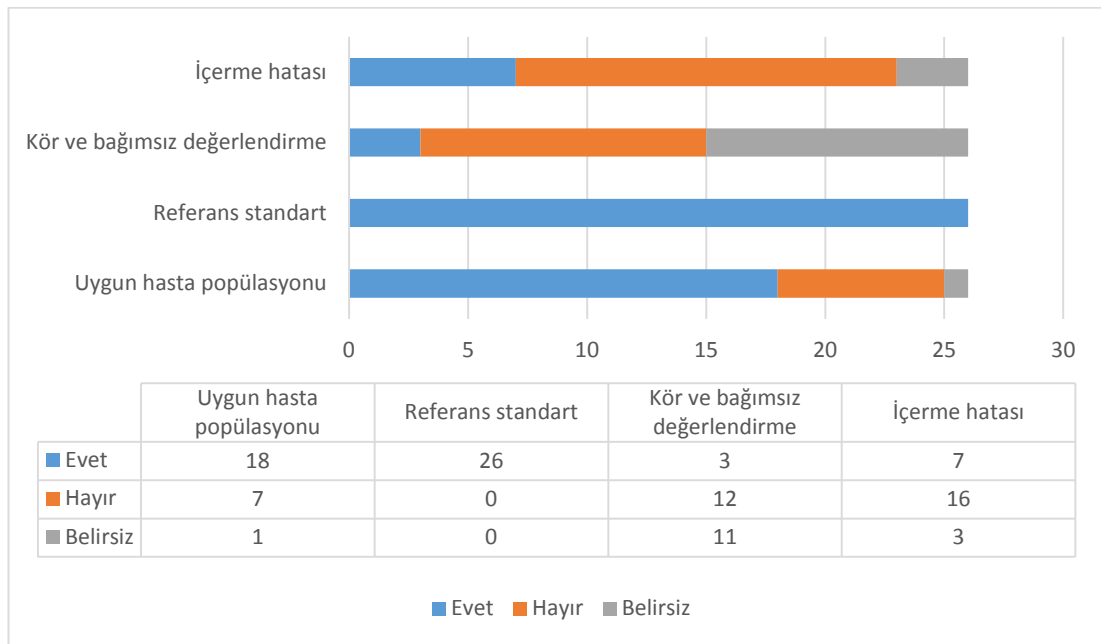
Yayın	Yıl	Ülke	Hasta Popülasyonu	Ort. yaş	Kadın (%)	Çalışma dizaynı	Veri toplama şekli	Örnekleme yöntemi
Held ve ark. [99]	2013	Almanya	AlloKIT hastaları	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
Rogers ve ark. [100]	2013	İrlanda	Erişkin HM olan hastalar	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
Khanna ve ark. [91]	2013	Hindistan	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin/çocuk hastalar	32.2	29.6	Kohort	Prospektif	Belirsiz
White ve ark. [101]	2013	İngiltere	Erişkin HM olan hastalar	53.3	29.1	Vaka-kontrol	Retrospektif	Ardışık
Hadrih ve ark. [87]	2012	Tunus	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	37.6	28.6	Kohort	Prospektif	Ardışık
Y. Ji ve ark. [90]	2011	Çin	AlloKIT (erişkin ve çocuk)	30.6	37	Kohort	Retrospektif	Ardışık
Tannöver ve ark. [102]	2010	Türkiye	Erişkin HM olan hastalar	44	32.8	Kohort	Prospektif	Ardışık
Hachem ve ark. [86]	2009	ABD	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	60	27	Vaka-kontrol	Prospektif	Belirsiz
Suarez ve ark. [103]	2008	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
Lai ve ark.[104]	2007	Tayvan	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin hastalar	54	50	Kohort	Prospektif	Belirsiz
Maertens ve ark. [105]	2007	Belçika	Erişkin HM olan hastalar	?	40.8	Vaka-kontrol	Retrospektif	Ardışık
Foy ve ark. [85]	2007	ABD	Erişkin ve çocuk KİT hastaları	29.5	43	Kohort	Retrospektif	Ardışık

Tablo 4.1 devamı

Yayın	Yıl	Ülke	Hasta Popülasyonu	Ort. yaş	Kadın (%)	Çalışma dizaynı	Veri toplanma şekli	Örnekleme yöntemi
Florent ve ark. [106]	2006	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
Weisser ve ark. [107]	2005	İsviçre	Erişkin HM olan hastalar	48	38	Kohort	Prospektif	Ardışık
Marr ve ark. [92]	2005	Kanada	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	42.3	46	Randomize çalışma ve Vaka-kontrol	Prospektif ve Retrospektif	Belirsiz
Pazos ve ark. [108]	2005	İspanya	Erişkin HM olan hastalar	44	42.5	Kohort	Retrospektif	Ardışık değil
Maertens ve ark. [109]	2004	Belçika	Erişkin HM olan hastalar	49	38.7	Kohort	Prospektif	Ardışık
Kawazu ve ark. [110]	2004	Japonya	Erişkin HM olan hastalar	45	30.2	Kohort	Prospektif	Ardışık
Rovira ve ark. [111]	2004	İspanya	Erişkin alloKİT hastaları	37	39.1	Kohort	Prospektif	Ardışık
Buchheidt ve ark. [112]	2004	Almanya	Erişkin HM olan hastalar	46	40	Kohort	Prospektif	Belirsiz
Pinel ve ark. [93]	2003	Fransa	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	?	?	Kohort	Prospektif	Belirsiz
Maertens ve ark. [113]	2002	Belçika	Erişkin alloKİT hastaları	35.6	33	Kohort	Prospektif	Ardışık
Ulusakarya ve ark. [95]	2000	Fransa	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	41	52.5	Kohort	Retrospektif	Ardışık
Kami ve ark. [114]	2001	Japonya	Erişkin HM olan hastalar	48.3	23.7	Vaka-kontrol	Prospektif ve retrospektif	Belirsiz
Sulahian ve ark. [98]	2001	Fransa	Erişkin ve çocuk AlloKİT hastaları	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
Maertens ve ark. [83]	1999	Belçika	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	44	37.6	Kohort	Prospektif	Ardışık

Ort: Ortalama; HM: Hematolojik kanser; AlloKİT: Allojenik kemik iliği transplantasyonu

Serum GM çalışmalarının kalite değerlendirmesi şekil 4.2’de verilmiştir. Buna göre 18 (%69.2) çalışmada test, risk grubunun tamamını temsil eden hasta popülasyonuna uygulanmıştır. Sadece 3 (%11.5) çalışmada kör ve bağımsız değerlendirme yapılmışken, 11 (%42.3) çalışmada bu durum belirtilmemiştir. Çalışmaların 7’sinde (%26.9) içerme hatası vardır. Altı (%23.1) çalışmada 2008 EORTC/MSG, 16 (%61.5) çalışmada 2002 EORTC/MSG ve 4 (%15.4) çalışmada 2002 EORTC benzeri kriterler referans standart olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.2. Serum GM çalışmalarının kalite değerlendirmesi

Sadece 2 çalışmada serum GM test edilirken hastaların küf etkin antifungal tedavi almakta olduğu belirtilmiştir. On beş çalışmada bazı hastaların antifungal tedavi aldığı belirtilmiş olsa da test öncesi tedavi süresi ya da hastaların ne kadarına tedavi verildiği net değildir. İki çalışmada test öncesi hastaların antifungal tedavi almadığı belirtilmişken 7 çalışmada tedaviden bahsedilmemiştir. Benzer şekilde sadece 4 çalışmada test sırasında küf etkin antifungal profilaksi verildiği belirtilmiş, 11 çalışmada bazı hastalara küf etkin, bazı hastalara küf etkin olmayan profilaksi verilmiştir. Bu nedenle antifungal tedavi yada küf etkin antifungal profilaksinin serum GM sensitivitesi ya da spesifisitesi üzerine etkisi incelenememiştir.

### **Serum GM için sensitivite ve spesifisite hesaplanması:**

Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hasta grubu ile sadece kanıtlanmış İA hasta grubu için farklı karşılaştırmalar yapıldı. 0.5, 1.0 ve 1.5 eşik değerleri için havuzlanmış sensitivite ve spesifisite hesaplandı. Tek pozitif örnek sonucunu anlamlı kabul eden yayınlarla, en az iki ardışık pozitif örnek sonucunu anlamlı kabul eden yayınlar ayrı alt grup analizleri ile değerlendirildi.

Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında serum GM 0.5 ODI eşik değerinde tüm grup için havuzlanmış sensitivite %80, spesifisite %78, AUC 0.892; tek pozitif GM için sensitivite %85, spesifisite %68, AUC 0.859; en az iki pozitif GM için sensitivite %72, spesifisite %89, AUC 0.921 olarak hesaplandı. Serum GM 1.0 ODI eşik değerinde tüm grup için havuzlanmış sensitivite %74, spesifisite %96, AUC 0.959; tek pozitif GM için sensitivite %76, spesifisite %9, AUC 0.954; en az iki pozitif GM için sensitivite %71, spesifisite %99, AUC 0.973 bulundu. Serum GM 1.5 ODI eşik değerinde tüm grup için havuzlanmış sensitivite %70, spesifisite %96, AUC 0.964; tek pozitif GM için sensitivite %71, spesifisite %95, AUC 0.957; en az iki pozitif GM için sensitivite %70, spesifisite %97, AUC 0.978 bulundu.

Kanıtlanmış İA grubu için 18 çalışmadan 2x2 tablolar ile sensitivite ve spesifisite hesaplandı. Kanıtlanmış İA grubunda serum GM 0.5 ODI eşik değerinde tüm grup için havuzlanmış sensitivite %94, spesifisite %76, AUC 0.922; tek pozitif GM için sensitivite %93, spesifisite %67, AUC 0.936; en az iki pozitif GM için sensitivite %96, spesifisite %89, AUC 0.911 bulundu. Serum GM 1.0 ODI eşik değerinde tüm grup için havuzlanmış sensitivite %86, spesifisite %96, AUC 0.979; tek pozitif GM için sensitivite %82, spesifisite %91, AUC 0.979; en az iki pozitif GM için sensitivite %89, spesifisite %99, AUC 0.990 bulundu. Serum GM 1.5 ODI eşik değerinde tüm grup için havuzlanmış sensitivite %70, spesifisite %96, AUC 0.974; tek pozitif GM için sensitivite %78, spesifisite %95, AUC 0.986; en az iki pozitif GM için sensitivite %64, spesifisite %97, AUC 0.974 bulundu (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Serum GM için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları

	Eşik değeri	Çalışma sayısı	AUC	SEN I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SEN	SPE I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SPE
Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA vs İA olmayan	0.5 genel	22	0.892	84.2	0.80	96.6	0.78
	0.5 tek pozitif	11	0.859	81.1	0.85	96.9	0.68
	0.5 iki pozitif	11	0.921	85.1	0.72	92.8	0.89
	1.0 genel	10	0.959	82.8	0.74	92.9	0.96
	1.0 tek pozitif	6	0.954	86.2	0.76	88.5	0.91
	1.0 iki pozitif	4	0.973	80.4	0.71	66.3	0.99
	1.5 genel	12	0.964	78.1	0.70	72.4	0.96
	1.5 tek pozitif	7	0.957	79.9	0.71	77.4	0.95
	1.5 iki pozitif	5	0.978	80.3	0.70	24.3	0.97
Kanıtlanmış İA vs İA olmayan	0.5 genel	11	0.922	0	0.94	97.7	0.76
	0.5 tek pozitif	6	0.936	3.4	0.93	97.8	0.67
	0.5 iki pozitif	5	0.911	0	0.96	96.5	0.89
	1.0 genel	8	0.979	80.7	0.86	93.1	0.96
	1.0 tek pozitif	4	0.979	85.2	0.82	86.2	0.91
	1.0 iki pozitif	4	0.990	79.6	0.89	70.4	0.99
	1.5 genel	9	0.974	74.0	0.70	60.6	0.96
	1.5 tek pozitif	5	0.986	73.6	0.78	65.8	0.95
	1.5 iki pozitif	4	0.974	76.1	0.64	42.7	0.97

İA: İnvaziv aspergillozis; AUC: Eğri altında kalan alan; SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

#### 4.1.2. BAL Galaktomannan

Çalışmaların genel özellikleri Tablo 4.3'te verilmiştir. On dört çalışmadan toplam 2253 hasta ve kontrol ve 2323 İA epizodu dahil edildi. Kanıtlanmış ve yüksek

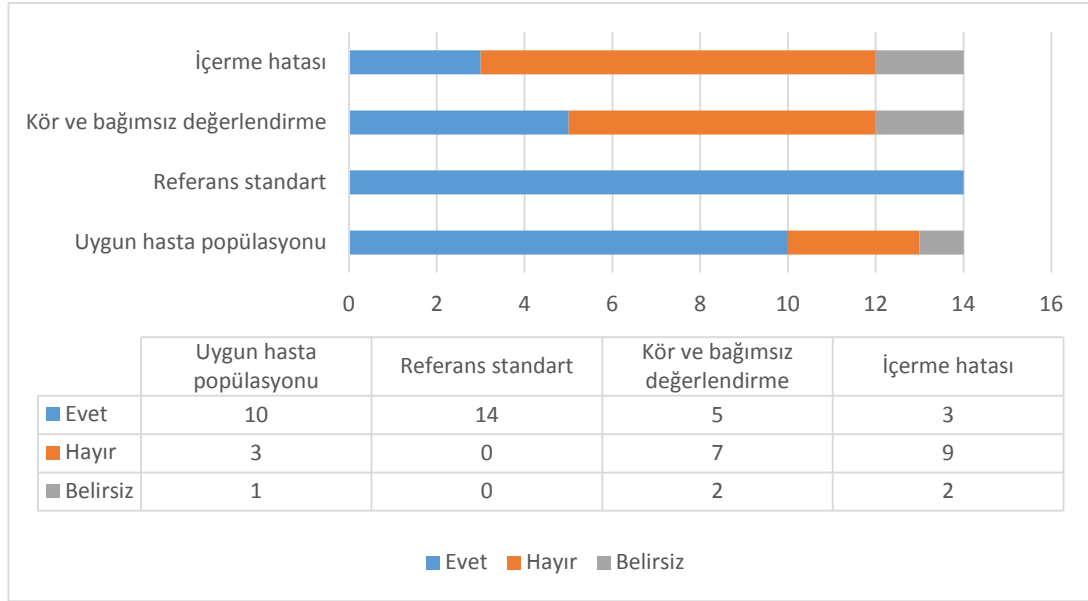
olasılıklı İA hasta sayısı 400 (%17.2) idi. Yayınların 11'i kohort, 3'ü vaka-kontrol çalışmaydı, 5 tanesi prospektif geri kalanı retrospektif olarak dizayn edilmişti.

Tablo 4.3. BAL GM çalışmalarının özellikleri

Yayın	Yıl	Ülke	Hasta Popülasyonu	Ort. yaş	Kadın (%)	Çalışma dizaynı	Veri toplama şekli	Örnekleme yöntemi
Affolter ve ark. [115]	2014	İsviçre	Erişkin HM olan hastalar	54 ± 13.6	33.4	Kohort	Prospektif	Ardışık
Brownback ve ark. [116]	2013	ABD	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin hastalar	50.4	42.8	Kohort	Retrospektif	Ardışık
D'Haese ve ark. [117]	2012	Belçika	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin hastalar	?	41.8	Kohort	Retrospektif	Ardışık
Hadrich ve ark. [87]	2011	Tunus	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	37.6	28.6	Kohort	Prospektif	Ardışık
Racil ve ark. [118]	2011	Çek Cumh.	Erişkin HM olan hastalar	54	34.3	Kohort	Retrospektif	Belirsiz
Nguyen ve ark. [119]	2011	ABD	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin hastalar	63	26.9	Kohort	Retrospektif	Ardışık
Luong ve ark. [120]	2010	Kanada	Erişkin HM olan hastalar	55	35	Kohort	Retrospektif	Ardışık
S. Y. Park ve ark. [121]	2010	Kore	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin hastalar	54	46.5	Kohort	Prospektif	Ardışık
Hsu ve ark. [89]	2010	Singapur	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	35	20	Vaka-kontrol	Prospektif	Belirsiz
Maertens ve ark. [122]	2009	Belçika	Erişkin HM olan hastalar	52.2	?	Vaka-kontrol	Retrospektif	Ardışık
Bergeron ve ark. [123]	2009	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	45 ± 17	37.6	Kohort	Retrospektif	Ardışık
Frealle ve ark. [124]	2008	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	49.15	28	Kohort	Retrospektif	Belirsiz
Penack ve ark. [82]	2008	Almanya	Erişkin HM olan hastalar	52	48	Kohort	Prospektif	Ardışık
Musher ve ark. [125]	2004	ABD	Erişkin KİT hastaları	45.2	?	Vaka-kontrol	Retrospektif	Ardışık değil

Ort: Ortalama; HM: Hematolojik kanser; AlloKİT: Allojenik kemik iliği transplantasyonu

BAL GM çalışmalarının kalite değerlendirmeleri şekil 4.3'te gösterilmiştir. Buna göre 10 (%71.4) çalışmada test, risk grubunun tamamını temsil eden hasta popülasyonuna uygulanmıştır. 5 (%35.7) çalışmada kör ve bağımsız değerlendirme yapılmıştır. Çalışmaların 3'ünde (%21.4) içerme hatası vardır. Referans standart tanı kriteri olarak 11 (%78.5) çalışmada 2008 EORTC/MSG, 3 (%21.5) çalışmada 2002 EORTC/MSG kriterleri kullanılmıştır.



Şekil 4.3. BAL GM çalışmalarının kalite değerlendirmesi

Sadece 4 çalışmada BAL yapıldığı zaman hastaların küf etkin antifungal tedavi almadığı belirtilmiş, kalan 10 çalışmada bazı hastalara küf etkin antifungal tedavi verildiği bildirilse de hangi hastalara ne zaman verildiği ayrıntılı olarak anlatılmamıştır. Aynı şekilde küf etkin antifungal profilaksi verileri çalışmaların büyük kısmı için net değildir. Bu nedenle küf etkin antifungal tedavi ya da profilaksinin BAL GM sensitivite ve spesifisitesi üzerine etkisi incelenememiştir.

#### **BAL GM için sensitivite ve spesifisite hesaplanması:**

12 çalışmada 0.5 ODI, 5 çalışmada 1.0 ODI eşik değeri kullanılarak analiz yapılmıştır. Çalışmalardan bir tanesinde eşik değeri 0.7 ODI olarak verilmiştir fakat bu çalışmanın analizi eşik değeri 0.5 ODI grubu ile birlikte yapılmıştır [89].

Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında BAL GM 0.5 ODI eşik değeri için havuzlanmış sensitivite %78, spesifisite %86, AUC 0.935; 1.0 ODI eşik değeri için havuzlanmış sensitivite %76, spesifisite %94, AUC 0.950 olarak hesaplandı. Kanıtlanmış İA hastalarında BAL GM 0.5 ODI eşik değeri için havuzlanmış sensitivite %91, spesifisite %83, AUC 0.926; 1.0 ODI eşik değeri için havuzlanmış sensitivite %81, spesifisite %94, AUC 0.964 olarak hesaplandı. (Tablo 4.4)

Tablo 4.4. BAL GM için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları

	Eşik değeri	Çalışma sayısı	AUC	SEN I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SEN	SPE I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SPE
<b>Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA vs İA olmayan</b>	0.5	13	0.935	84.8	0.78	86.0	0.86
	1.0	5	0.950	78.8	0.76	49.7	0.94
<b>Kanıtlanmış İA vs İA olmayan</b>	0.5	8	0.926	66.6	0.91	84.3	0.83
	1.0	3	0.964	87.8	0.81	67.4	0.94

İA: İnvaziv aspergillozis; AUC: Eğri altında kalan alan; SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

#### 4.2. *Aspergillus* PCR

Meta-analize dahil edilen 24 *Aspergillus* PCR çalışmasından 8 tanesi BAL sıvısında, 16 tanesi tam kan veya serum örneklerinde çalışılmıştır. On dokuz kohort, 5 vaka kontrol çalışma dahil edilmiştir. On iki çalışma prospektif, 9 çalışma retrospektif, 1 çalışma hem prospektif hem retrospektif dizayn edilmiştir. İki çalışmanın dizayn şekli belirtilmemiştir. *Aspergillus* PCR çalışmalarının özellikleri Tablo 4.5 ve Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.5. Tam kan/serum *Aspergillus* PCR için dahil edilen çalışmaların özellikleri

Yayın	Yıl	Ülke	Hasta Popülasyonu	Ortalama yaş	Kadın (%)	Çalışma dizaynı	Veri toplanma şekli	Örnekleme yöntemi
Rogers ve ark. [100]	2013	İrlanda	Erişkin HM olan hastalar	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
White ve ark. [101]	2013	UK	Erişkin HM olan hastalar	53.3	29.1	Vaka-kontrol	Retrospektif	Ardışık
Millon ve ark. [126]	2011	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	46	?	Kohort	Retrospektif	Ardışık
Cuenca-Estrella ve ark. [127]	2009	İspanya	Erişkin HM olan hastalar	52	42.1	Kohort	Prospektif	Ardışık
Badiee ve ark. [128]	2008	İran	Erişkin HM olan hastalar	33.7	31.4	Kohort	Prospektif	Ardışık
Suarez ve ark. [103]	2008	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
Florent ve ark. [106]	2006	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	?	?	Kohort	Prospektif	Ardışık
White ve ark. [96]	2006	İngiltere	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	48	?	Vaka-kontrol	Retrospektif	Belirsiz



Tablo 4.5 devamı

Yayın	Yıl	Ülke	Hasta Popülasyonu	Ortalama yaş	Kadın (%)	Çalışma dizaynı	Veri toplanma şekli	Örnekleme yöntemi
Halliday ve ark. [88]	2005	Avustralya	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	20.5	15.3	Kohort	Prospektif	Ardışık
Lass-Flörl ve ark. [129]	2004	Avusturya	Erişkin HM ve SOT olan hastalar	44	?	Kohort	Prospektif	Belirsiz
Kawazu ve ark. [110]	2004	Japonya	Erişkin HM olan hastalar	45	30.2	Kohort	Prospektif	Ardışık
Buchheidt ve ark. [112]	2004	Almanya	Erişkin HM olan hastalar	46	40	Kohort	Prospektif	Belirsiz
Raad ve ark. [130]	2002	ABD	Erişkin kanser hastaları	48	43	Kohort	Prospektif	Ardışık
Kami ve ark. [114]	2001	Japonya	Erişkin HM olan hastalar	48.3	23.7	Vaka-kontrol	Prospektif ve Retrospektif	Belirsiz
Williamson ve ark.[97]	2000	İngiltere	Erişkin ve çocuk KİT hastaları	18.5	64.8	Kohort	Retrospektif	Belirsiz
Bretagne ve ark.[84]	1998	Fransa	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	?	?	Kohort	Retrospektif	Ardışık değil

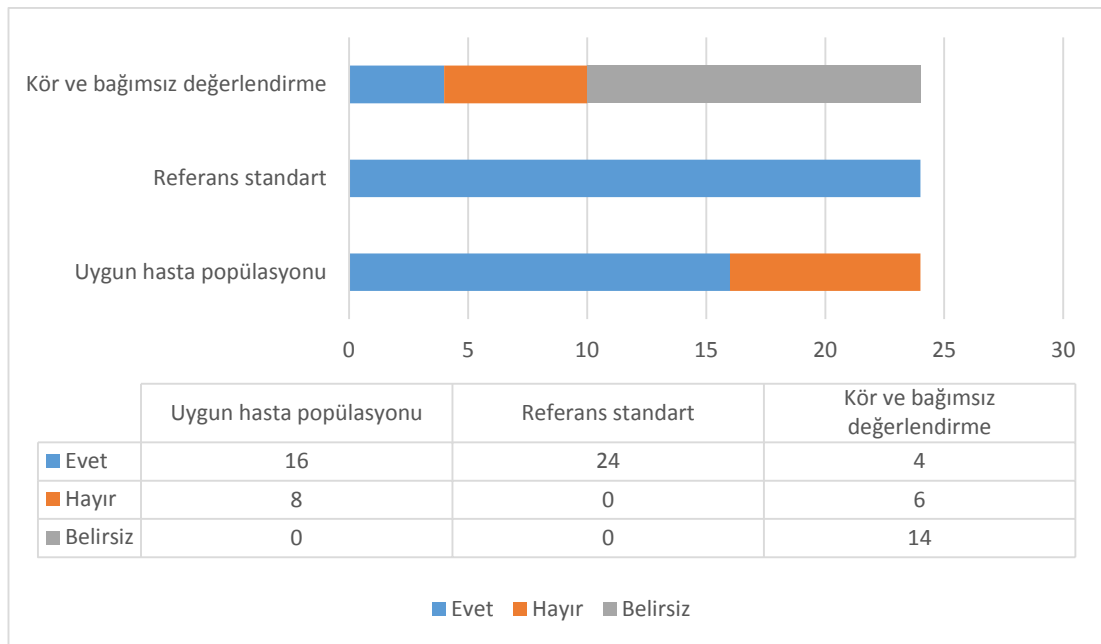
HM: Hematolojik kanser; AlloKİT: Allojenik kemik iliği transplantasyonu; SOT: Solid organ transplantasyonu

Tablo 4.6. BAL *Aspergillus* PCR için dahil edilen çalışmaların özellikleri

Yayın	Yıl	Ülke	Hasta Popülasyonu	Ortalama yaş	Kadın (%)	Çalışma dizaynı	Veri toplanma şekli	Örnekleme yöntemi
Buess ve ark. [131]	2012	İsviçre	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin hastalar	51	39.3	Kohort	Prospektif	Ardışık
Reinwald ve ark. [94]	2012	Almanya	Erişkin ve çocuk HM olan hastalar	56	35.8	Kohort	Retrospektif	Belirsiz
Frealle ve ark. [124]	2008	Fransa	Erişkin HM olan hastalar	49.15	28	Kohort	Retrospektif	Belirsiz
Khot ve ark. [132]	2008	ABD	Erişkin HM olan hastalar	53.68	39.5	Kohort	Retrospektif	Belirsiz
Musher ve ark. [125]	2004	ABD	Erişkin KİT hastaları	45.2	?	Vaka-kontrol	Retrospektif	Ardışık değil
Rantokokko-Jalava ve ark. [133]	2003	Finlandiya	Çeşitli konak faktörleri olan erişkin hastalar	?	?	Vaka-kontrol	Belirsiz	Belirsiz
Raad ve ark. [134]	2002	ABD	Erişkin kanser hastaları	50,4	36,9	Kohort	Prospektif	Belirsiz
Jones ve ark. [135]	1998	İngiltere	HM olan hastalar	?	?	Kohort	Belirsiz	Belirsiz

HM: Hematolojik kanser; AlloKİT: Allojenik kemik iliği transplantasyonu

*Aspergillus* PCR çalışmalarının kalite değerlendirmesi şekil 4.4'te gösterilmiştir. Buna göre 16 (%67) çalışmada test, risk grubunun tamamını temsil eden hasta popülasyonuna uygulanmıştır. Sadece 4 (%17) çalışmada kör ve bağımsız değerlendirme yapılmıştır. Referans standart tanı kriteri olarak 6 (%25) çalışmada 2008 EORTC/MSG, 13 (%54.2) çalışmada 2002 EORTC/MSG, 5 (%20.8) çalışmada EORTC kriterlerine benzer tanı kriterleri kullanılmıştır.



Şekil 4.4. *Aspergillus* PCR çalışmalarının kalite değerlendirmesi

Kullanılan PCR yöntemi ve PCR hedef geni çalışmalar arasında değişiklik göstermektedir. Yedi çalışmada nested PCR, 9 çalışmada real time PCR (RT PCR), 2 çalışmada kantitatif PCR (qPCR), 3 çalışmada PCR ELISA, 3 çalışmada ise standart/diğer PCR yöntemi kullanılmıştır. Hedef gen, 4 çalışmada 28S rRNA, 11 çalışmada 18S rRNA, 7 çalışmada mitokondriyal DNA, 3 çalışmada ITS1 ribozom, 1 çalışmada ise belirsizdir. Bir çalışmada [100] nested PCR ve qPCR birlikte incelenmiş, başka bir çalışmada [126] ise RT PCR ile mitokondriyal DNA ve 18S rRNA hedef geni ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu çalışmaların verileri iki şekilde de analiz edilmiştir.

#### 4.2.1. Tam Kan/Serum *Aspergillus* PCR için Sensitivite ve Spesifisite Hesaplanması

On altı çalışmadan toplam 1811 hasta veya kontrol, 1948 İA epizodu ve 313 (%16) kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı hasta dahil edildi. Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hasta grubu ile sadece kanıtlanmış İA hasta grubu için farklı karşılaştırma yapıldı. Ayrıca tek pozitif örnek sonucunu anlamlı kabul eden yayınlarla, en az iki ardışık pozitif örnek sonucunu anlamlı kabul eden yayınlar ayrı alt grup analizleri ile değerlendirildi.

Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında tüm grup için havuzlanmış sensitivite %63, spesifisite %81, AUC 0.877; tek pozitif PCR için havuzlanmış sensitivite %72, spesifisite %72, AUC 0.866; en az iki pozitif PCR için havuzlanmış sensitivite %51, spesifisite %92, AUC 0.955 olarak hesaplandı. Kanıtlanmış İA hastalarında tüm grup için havuzlanmış sensitivite %71, spesifisite %84, AUC 0.890; tek pozitif PCR için havuzlanmış sensitivite %70, spesifisite %79, AUC 0.860; en az iki pozitif PCR için havuzlanmış sensitivite %74, spesifisite %93, AUC 0.976 olarak hesaplandı (Tablo 4.7)

Tablo 4.7. Tam kan/serum *Aspergillus* PCR için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları

	Pozitif PCR sayısı	Çalışma sayısı	AUC	SEN I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SEN	SPE I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SPE
<b>Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA vs İA olmayan</b>	Genel	29	0.877	81.5	0.63	94.3	0.81
	Tek pozitif	17	0.866	74.8	0.72	94.4	0.72
	En az iki pozitif	12	0.955	81.6	0.51	72.1	0.92
<b>Kanıtlanmış İA vs İA olmayan</b>	Genel	17	0.890	61.7	0.71	90.2	0.84
	Tek pozitif	11	0.860	62.7	0.70	91.4	0.79
	En az iki pozitif	6	0.976	66.2	0.74	50.1	0.93

İA: İnvaziv aspergillozis; AUC: Eğri altında kalan alan; SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

#### 4.2.2. BAL *Aspergillus* PCR için Sensitivite ve Spesifisite Hesaplanması

Sekiz çalışmadan toplam 1032 hasta veya kontrol, 1045 İA epizodu ve 198 (%19) kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı hasta dahil edildi. Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hasta grubu ile sadece kanıtlanmış İA hasta grubu için farklı karşılaştırma yapıldı.

Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için havuzlanmış sensitivite %64, spesifisite %90, AUC 0.836; kanıtlanmış İA hastaları için havuzlanmış sensitivite %69, spesifisite %89, AUC 0.942 olarak hesaplandı (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. BAL *Aspergillus* PCR için dahil edilen çalışmaların havuzlanmış sonuçları

	Çalışma sayısı	AUC	SEN I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SEN	SPE I <sup>2</sup> (%)	Havuzlanmış SPE
<b>Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA vs İA olmayan</b>	8	0.836	66.5	0.64	91.1	0.90
<b>Kanıtlanmış İA vs İA olmayan</b>	6	0.942	60.7	0.69	92.6	0.89

İA: İnvaziv aspergillozis; AUC: Eğri altında kalan alan; SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

## 5. TARTIŞMA

İnvaziv aspergillozis, özellikle hematolojik kanseri olan veya kök hücre transplantasyonu yapılan hastalarda en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasındadır. Mortalitesi yüksek olduğundan erken tanısı önemlidir [14]. Erken tanının çoğu zaman mümkün olmaması nedeni ile empirik antifungal tedavi kullanılmakta, ancak toksisite ve yüksek maliyet empirik tedavinin kullanımını sınırlandırabilmektedir. Bu nedenle erken tanıda yol gösterici olan ve invaziv olmayan testler önem kazanmaktadır [136]. Serum ve BAL sıvısında GM ve PCR bu yöntemlerden en çok çalışılanıdır. Bu meta-analizde İA açısından yüksek riskli hastalardan hematolojik malignitesi olan veya kök hücre transplantasyonu yapılanlarda serum, BAL GM ve PCR testlerinin tanısal doğruluğunun hesaplanması amaçlanmıştır.

Çalışmalar arası heterojenite ( $I^2$ ) yüksek bulunmuştur. Sadece serum GM çalışmalarında, kanıtlanmış İA hastaları için 0.5 eşik değerinde heterojenite saptanmamıştır. Çalışmamızın hasta popülasyonunun sadece hematolojik kanseri olan gruba sınırlandırılmasının heterojeniteyi azaltması beklenebilirdi. Ancak; hematolojik kanseri olanlarla birlikte İA açısından daha az riskli diğer konak faktörleri olan (solid organ transplantasyonu, uzun süreli steroid kullanımı, immünsüpresif ilaç kullanımı, HIV gibi) veya sadece İA açısından en yüksek riskli olan allojenik kök hücre transplantasyonu hastalarının dahil edildiği, erişkin ve çocuk hastaların birlikte değerlendirildiği yayınların olması heterojeniteyi artırmış olabilir. Bu çalışmalar için sadece hematolojik malignitesi olanlar ve erişkin hasta grubu verilerini ayrıca hesaplamak mümkün olmadığından (sadece erişkin verilerinin ayrı alındığı bir çalışma[98] dışında) alt grup analizi yapılamadı. Ayrıca çalışmalarda değişik eşik değerleri ve farklı pozitif örnek sayılarının kullanılması da heterojeniteyi etkileyen faktörlerden sayılabilir. Bu nedenle, alt grup analizleri ile değişik eşik değerlerinde ve farklı pozitiflik sayılarında havuzlanmış sensitivite ve spesifisite hesaplandı.

Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için serum GM sensitivitesi ve spesifisitesi sırasıyla 0.5 eşik değerinde %80 ve %78, 1.0 eşik değerinde %74 ve %96, 1.5 eşik değerinde %70 ve %96 bulunmuştur. Eşik değeri yükseltildiğinde sensitivite giderek azalırken, spesifisite artmıştır. Fakat 1.0 ve 1.5 eşik değeri arasında spesifisite değişmemiştir. Sadece kanıtlanmış İA hastalarında serum GM sensitivite ve

spesifisitesi sırasıyla 0.5 eşik değerinde %94 ve %76, 1.0 eşik değerinde %86 ve %96, 1.5 eşik değerinde %70 ve %96 bulunmuştur (Tablo 5.1). Aynı şekilde eşik değeri arttıkça sensitivite azalırken, spesifiste artmış ancak 1.0 eşik değerinden sonra sabit kalmıştır. Bu sonuçlara göre hem kanıtlanmış İA hem de kanıtlanmamış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında serum GM için en uygun eşik değer 1.0 olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 5.1. Serum GM için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması

	Eşik değer	A. Şendur Tez		Leeflang		Pfeiffer	
		SEN	SPE	SEN	SPE	SEN	SPE
Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için	0.5	0.80	0.78	0.79	0.82	0.79	0.86
	1.0	0.74	0.96	0.71	0.90	0.65	0.94
	1.5	0.70	0.96	0.62	0.95	0.48	0.95
Kanıtlanmamış İA hastaları için	0.5	0.94	0.76	-	-	0.27	0.79
	1.0	0.86	0.96	-	-	0.79	0.87
	1.5	0.70	0.96	-	-	0.68	0.92

SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

Pfeiffer ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanan, 27 çalışmanın dahil edildiği serum GM meta-analizinde, kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında sensitivite ve spesifisitesi sırasıyla 0.5 eşik değerinde %79 ve %86, 1.0 eşik değerinde %65 ve %94, 1.5 eşik değerinde %48 ve %95 olarak hesaplanmıştır [50] (Tablo 5.1). Sadece kanıtlanmış İA hastaları için sensitivite ve spesifisite sırasıyla 0.5 eşik değeri için %27 ve %79, 1.0 eşik değerinde %79 ve %87, 1.5 eşik değerinde ise %68 ve %92 bulunmuştur. Çalışmamızda kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı hasta grubunda 0.5 eşik değeri için sonuçlar benzer olsa da 1.0 ve 1.5 eşik değerlerinde sensitivitenin daha yüksek bulunduğu görülmüştür. Pfeiffer ve arkadaşlarının meta-analizindeki çalışmaların İA tanı kriteri olarak EORTC/MSG 2002 kullanması, hasta

popülasyonlarının farklı olması sensitiviteyi etkilemiş olabilir. 2002 EORTC/MSG tanı kriterlerinde 2008 EORTC/MSG'ye göre düşük olasılıklı İA grubu daha geniş bir kitleyi kapsarken, yüksek olasılıklı İA grubunun kapsadığı hastalar daha dardır. Çalışmamızda düşük olasılıklı İA hastalarının meta-analizden çıkarılması ve 6 çalışmanın 2008 EORTC/MSG kriterlerini kullanması sonuçları etkilemiş olabilir. Ayrıca Pfeiffer ve arkadaşlarının meta-analizinde solid organ transplantasyonu yapılan hastaların dahil edilmesi daha düşük sensitivite bulunmasının nedenlerinden olabilir. Çalışmamızda kanıtlanmış İA hastalarının sensitivitesi Pfeiffer ve arkadaşlarının çalışmasına göre yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin Pfeiffer ve arkadaşlarının çalışmasında kanıtlanmış İA hasta sayısının çalışmamıza göre oldukça az olması olduğu düşünülmüştür.

Leeflang ve arkadaşlarının 2008 yılında yayınlanan, 29 çalışmanın dahil edildiği serum GM meta-analizinde, kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için sensitivite ve spesifisite sırasıyla 0.5 eşik değeri için %79 ve %82, 1.0 eşik değeri için %71 ve %90, 1.5 eşik değeri için %62 ve %95 olarak bulunmuştur [137] (Tablo 5.1). Sadece kanıtlanmış İA hastaları için değerlendirme yapılmamıştır. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile benzerdir.

Önceki iki meta-analizde de pozitiflik için gerekli örnek sayısının etkisi değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada serum GM eşik değeri 0.5 tek pozitiflik için sensitivite %85 spesifisite %68, ardışık pozitiflik için sensitivite %72, spesifisite %89; eşik değeri 1.0 tek pozitiflik için sensitivite %76, spesifisite %91, ardışık pozitiflik için sensitivite %71, spesifisite %99; eşik değeri 1.5 tek pozitiflik için sensitivite %71, spesifisite %95, ardışık pozitiflik için sensitivite %70, spesifisite %97 bulunmuştur (Tablo 4.2). Bu sonuçlara göre 0.5 ve 1.0 eşik değerlerinde pozitif sayısının artması sensitivitede bir miktar azalmaya neden olurken spesifisitede belirgin artış sağlamaktadır. Eşik değerin 1.0'den 1.5'a yükseltilmesi sensitivite ve spesifisitede iyileşme sağlamamaktadır.

Bronkoalevolar lavaj GM çalışmalarında kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında 0.5 ve 1.0 eşik değeri için sensitivite ve spesifisite sırasıyla %78, %86 ve %76, %94 olarak hesaplanmıştır. Kanıtlanmış İA hastalarında her iki eşik değeri için sensitivite daha yüksek olup spesifisite benzerdir (0.5 için sensitivite %91, spesifisite %83, 1.0 için sensitivite %81, spesifisite %94) (Tablo 4.4). Her iki grup için AUC 1.0

eşik değeri için daha büyük olduğundan, İA tanısında BAL GM testi için 1.0 eşik değerinin kullanılmasının daha yararlı olduğu söylenebilir. Hem serum hem BAL örneklerinde Platelia *Aspergillus* testinin pozitif kabul edilmesi için üretici firmanın önerisi 0.5 olmasına rağmen [138], çalışmamızın sonucunda en uygun eşik değeri 1.0 olarak bulunmuştur.

Tablo 5.2. BAL GM için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması

	Eşik değeri	A. Şendur Tez		Zou		Guo*	
		SEN	SPE	SEN	SPE	SEN	SPE
Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için	0.5	0.78	0.86	0.87	0.89	0.90	0.94
	1.0	0.76	0.94	0.86	0.95		
Kanıtlanmış İA hastaları için	0.5	0.91	0.83	1.00	0.77	0.94	0.79
	1.0	0.81	0.94	0.97	0.83		

\*Eşik değerler için ayrı analiz yapılmamış. SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

Guo ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yayınlanan 13 çalışmanın dahil edildiği BAL GM meta-analizinde, kanıtlanmış ve yüksek olasılık İA hastaları için sensitivite %90, spesifisite %94, sadece kanıtlanmış İA hastaları için sensitivite %94, spesifisite %79 bulunmuştur [139] (Tablo 5.2). Bu meta-analizde birden fazla eşik değeri çalışılan yayınlardan sadece en iyi sonuçları veren eşik değeri analize alınması nedeniyle sensitivite olduğundan daha yüksek hesaplanmış olabilir. Kanıtlanmış İA hastalarında daha düşük spesifisite bulunması, bu hastaların İA olmayan hastalarla birlikte düşük ve yüksek olasılık İA grubuyla karşılaştırmasından kaynaklanmıştır. Çalışmamızda kanıtlanmış İA hastaları sadece İA olmayan grupla karşılaştırıldığından spesifisite Guo ve arkadaşlarının çalışmasına göre daha yüksek bulunmuş olabilir. Ayrıca bahsedilen meta-analizde eşik değerine göre analiz yapılmamıştır.



Zou ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yayınlanan 30 çalışmanın dahil edildiği BAL GM meta-analizinde, kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için 0.5 eşik değerinde sensitivite ve spesifisite sırasıyla %87 ve %89, 1.0 eşik değerinde %86 ve %95; kanıtlanmış İA hastalarında sensitivite ve spesifisite, 0.5 eşik değerinde %100 ve %77, 1.0 eşik değerinde %97 ve %83 bulunmuştur [140] (Tablo 5.2). Bu meta-analizde sensitivite her iki grupta da daha düşük iken spesifisite kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında benzer fakat sadece kanıtlanmış İA hastalarında daha yüksek bulunmuştur. Bu meta-analizin daha az çalışma ile yapılmış olması sensitivitenin daha düşük bulunmasına neden olmuş olabilir. Guo ve arkadaşlarının yaptığına benzer şekilde, Zou ve arkadaşlarının çalışmasında kanıtlanmış İA grubunun yüksek olasılıklı, düşük olasılıklı ve İA olmayan grupla birlikte karşılaştırılması, spesifisitenin daha düşük olmasının nedeni olabilir.

Önceki iki meta-analizde de İA tanısında BAL GM testinin serum GM testine göre daha yararlı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu meta-analizde ise serum GM ve BAL GM arasında belirgin fark bulunamamıştır.

Tam kan *Aspergillus* PCR için dahil edilen 16 çalışmanın tek pozitif PCR ve ardışık pozitif PCR için analizi yapıldı. Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında tek pozitif PCR için sensitivite ve spesifisite sırasıyla %72 ve %72, ardışık pozitif için %51 ve %92 bulunmuştur. Testin pozitif kabul edilmesi için gerekli örnek sayısı ardışık olarak kabul edildiğinde İA tanısında spesifisite %20 artmaktadır. Sensitivitesi düşük olmakla birlikte AUC 0.955 olarak hesaplanmıştır ve bu nedenle testin ayırt etme gücü yüksektir. Kanıtlanmış İA hastalarında tek pozitif PCR için sensitivite ve spesifisite sırasıyla %70 ve %79, ardışık pozitif için %74 ve %93 bulunmuştur. Bu grupta testin pozitif kabul edilmesi için gerekli örnek sayısı ardışık kabul edilirse sensitivite belirgin değişmeyip, spesifisite %14 artmaktadır (Tablo 5.3). Eğri altında kalan alan 0.976 olduğundan kanıtlanmış İA hastalarında *Aspergillus* PCR testinin ayırt etme gücü yüksektir. Bu sonuçlarla yüksek riskli hasta grubunda *Aspergillus* PCR testinin ardışık iki değer pozitif olmasının İA tanısında yardımcı olduğu söylenebilir. Fakat sensitivitesi özellikle kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA grubunda düşük olduğundan, testin negatif olması tanıyı dışlatmayacaktır.

Tablo 5.3. Tam kan/serum *Aspergillus* PCR için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması

	Pozitif örnek sayısı	A. Şendur Tez			Mengoli		
		SEN	SPE	AUC	SEN	SPE	AUC
Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için	Tek pozitif	0.72	0.72	0.866	0.88	0.75	0.90
	Ardışık pozitif	0.51	0.92	0.955	0.75	0.87	0.87
Kanıtlanmış İA hastaları için	Tek pozitif	0.70	0.79	0.860	-	-	
	Ardışık pozitif	0.74	0.93	0.976	-	-	

SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

Mengoli ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınlanan 16 çalışma ile yapılmış tam kan/serum PCR meta-analizinde, kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastalarında tek pozitif örnek için sensitivite ve spesifisite sırasıyla %88 ve %75, ardışık pozitif örnek için %75 ve %87 olarak bulunmuştur [55] (Tablo 5.3). Sadece prospektif kohort ve ardışık örnekleme yapan çalışmaların dahil edilmesi ile görece olarak daha yüksek kaliteli çalışmalar analiz edilmiştir. Bu nedenle sensitivitenin bu meta-analize göre daha yüksek bulunması seçim yanlılığına bağlanabilir. Mengoli ve arkadaşlarının çalışmasında tek pozitif PCR testi için AUC 0.90, ardışık pozitif PCR için AUC 0.87 hesaplanmıştır ve bu meta-analize göre ayırt etme gücünün daha düşük olduğu sonucuna varılabilir. Kanıtlanmış İA hastaları için ayrı hesaplama yapılmadığından karşılaştırma yapılamamıştır.

Bronkoalveolar lavaj *Aspergillus* PCR için dahil edilen 8 çalışmanın meta-analizinde kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için sensitivite ve spesifisite sırasıyla %64 ve %90, kanıtlanmış İA hastaları için %69 ve %89 olarak bulunmuştur (Tablo 5.4). Tam kan/serum *Aspergillus* PCR ile karşılaştırıldığında sensitivite benzer olsa da spesifisite daha düşük bulunmuştur ve AUC daha küçüktür. Bu durumda BAL *Aspergillus* PCR'ın, tam kan/serum *Aspergillus* PCR testine üstün olmadığı söylenebilir. Fakat dahil edilen çalışma sayısının az olması nedeni ile sonuçlar

yeterince güvenilir değildir. Literatürde BAL sıvısında *Aspergillus* PCR çalışmalarının değerlendirildiği iki meta-analizde de bu meta-analize göre daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 5.4). Sun ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınlanan 17 çalışmalık meta-analizinde kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için sensitivite ve spesifisite sırasıyla %91 ve %92, kanıtlanmış İA hastaları için %90 ve %84 bulunmuştur [141]. Avni ve arkadaşlarının 2012 yılında yayınlanan 19 çalışmalık meta-analizinde kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için sensitivite ve spesifisite sırasıyla %90.2 ve %96.4 bulunmuştur [142]. Her iki meta-analizin çalışma sayısının bu meta-analizden çok daha fazla olması sensitivitenin daha düşük bulunmasına neden olmuş olabilir. Ayrıca Avni ve arkadaşlarının çalışmasında tanı kriteri olarak EORTC/MSG kriterini kullanmayan 9 çalışmanın olması ve bu çalışmaların sensitivite ve spesifisitesinin çok yüksek bulunması sonuçları etkilemiş olabilir.

Tablo 5.4. BAL *Aspergillus* PCR için çalışmamızın sonuçlarının literatür sonuçları ile karşılaştırılması

	A. Şendur Tez		Avni		Sun	
	SEN	SPE	SEN	SPE	SEN	SPE
<b>Kanıtlanmış ve yüksek olasılıklı İA hastaları için</b>	0.64	0.90	0.90	0.96	0.91	0.92
<b>Kanıtlanmış İA hastaları için</b>	0.69	0.89	-	-	0.90	0.84

SEN: Sensitivite; SPE: Spesifisite

Her iki meta-analizde BAL PCR testinin tam kan/serum PCR testine daha üstün olduğu sonucuna varılsa da bu meta-analizde tam kan/serum PCR testinin BAL PCR testine üstün olduğu görülmüştür.

Moleküler yöntemler, İA tanısında kriterlerden biri değildir. Polimeraz zincir reaksiyonu yöntem olarak çok spesifik olsa da *Aspergillus* PCR testinin standardizasyonu ile ilgili problemler nedeni ile tanı kriteri olarak kullanımı henüz

önerilmemiştir. Örnekleme yöntemi, kullanılan örnek miktarı, hedef gen ve PCR yöntemi farklılıkları nedeni ile sensitivite ve spesifisite değişkenlik gösterebilmektedir. Fungal sporların yaygın olarak bulunması nedeni ile örneklerin kontaminasyonu yanlış pozitif sonuçları artıracak için problem taşımaktadır. Ayrıca BAL sıvısından yapılan PCR sonucunun pozitif bulunması invaziv hastalık ve kolonizasyon ayırımını sağlamayabilir [141].

Çalışmamız; literatürde serum GM, BAL GM, tam kan/serum *Aspergillus* PCR ve BAL *Aspergillus* PCR testlerinin İA'da tanısal doğruluğunun bir arada incelendiği ilk meta-analizdir. Diğer meta-analizlerden farklı olarak düşük riskli İA hastalarının analize alınmaması ve hasta karşılaştırmalarının sadece kanıtlanmış İA hastaları ya da İA olmayan hastalarla yapıldığı bir grubun olması çalışmanın sonuçlarını daha güvenilir kılmaktadır.

Çalışmanın çeşitli kısıtlılıkları bulunmaktadır. Sadece MEDLINE veritabanı taranması ve İngilizce yayınların seçilmesi konuyla ilgili çalışmaların bir kısmının atlanmasına neden olmuştur. Bu nedenle meta-analizdeki yayın sayısı diğer çalışmalardan daha azdır. İnvaziv aspergilloziste tanısal doğruluk çalışmalarının başlı başına en büyük kısıtlılığı altın standart yöntemin referans standart olarak tüm hastalara uygulanmasının zorluğudur. Bu yüzden esasında hiçbir çalışma tam anlamıyla gerçeği yansıtmamaktadır. Bu nedenle, bizim çalışmamız da dahil literatürdeki çalışmalarda EORTC/MSG kriterleri referans standart olarak alınmıştır.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Yüksek riskli hastalarda serum GM ve BAL GM seviyesinin ölçülmesi İA tanısında yardımcı bir test olarak kullanılmaktadır. Bu meta-analizin sonucuna göre serum GM ve BAL GM testlerinin İA tanısında ayırt etme gücü yüksektir.
- Serum GM testinin pozitif sayılması için kabul edilen eşik değer 0.5'tir. Bu çalışmada 0.5 eşik değerinde tek pozitif değer için sensitivite iyi olsa da spesifisite düşük bulunmuştur. Eşik değeri 1.0 olarak kabul edildiğinde sensitivitede kabul edilebilir bir düşüşle birlikte spesifisite önemli ölçüde artmaktadır. Bu nedenle eşik değer 1.0 olarak kabul edilmesi yanlış pozitif sonuçları büyük ölçüde azaltacağından serum GM testinin tanısal doğruluğunu yükseltecektir.
- BAL GM testinin eşik değeri 0.5'ten 1.0'e yükseltildiğinde spesifisitede bir miktar artış olmaktadır. Aynı zamanda AUC 1.0 eşik değerinde daha yüksektir. Bu nedenle eşik değerin 1.0 kabul edilmesinin daha optimal olduğu düşünülmüştür.
- Literatürde açıkça sayılar verilmediği için, bu çalışmada 0.5 ile 1.0 arasında başka bir eşik değeri incelenememiştir. Serum ve BAL GM testleri için bu aralıkta daha optimal bir eşik değeri olabilir. Bu nedenle başka çalışmalara gerek vardır.
- Literatürdeki diğer meta-analizlerin aksine BAL GM testi, serum GM testine üstün bulunmamıştır.
- Tam kan/serum ve BAL örneklerinde *Aspergillus* PCR testinin ardışık pozitif olarak sensitivitesi düşük fakat spesifisitesi yüksek bulunmuştur. İki testin de İA ayırt etme gücü yüksektir. Sensitivitesi yeterince yüksek olmadığından İA taramasında uygun olmayıp yüksek riskli hastalarda tanıya yardımcı bir test olarak kullanılabilir.
- *Aspergillus* PCR standardizasyonu ile ilgili çalışmalar tamamlandıktan sonra yüksek olasılıklı İA tanı kriteri olarak *Aspergillus* spesifik PCR kullanılabilir.

**KAYNAKLAR**

1. Ryan, K.J., *Candida, Aspergillus, Pneumocystis, and Other Opportunistic Fungi*, in Sherris Medical Microbiology, K.J. Ryan and C.G. Ray, Editors. 2014.
2. Patterson, T.F., *Aspergillus Species*, in Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, J.E. Bennett, R. Dolin, and M.J. Blaser, Editors. 2015. p. 2895-2908.
3. Denning, D.W., Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*, 1998. 26(4): p. 781-803; quiz 804-5.
4. Rankin, N.E., Disseminated aspergillosis and moniliasis associated with agranulocytosis and antibiotic therapy. *Br Med J*, 1953. 1(4816): p. 918-9.
5. Groll, A.H., et al., Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infect*, 1996. 33(1): p. 23-32.
6. Chamilos, G., et al., Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica*, 2006. 91(7): p. 986-9.
7. Denning, D.W., Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*, 1996. 23(3): p. 608-15.
8. Erol, S., [Nosocomial aspergillosis: epidemiology and control]. *Mikrobiyol Bul*, 2010. 44(2): p. 323-38.
9. Lin, S.J., J. Schranz, and S.M. Teutsch, Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis*, 2001. 32(3): p. 358-66.
10. Neofytos, D., et al., Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis*, 2009. 48(3): p. 265-73.
11. Perfect, J.R., R. Hachem, and J.R. Wingard, Update on epidemiology of and preventive strategies for invasive fungal infections in cancer patients. *Clin Infect Dis*, 2014. 59 Suppl 5: p. S352-5.

12. Georgiadou, S.P., et al., The impact of prior invasive mold infections in leukemia patients who undergo allo-SCT in the era of triazole-based secondary prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*, 2013. 48(1): p. 141-3.
13. Lewis, R.E., et al., Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20-year autopsy study. *Mycoses*, 2013. 56(6): p. 638-45.
14. Singh, N. and D.L. Paterson, *Aspergillus* infections in transplant recipients. *Clin Microbiol Rev*, 2005. 18(1): p. 44-69.
15. Grow, W.B., et al., Late onset of invasive aspergillus infection in bone marrow transplant patients at a university hospital. *Bone Marrow Transplant*, 2002. 29(1): p. 15-9.
16. Atalla, A., et al., Risk factors for invasive mold diseases in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis*, 2015. 17(1): p. 7-13.
17. Marr, K.A., et al., Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood*, 2002. 100(13): p. 4358-66.
18. Wald, A., et al., Epidemiology of *Aspergillus* infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis*, 1997. 175(6): p. 1459-66.
19. Kosmidis, C. and D.W. Denning, The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Thorax*, 2015. 70(3): p. 270-277.
20. Gangneux, J.P., C. Camus, and B. Philippe, Epidemiology of invasive aspergillosis and risk factors in non neutropaenic patients. *Rev Mal Respir*, 2010. 27(8): p. e34-46.
21. Cornillet, A., et al., Comparison of Epidemiological, Clinical and Biological Features of Invasive Aspergillosis in Neutropenic and Nonneutropenic Patients: A 6-Year Survey. *Clinical Infectious Diseases*, 2006. 43: p. 577-84.
22. Marik, P.E., Fungal infections in solid organ transplantation. *Expert Opin Pharmacother*, 2006. 7(3): p. 297-305.

23. Bulpa, P., A. Dive, and Y. Sibille, Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*, 2007. 30(4): p. 782-800.
24. Meersseman, W., et al., Invasive aspergillosis in the intensive care unit. *Clin Infect Dis*, 2007. 45(2): p. 205-16.
25. Meersseman, W., et al., Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004. 170(6): p. 621-5.
26. VandenBergh, M.F., P.E. Verweij, and A. Voss, Epidemiology of nosocomial fungal infections: invasive aspergillosis and the environment. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1999. 34(3): p. 221-7.
27. Segal, B.H., Aspergillosis. *The New England Journal of Medicine*, 2009. 360(18): p. 1870-84.
28. Ng, T.T., G.D. Robson, and D.W. Denning, Hydrocortisone-enhanced growth of *Aspergillus* spp.: implications for pathogenesis. *Microbiology*, 1994. 140 (Pt 9): p. 2475-9.
29. Dagenais, T.R. and N.P. Keller, Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in Invasive Aspergillosis. *Clin Microbiol Rev*, 2009. 22(3): p. 447-65.
30. Ben-Ami, R., R.E. Lewis, and D.P. Kontoyiannis, Enemy of the (immunosuppressed) state: an update on the pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* infection. *Br J Haematol*, 2010. 150(4): p. 406-17.
31. Sales-Campos, H., et al., The immune interplay between the host and the pathogen in *Aspergillus fumigatus* lung infection. *Biomed Res Int*, 2013. 2013: p. 693023.
32. Gallin, J.I. and K. Zarembek, Lessons about the pathogenesis and management of aspergillosis from studies in chronic granulomatous disease. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2007. 118: p. 175-85.
33. Hebart, H., et al., Analysis of T-cell responses to *Aspergillus fumigatus* antigens in healthy individuals and patients with hematologic malignancies. *Blood*, 2002. 100(13): p. 4521-8.
34. Stevens, D.A., et al., Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis--state of the art: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference. *Clin Infect Dis*, 2003. 37 Suppl 3: p. S225-64.



35. Zelante, T., et al., IL-23 and the Th17 pathway promote inflammation and impair antifungal immune resistance. *Eur J Immunol*, 2007. 37(10): p. 2695-706.
36. Montagnoli, C., et al., Immunity and tolerance to *Aspergillus* involve functionally distinct regulatory T cells and tryptophan catabolism. *J Immunol*, 2006. 176(3): p. 1712-23.
37. Stevens, D.A., et al., Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 2000. 30(4): p. 696-709.
38. Kousha, M., R. Tadi, and A.O. Soubani, Pulmonary aspergillosis: a clinical review. *Eur Respir Rev*, 2011. 20(121): p. 156-74.
39. Thompson, G.R., 3rd and T.F. Patterson, Pulmonary aspergillosis: recent advances. *Semin Respir Crit Care Med*, 2011. 32(6): p. 673-81.
40. Sherif, R. and B.H. Segal, Pulmonary aspergillosis: clinical presentation, diagnostic tests, management and complications. *Curr Opin Pulm Med*, 2010. 16(3): p. 242-50.
41. Zmeili, O.S. and A.O. Soubani, Pulmonary aspergillosis: a clinical update. *QJM*, 2007. 100(6): p. 317-34.
42. Naaraayan, A., et al., Invasive pulmonary aspergillosis - case report and review of literature. *J Community Hosp Intern Med Perspect*, 2015. 5(1): p. 26322.
43. Greene, R.E., et al., Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis*, 2007. 44(3): p. 373-9.
44. Georgiadou, S.P., et al., The diagnostic value of halo and reversed halo signs for invasive mold infections in compromised hosts. *Clin Infect Dis*, 2011. 52(9): p. 1144-55.
45. Caillot, D., et al., Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. *J Clin Oncol*, 2001. 19(1): p. 253-9.
46. Perfect, J.R., Fungal diagnosis: how do we do it and can we do better? *Curr Med Res Opin*, 2013. 29 Suppl 4: p. 3-11.

47. Stynen, D., et al., A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*, 1995. 33(2): p. 497-500.
48. Wheat, L.J., Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transpl Infect Dis*, 2003. 5(4): p. 158-66.
49. Desoubeaux, G., E. Bailly, and J. Chandenier, Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations. *Med Mal Infect*, 2014. 44(3): p. 89-101.
50. Pfeiffer, C.D., J.P. Fine, and N. Safdar, Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 2006. 42(10): p. 1417-27.
51. Kimura, S.I., et al., False-positive *Aspergillus* galactomannan and its kinetics in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect*, 2015.
52. Mikulska, M., et al., Piperacillin/tazobactam (Tazocin) seems to be no longer responsible for false-positive results of the galactomannan assay. *J Antimicrob Chemother*, 2012. 67(7): p. 1746-8.
53. White, P.L., et al., *Aspergillus* PCR: one step closer to standardization. *J Clin Microbiol*, 2010. 48(4): p. 1231-40.
54. Tuon, F.F., A systematic literature review on the diagnosis of invasive aspergillosis using polymerase chain reaction (PCR) from bronchoalveolar lavage clinical samples. *Rev Iberoam Micol*, 2007. 24(2): p. 89-94.
55. Mengoli, C., et al., Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 2009. 9(2): p. 89-96.
56. Ascioğlu, S., et al., Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. *Clinical Infectious Diseases*, 2002. 34(1): p. 7-14.
57. De Pauw, B., et al., Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*, 2008. 46(12): p. 1813-21.

58. Hadrich, I., et al., Comparison of PCR-ELISA and Real-Time PCR for invasive aspergillosis diagnosis in patients with hematological malignancies. *Med Mycol*, 2011. 49(5): p. 489-94.
59. Herbrecht, R., et al., Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Oncol*, 2002. 20(7): p. 1898-906.
60. Scotter, J.M., et al., Comparison of PCR-ELISA and galactomannan detection for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Pathology*, 2005. 37(3): p. 246-53.
61. Sulahian, A., et al., Comparison of an enzyme immunoassay and latex agglutination test for detection of galactomannan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1996. 15(2): p. 139-45.
62. Buchheidt, D., et al., Clinical evaluation of a polymerase chain reaction assay to detect Aspergillus species in bronchoalveolar lavage samples of neutropenic patients. *Br J Haematol*, 2002. 116(4): p. 803-11.
63. Hidalgo, A., et al., Correlation between high-resolution computed tomography and galactomannan antigenemia in adult hematologic patients at risk for invasive aspergillosis. *Eur J Radiol*, 2009. 71(1): p. 55-60.
64. Hoenigl, M., et al., Sensitivity of galactomannan enzyme immunoassay for diagnosing breakthrough invasive aspergillosis under antifungal prophylaxis and empirical therapy. *Mycoses*, 2013. 56(4): p. 471-6.
65. Lass-Flörl, C., et al., Clinical evaluation of Aspergillus-PCR for detection of invasive aspergillosis in immunosuppressed patients. *Mycoses*, 2005. 48 Suppl 1: p. 12-7.
66. Montagna, M.T., et al., SIMIFF study: Italian fungal registry of mold infections in hematological and non-hematological patients. *Infection*, 2014. 42(1): p. 141-51.
67. Reinwald, M., et al., Diagnosing pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies: a multicenter prospective evaluation of an Aspergillus PCR assay and a galactomannan ELISA in bronchoalveolar lavage samples. *Eur J Haematol*, 2012. 89(2): p. 120-7.

68. Yoo, J.H., et al., Application of nucleic acid sequence-based amplification for diagnosis of and monitoring the clinical course of invasive aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Clin Infect Dis*, 2005. 40(3): p. 392-8.
69. Busca, A., et al., Usefulness of sequential *Aspergillus* galactomannan antigen detection combined with early radiologic evaluation for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Transplant Proc*, 2006. 38(5): p. 1610-3.
70. Ferns, R.B., et al., The prospective evaluation of a nested polymerase chain reaction assay for the early detection of *Aspergillus* infection in patients with leukaemia or undergoing allograft treatment. *Br J Haematol*, 2002. 119(3): p. 720-5.
71. Hebart, H., et al., Early detection of aspergillus infection after allogeneic stem cell transplantation by polymerase chain reaction screening. *J Infect Dis*, 2000. 181(5): p. 1713-9.
72. Jathavedam, A., et al., Limited utility of serum galactomannan assay after auto-SCT. *Bone Marrow Transplant*, 2009. 44(1): p. 59-61.
73. Lass-Flörl, C., et al., Screening for *Aspergillus* spp. using polymerase chain reaction of whole blood samples from patients with haematological malignancies. *Br J Haematol*, 2001. 113(1): p. 180-4.
74. Machetti, M., et al., Comparison of an enzyme immunoassay and a latex agglutination system for the diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*, 1998. 21(9): p. 917-21.
75. Hebart, H., et al., Prospective screening by a panfungal polymerase chain reaction assay in patients at risk for fungal infections: implications for the management of febrile neutropenia. *Br J Haematol*, 2000. 111(2): p. 635-40.
76. Sugawara, Y., et al., Clinical utility of a panfungal polymerase chain reaction assay for invasive fungal diseases in patients with haematologic disorders. *Eur J Haematol*, 2013. 90(4): p. 331-9.
77. Lass-Flörl, C., et al., The value of computed tomography-guided percutaneous lung biopsy for diagnosis of invasive fungal infection in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis*, 2007. 45(7): p. e101-4.

78. Maertens, J., et al., 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): p. 1604-10.
79. Verweij, P.E., et al., Comparison of antigen detection and PCR assay using bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in patients receiving treatment for hematological malignancies. *J Clin Microbiol*, 1995. 33(12): p. 3150-3.
80. Haynes, K. and T.R. Rogers, Retrospective evaluation of a latex agglutination test for diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1994. 13(8): p. 670-4.
81. Manso, E., et al., Value of antigen and antibody detection in the serological diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1994. 13(9): p. 756-60.
82. Penack, O., et al., Aspergillus galactomannan testing in patients with long-term neutropenia: implications for clinical management. *Ann Oncol*, 2008. 19(5): p. 984-9.
83. Maertens, J., et al., Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol*, 1999. 37(10): p. 3223-8.
84. Bretagne, S., et al., Comparison of serum galactomannan antigen detection and competitive polymerase chain reaction for diagnosing invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*, 1998. 26(6): p. 1407-12.
85. Foy, P.C., J.A. van Burik, and D.J. Weisdorf, Galactomannan antigen enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. 13(4): p. 440-3.
86. Hachem, R.Y., et al., Utility of galactomannan enzyme immunoassay and (1,3) beta-D-glucan in diagnosis of invasive fungal infections: low sensitivity for Aspergillus fumigatus infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol*, 2009. 47(1): p. 129-33.

87. Hadrich, I., et al., Clinical utility and prognostic value of galactomannan in neutropenic patients with invasive aspergillosis. *Pathol Biol (Paris)*, 2012. 60(6): p. 357-61.
88. Halliday, C., et al., Role of prospective screening of blood for invasive aspergillosis by polymerase chain reaction in febrile neutropenic recipients of haematopoietic stem cell transplants and patients with acute leukaemia. *Br J Haematol*, 2006. 132(4): p. 478-86.
89. Hsu, L.Y., et al., Galactomannan testing of bronchoalveolar lavage fluid is useful for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in hematology patients. *BMC Infect Dis*, 2010. 10: p. 44.
90. Ji, Y., et al., Positive results of serum galactomannan assays and pulmonary computed tomography predict the higher response rate of empirical antifungal therapy in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011. 17(5): p. 759-64.
91. Khanna, S., et al., Variables affecting the performance of galactomannan assay in high-risk patients at a tertiary care centre in India. *Indian J Med Microbiol*, 2013. 31(1): p. 34-9.
92. Marr, K.A., et al., Antifungal therapy decreases sensitivity of the *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis*, 2005. 40(12): p. 1762-9.
93. Pinel, C., et al., Detection of circulating *Aspergillus fumigatus* galactomannan: value and limits of the Platelia test for diagnosing invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*, 2003. 41(5): p. 2184-6.
94. Reinwald, M., et al., Therapy with antifungals decreases the diagnostic performance of PCR for diagnosing invasive aspergillosis in bronchoalveolar lavage samples of patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother*, 2012. 67(9): p. 2260-7.
95. Ulusakarya, A., et al., Surveillance of *Aspergillus* galactomannan antigenemia for invasive aspergillosis by enzyme-linked immunosorbent assay in neutropenic patients treated for hematological malignancies. *Hematol J*, 2000. 1(2): p. 111-6.

96. White, P.L., et al., The evolution and evaluation of a whole blood polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting. *Clin Infect Dis*, 2006. 42(4): p. 479-86.
97. Williamson, E.C., et al., Diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients by polymerase chain reaction. *Br J Haematol*, 2000. 108(1): p. 132-9.
98. Sulahian, A., et al., Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study. *Cancer*, 2001. 91(2): p. 311-8.
99. Held, J., et al., Comparison of a novel *Aspergillus* lateral-flow device and the Platelia(R) galactomannan assay for the diagnosis of invasive aspergillosis following haematopoietic stem cell transplantation. *Infection*, 2013. 41(6): p. 1163-9.
100. Rogers, T.R., et al., Combined real-time PCR and galactomannan surveillance improves diagnosis of invasive aspergillosis in high risk patients with haematological malignancies. *Br J Haematol*, 2013. 161(4): p. 517-24.
101. White, P.L., et al., Evaluation of real-time PCR, galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and a novel lateral-flow device for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*, 2013. 51(5): p. 1510-6.
102. Tanriover, M.D., et al., Galactomannan on the stage: prospective evaluation of the applicability in routine practice and surveillance. *Mycoses*, 2010. 53(1): p. 16-25.
103. Suarez, F., et al., Detection of circulating *Aspergillus fumigatus* DNA by real-time PCR assay of large serum volumes improves early diagnosis of invasive aspergillosis in high-risk adult patients under hematologic surveillance. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(11): p. 3772-7.
104. Lai, C.C., et al., Assessment of Platelia *Aspergillus* enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis. *J Microbiol Immunol Infect*, 2007. 40(2): p. 148-53.

105. Maertens, J.A., et al., Optimization of the cutoff value for the *Aspergillus* double-sandwich enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis*, 2007. 44(10): p. 1329-36.
106. Florent, M., et al., Prospective evaluation of a polymerase chain reaction-ELISA targeted to *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus* for the early diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies. *J Infect Dis*, 2006. 193(5): p. 741-7.
107. Weisser, M., et al., 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): p. 1143-9.
108. Pazos, C., J. Ponton, and A. Del Palacio, Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol*, 2005. 43(1): p. 299-305.
109. Maertens, J., et al., 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): p. 852-60.
110. Kawazu, M., et al., 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): p. 2733-41.
111. Rovira, M., et al., Detection of *Aspergillus* galactomannan by enzyme immunoabsorbent assay in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective study. *Transplantation*, 2004. 77(8): p. 1260-4.
112. Buchheidt, D., et al., Prospective clinical evaluation of a LightCycler-mediated polymerase chain reaction assay, a nested-PCR assay and a galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay for detection of invasive aspergillosis in neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol*, 2004. 125(2): p. 196-202.



113. Maertens, 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(9): p. 1297-306.
114. Kami, M., et al., Use of real-time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*, 2001. 33(9): p. 1504-12.
115. Affolter, K., et al., Galactomannan in bronchoalveolar lavage for diagnosing invasive fungal disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014. 190(3): p. 309-17.
116. Brownback, K.R., L.R. Pitts, and S.Q. Simpson, Utility of galactomannan antigen detection in bronchoalveolar lavage fluid in immunocompromised patients. *Mycoses*, 2013. 56(5): p. 552-8.
117. D'Haese, J., et al., Detection of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid samples of patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis: analytical and clinical validity. *J Clin Microbiol*, 2012. 50(4): p. 1258-63.
118. Racil, Z., et al., Galactomannan detection in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological diseases- the role of factors affecting assay performance. *Int J Infect Dis*, 2011. 15(12): p. e874-81.
119. Nguyen, M.H., et al., Galactomannan testing in bronchoalveolar lavage fluid facilitates the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies and stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011. 17(7): p. 1043-50.
120. Luong, M.L., et al., Clinical utility and prognostic value of bronchoalveolar lavage galactomannan in patients with hematologic malignancies. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2010. 68(2): p. 132-9.
121. Park, S.Y., et al., Aspergillus galactomannan antigen assay in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Infect*, 2010. 61(6): p. 492-8.
122. Maertens, J., et al., Bronchoalveolar lavage fluid galactomannan for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Clin Infect Dis*, 2009. 49(11): p. 1688-93.

123. Bergeron, A., et al., Contribution of galactomannan antigen detection in BAL to the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *Chest*, 2010. 137(2): p. 410-5.
124. Frealde, E., et al., Diagnosis of invasive aspergillosis using bronchoalveolar lavage in haematology patients: influence of bronchoalveolar lavage human DNA content on real-time PCR performance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2009. 28(3): p. 223-32.
125. Musher, B., et al., Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay and quantitative PCR for diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol*, 2004. 42(12): p. 5517-22.
126. Millon, L., et al., Ribosomal and mitochondrial DNA target for real-time PCR diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*, 2011. 49(3): p. 1058-63.
127. Cuenca-Estrella, M., et al., Value of serial quantification of fungal DNA by a real-time PCR-based technique for early diagnosis of invasive Aspergillosis in patients with febrile neutropenia. *J Clin Microbiol*, 2009. 47(2): p. 379-84.
128. Badiie, P., et al., Molecular detection of invasive aspergillosis in hematologic malignancies. *Infection*, 2008. 36(6): p. 580-4.
129. Lass-Flörl, C., et al., Diagnosing invasive aspergillosis during antifungal therapy by PCR analysis of blood samples. *J Clin Microbiol*, 2004. 42(9): p. 4154-7.
130. Raad, I., et al., Polymerase chain reaction on blood for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in cancer patients. *Cancer*, 2002. 94(4): p. 1032-6.
131. Buess, M., et al., Aspergillus-PCR in bronchoalveolar lavage for detection of invasive pulmonary aspergillosis in immunocompromised patients. *BMC Infect Dis*, 2012. 12: p. 237.
132. Khot, P.D., et al., Development and optimization of quantitative PCR for the diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *BMC Infect Dis*, 2008. 8: p. 73.
133. Rantakokko-Jalava, K., et al., Semiquantitative detection by real-time PCR of *Aspergillus fumigatus* in bronchoalveolar lavage fluids and tissue biopsy specimens from patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*, 2003. 41(9): p. 4304-11.

134. Raad, I., et al., Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis using polymerase chain reaction-based detection of aspergillus in BAL. *Chest*, 2002. 121(4): p. 1171-6.
135. Jones, M.E., et al., PCR-ELISA for the early diagnosis of invasive pulmonary aspergillus infection in neutropenic patients. *J Clin Pathol*, 1998. 51(9): p. 652-6.
136. Marr, K. and W. Leisenring, Design Issues in Studies Evaluating Diagnostic Tests for Aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases*, 2005. 41: p. S381-6.
137. Leeflang, M.M., et al., Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromized patients. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008(4): p. Cd007394.
138. Wheat, L.J., et al., Long-term stability at -20 degrees C of Aspergillus galactomannan in serum and bronchoalveolar lavage specimens. *J Clin Microbiol*, 2014. 52(6): p. 2108-11.
139. Guo, Y.L., et al., Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review. *Chest*, 2010. 138(4): p. 817-24.
140. Zou, M., et al., Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis. *PLoS One*, 2012. 7(8): p. e43347.
141. Sun, W., et al., Evaluation of PCR on bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review. *PLoS One*, 2011. 6(12): p. e28467.
142. Avni, T., et al., Diagnostic accuracy of PCR alone compared to galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a systematic review. *J Clin Microbiol*, 2012. 50(11): p. 3652-8.