



Tıp Fakültesi

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**HEMATOLOJİ HASTALARINDA İNVAZİV
ASPERGİLLOZ ERKEN TANISINDA ANLIK TANI
TESTİ OLARAK *ASPERGİLLUS* GALAKTOMANNAN
LATERAL AKIŞ TESTİNİN PERFORMANSININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DR. ÖZLEM ALHAN GÜNCÜ
UZMANLIK TEZİ**

İSTANBUL 2022



Tıp Fakültesi

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**HEMATOLOJİ HASTALARINDA İNVAZİV
ASPERGİLLOZ ERKEN TANISINDA ANLIK TANI
TESTİ OLARAK *ASPERGİLLUS* GALAKTOMANNAN
LATERAL AKIŞ TESTİNİN PERFORMANSININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. ÖZLEM ALHAN GÜNCÜ
UZMANLIK TEZİ**

Danışman: Prof. Dr. ZEKAVER ODABAŞI

İSTANBUL 2022

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez dönemi boyunca her soruma sabırla cevap veren, birlikte çalışmaktan zevk ve onur duyduğum tez danışmanı hocam Prof. Dr. Zekaver Odabaşı'na,

Düşünsel gelişimime katkı sağlayan ve deneyimleri ile ufkumu açan hocalarım Prof. Dr. Volkan Korten ve Prof. Dr. Lütfiye Mülazımoğlu Durmuşoğlu'na, fakülte yıllarında etik üzerine uzun süre düşünmemi ve özümsememi sağlayan Prof. Dr. Gürsu Kıyan'a, araştırma merakımı körükleyen Prof. Dr. Işıl Berat Barlan'a, uzmanlık eğitime katkı sağlayan hocalarım Doç. Dr. Uluhan Sili, Doç. Dr. Dilek Yağcı Çağlayık, Doç. Dr. Elif Tükenmez Tigen, Dr. Öğr. Üyesi Buket Ertürk Şengel, Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Bilgin başta olmak üzere Marmara'daki bütün hocalarıma ve uzmanlarımıza, tezime vaka katkısında bulunan hocalarım Prof. Dr. Rabin Saba, Prof. Dr. Emin Halis Akalın, Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Türe Yüce'ye,

Asistanlığım süresince birbirimize olan destek ve güveni hiç terk etmediğimiz, birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım başta Dr. İrem Nida Akkoyun, Dr. Fatmanur Karataş, Dr. Yusuf Oluç, Dr. Tuğçe Başarı, Dr. Elifnur Yılmaztürk, Dr. Marisa Marku, Dr. Ahmet Alacüçük ve Dr. Ayten Seydaliyeva olmak üzere tüm enfeksiyon asistanı doktor arkadaşlarıma, asistanlık yıllarına neşe katan Dr. Ceren Uzunoğlu, Dr. Lamia Şeker, Dr. Zeynep Mercancı, Dr. Naime Afşar ve Dr. Aygün Aliyeva başta olmak üzere tüm eş kıdemlerime, İç Hastalıkları Anabilim Dalı ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan bütün asistan doktor arkadaşlarıma, Marmara'da birlikte çalışma imkanı bulduğum hemşire arkadaşlarım, klinik sekreterlerimiz, klinik eczacı arkadaşlarım, personellerimiz ve intörn arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan aileme, desteğini her daim hissettiğim, hep yanımda olan abim Mehmet Onur Alhan'a, hayatıma kattığı renk yanında tezime sağladığı katkılar için sevgili eşim Mehmet Mücahit Güncü'ye çok teşekkür ederim.

Şubat 2022

Özlem Alhan Güncü

*Neutec İlaç firması, sōna Aspergillus GM-LFA kit desteğinde bulunmuştur.

ÖZET

Giriş ve Amaç:

İnvaziv aspergilloz (İA), hematolojik malignite tanılı hastalarda yüksek mortalite oranlarına sahiptir, bu nedenle erken tanı yöntemlerinin geliştirilerek erken tedavi başlanması yüksek önem arz etmektedir. *Aspergillus* galaktomannan lateral akış testi (GM-LFA), GM enzim immünoassay'e (GM-EIA) göre hızlı ve ucuz bir tanı yöntemidir. Çok merkezli, prospektif çalışmamızda GM-LFA'nın hematoloji hastalarında serum örneklerinde İA tanısına yönelik etkinliği ve GM-EIA ile korelasyonu değerlendirilmiştir.

Yöntem:

Eylül 2019 – Aralık 2021 tarihleri arasında 4 hastanede yatarak takip edilen, hematolojik malignitesi olan 171 hastadan alınan serum örneklerinde GM-EIA ve GM-LFA çalışıldı. Hastalar EORTC/MSG kılavuzuna göre vaka grubu "*proven*", "*probable*", "*possible*" İA ve "kontrol" grubu olarak sınıflandırıldı. Serum GM-LFA'nın 0.5 ve 1.0 ODI kesim noktalarındaki performansı değerlendirildi; vaka ve kontrol grupları karşılaştırılarak ROC analizi yapıldı, eğri altında kalan (AUC) değerleri sunuldu. GM-LFA ve GM-EIA arasındaki ilişkiyi belirlemek için Spearman korelasyon analizi ve Kappa uyum testi yapıldı.

Bulgular:

Hastaların %36.3'ü akut myeloid lösemi, %14.6'sı akut lenfoblastik lösemi, %20.5'i non-Hodgkin lenfoma ve %11.7'si multipl miyelom tanılıydı. EORTC/MSG kriterlerine göre 171 hastanın 6'sı *proven*, 22'si *probable*, 55'i *possible* İA ve 88'i kontrol grubunda yer aldı. *Proven/probable* İA vakaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında GM-LFA'nın ROC analizinde AUC'si 0.832 (%95CI 0.716-0.949) bulunmuştur. Aynı grupların karşılaştırılmasında testin kesim noktası 0.5 ODI alındığında duyarlılık %75, özgüllük %100, negatif öngörü değeri %92.6, tanısal

doğruluk değeri %93.9 bulunmuştur. GM-LFA ile GM-EIA arasında orta şiddette pozitif yönlü korelasyon (Spearman $\rho=0.511$ $P=0.01$) saptanmıştır ve testlerin kategorik değerlendirmesinde (0.5 ODI) çok iyi düzeyde uyumluluk gösterdikleri görülmüştür (Cohen'in kappa katsayısı=0.977, $P<0.001$).

Sonuç:

Bu çalışmada GM-LFA'nın tanısal doğruluğu, duyarlılık ve özgüllüğü yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda GM-LFA'nın performansı İA tanısında 'anlık hızlı tanı' testi olması açısından umut vericidir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Anlık hızlı tanı testi, EORTC/MSG kriterleri, Galaktomannan, İnvaziv Aspergilloz, Lateral Akış Testi

ABSTRACT

Background:

Invasive aspergillosis (IA) has a high mortality rate in patients with hematological malignancy. Therefore, it is very important to develop early diagnosis methods and start early treatment. *Aspergillus* galactomannan lateral flow assay (GM-LFA) is a cheaper and faster method than GM enzyme immunoassay (GM-EIA). In this multicenter prospective study, we evaluated the efficacy of GM-LFA in the diagnosis of IA and its correlation with GM-EIA in serum samples of hematology patients.

Materials and Methods:

Between September 2019 and December 2021, serum samples were obtained from 171 patients with hematological malignancies hospitalized in 4 centers, and GM-EIA and GM-LFA were studied from their samples. Patients were classified as "proven" or "probable" or "possible" IA, and "control" according to the EORTC/MSG guidelines. The performance of the serum GM-LFA at 0.5 and 1.0 ODI cut-off points was evaluated; ROC analysis and area under the curve (AUC) were performed by comparing case and control groups. Spearman correlation analysis and Kappa statistics were performed to determine the agreement between GM-LFA and GM-EIA.

Results:

Of the patients included in the study, 36.3% had acute myeloid leukemia, 14.6% had acute lymphoblastic leukemia, 20.5% had non-Hodgkin's lymphoma, and 11.7% had multiple myeloma. According to EORTC/MSG criteria, patients were grouped as 6 "proven", 22 "probable", 55 "possible" IA, and 88 "control". In the comparison of proven and probable IA cases with the control group, the AUC was 0.832 (95%CI 0.716-0.949) in the ROC analysis. The sensitivity, specificity, negative predictive value, and diagnostic accuracy were 75%, 100%, 92.6%, and 93.9%, respectively, at 0.5 ODI. There was a moderate positive correlation between GM-EIA and GM-LFA

(Spearman $\rho=0.511$ $P = 0.01$). The observed agreement of tests in the case groups at 0.5 ODI was almost perfect (Cohen's kappa coefficient = 0.977, $P<0.001$).

Conclusions:

The diagnostic accuracy, sensitivity, and specificity of GM-LFA were found to be quite high in this study. The performance of the GM-LFA in our study is promising in terms of being a "point of care" test in the diagnosis of IA.

KEYWORDS: EORTC/MSG criteria, Galactomannan, Invasive Aspergillosis, Lateral Flow Test, Point of care testing

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Önsöz.....	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet (Abstract).....	iv
İçindekiler.....	vi
Tablo Listesi.....	viii
Şekil Listesi.....	x
Resim Listesi.....	xi
Simgeler ve Kısaltmalar.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.1. <i>Aspergillus</i> türleri ve özellikleri	6
2.1.1. Tarihçe ve <i>Aspergillus</i> türlerinin taksonomisi.....	6
2.1.2. Mikoloji	7
2.1.3. <i>Aspergillus</i> türlerinin patojenitesi ve virülans faktörleri	11
2.1.4. <i>Aspergillus</i> türlerine karşı konak defans mekanizmaları.....	14
2.1.4.1. Doğal bağışıklık.....	14
2.1.4.2. Kazanılmış bağışıklık	16
2.2. Epidemiyoloji	17
2.3. Klinik Tablolar ve Semptomlar	24
2.3.1. <i>Aspergillus</i> ilişkili invaziv olmayan sendromlar	24
2.3.1.1. Alerjik bronkopulmoner aspergilloz.....	24
2.3.1.2. Aspergilloma.....	26
2.3.1.3. Kronik pulmoner aspergilloz	27
2.3.2. <i>Aspergillus</i> ilişkili invaziv sendromlar	30
2.3.2.1. İnvaziv pulmoner aspergilloz.....	30
2.3.2.2. İnvaziv <i>Aspergillus</i> trakeobronşiti	31
2.3.2.3. İnvaziv <i>Aspergillus</i> rinosinüziti	32
2.3.2.4. Serebral aspergilloz.....	33
2.3.2.5. Kutanöz aspergilloz	34
2.4. İnvaziv Aspergilloz Tanı Yöntemleri.....	34
2.4.1. Radyolojik tanı	37

2.4.1.1. Anjio-invaziv form	39
2.4.1.2. Hava yolu invaziv form	41
2.4.2. Histopatolojik tanı	42
2.4.3. Mikrobiyolojik tanı	43
2.4.3.1. Direkt bakı ve kültür	43
2.4.3.2. Serolojik yöntemler.....	44
2.4.3.3. <i>Aspergillus</i> DNA Tespiti	51
2.5. İnvaziv Aspergilloz Profilaksi ve Tedavisi	52
2.5.1. Primer ve sekonder profilaksi	54
2.5.2. İnvaziv aspergilloz tedavisi	56
3. MATERYAL VE METOT.....	59
3.1. Hasta Seçimi ve Veri Toplama.....	59
3.2. İMMY sona <i>Aspergillus</i> GM-LFA Çalışma Prosedürü	61
3.3. Platelia <i>Aspergillus</i> ELISA Tekniği	63
3.4. İstatistik	64
4. BULGULAR	66
4.1. Serum Örneklerinde GM-LFA Etkinliğinin ve GM-EIA ile Uyumunun Değerlendirilmesi	66
4.2. Serum Örneklerinde Alt Grup Analizleri	78
4.2.1. Çalışmaya alındığı gün nötropenik olan ve olmayan hastalarda GM-LFA etkinliğinin değerlendirilmesi	78
4.2.2. Çalışmaya alındıkları gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların GM-LFA etkinliklerinin değerlendirilmesi.....	82
4.2.3. Çalışmaya alındıkları gün küf etkili antifungal ajan almayan hastaların GM-LFA etkinliklerinin değerlendirilmesi.....	87
4.3. Bronkoalveolar Lavaj Örneklerinde GM-LFA ile GM-EIA Uyumunun Değerlendirilmesi	91
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	95
6. KAYNAKLAR.....	104

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. IDSA, ESCMID ve ECIL-6 kılavuzlarının öneri gücü ve kanıt kalitesi için kullanılan kısaltmalar	53
Tablo 2. Hastaların toplam ve gruplara göre demografik özellikleri	68
Tablo 3. Tanı anında <i>proven</i> ve <i>probable</i> İA vakalarına ait bulgular	69
Tablo 4. Hastaların İnvaziv Aspergilloz için konak faktörleri.....	70
Tablo 5. Hastaların çalışmaya dahil edildikleri gün kaydedilen klinik özellikleri	72
Tablo 6. Hastaların çalışmaya dahil edildikleri gün kaydedilen laboratuvar değerleri	72
Tablo 7. Vaka grubundaki hastaların toraks BT bulguları	73
Tablo 8. Vaka ve kontrol gruplarında serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri	74
Tablo 9. 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında GM-LFA testinin performansı.....	75
Tablo 10. Vaka ve kontrol gruplarında GM-LFA ve GM-EIA arasındaki uyum	77
Tablo 11. Vaka ve kontrol gruplarında 0. gündeki nötrofil sayılarına göre serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri	79
Tablo 12. Nötropenik vakalarda 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında GM-LFA'nın performansı	80
Tablo 13. Nötropenik olmayan vakalarda 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında GM-LFA'nın performansı	81
Tablo 14. Vaka ve kontrol gruplarında serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri	83
Tablo 15. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastalarda GM-LFA testinin performansı	84
Tablo 16. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA testleri arasındaki uyum.....	86
Tablo 17. Küf etkili antifungal kullanımı olmayan hastaların serum GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri	88
Tablo 18. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastalarda GM-LFA testinin performansı	88

Tablo 19. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal ajan almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA testleri arasındaki uyum.....	90
Tablo 20. Bronkoalveolar lavaj örneklerinde GM-LFA ve GM-EIA çalışılan hastalıkların demografik ve klinik özellikleri	92
Tablo 21. <i>Proven/probable</i> İA ve <i>possible</i> İA gruplarında BAL GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri	93
Tablo 22. BAL GM-LFA ve GM-EIA arasındaki uyum	94



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. <i>Aspergillus</i> türlerinin şematik görünümü.....	8
Şekil 2. EORTC/MSG-2019 uzlaşmasının <i>probable</i> İPA için tanı kriterleri.....	36
Şekil 3. EORTC/MSG uzlaşmasına göre İPA için <i>proven, probable</i> ve <i>possible</i> vaka tanımlaması	36
Şekil 4. Platelia <i>Aspergillus</i> EIA Tekniği	46
Şekil 5. Çalışmaya alınan hastaların dağılımı	67
Şekil 6. Vaka ve kontrol gruplarında serum GM-LFA ve GM-EIA ODI'leri	74
Şekil 7. İA tanısında serum GM-LFA'nın ROC eğrisi	76
Şekil 8. İA tanısında serum GM-EIA ve GM-LFA'nın birlikte sunulan ROC eğrileri	76
Şekil 9. Serum numunelerinde çalışılan GM-LFA ve GM-EIA testlerinin GM indeksleri arasındaki doğrusal korelasyon	78
Şekil 10. Nötropenik hastaların serum GM-LFA ROC eğrileri.....	80
Şekil 11. Nötropenik olmayan hastaların serum GM-LFA ROC eğrileri	81
Şekil 12. Vaka ve kontrol gruplarında serum GM-LFA ve GM-EIA ODI'leri	83
Şekil 13. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA ROC eğrileri	84
Şekil 14. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların serum numunelerinden çalışılan GM-LFA ve GM-EIA testlerinin GM indeksleri arasındaki doğrusal korelasyon	86
Şekil 15. Küf etkili antifungal kullanımı olmayan hastaların serum GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri	87
Şekil 16. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal ajan almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA ROC eğrileri	89
Şekil 17. İA vaka gruplarında BAL GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri	93

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Sinopulmoner invaziv aspergilloz MR ve BT görünümü	37
Resim 2. PET/BT’de invaziv pulmoner aspergilloz görünümü	38
Resim 3. Toraks BT’de invaziv pulmoner aspergilloz görünümü	39
Resim 4. İPA’da toraks BT bulgularının tedavi ile değişimi	41
Resim 5. Toraks BT’de hava-hilal işareti ve tomurcuklanmış ağaç görünümü	42
Resim 6. IMMY sona <i>Aspergillus</i> GM-LFA çalışma prosedürü	62
Resim 7. IMMY sona <i>Aspergillus</i> GM-LFA Küp Okuyucu	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABPA	: Alerjik bronkopulmoner aspergilloz
AIDS	: Edinsel immün yetmezlik sendromu (<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>)
AML	: Akut myeloid lösemi
ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
Allo-KİT	: Allojenik kemik iliği transplantasyonu
ALT	: Alanin aminotransferaz
AUC	: Eğri altında kalan alan (<i>Area under the curve</i>)
APC	: Antijen sunan hücreler
AspLFD	: <i>Aspergillus lateral flow device</i>
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
BALF	: Bronkoalveolar lavaj sıvısı
BDG	: (1,3)- β -D-Glukan
BT	: Bilgisayarlı tomografi
BTK	: Bruton tirozin kinaz
CAPA	: COVID-19 ilişkili pulmoner aspergilloz
CAR-T	: Kimerik antijen reseptör T hücreleri
CCPA	: Kronik kaviter pulmoner aspergilloz
CGD	: Kronik granüloamatöz hastalık
CMV	: Sitomegalovirüs
CNPA	: Kronik nekrotizan pulmoner aspergilloz
CPA	: Kronik pulmoner aspergilloz
CRP	: C-Reaktif protein
DHN	: Dihidroksinaftalin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EBUS	: Endobronşiyal ultrasonografi
ECMM	: Avrupa Tıbbi Mikoloji Konfederasyonu (<i>European Confederation of Medical Mycology</i>)
ECIL	: Avrupa Lösemi Enfeksiyonları Konferansı (<i>European Conference on Infections in Leukemia</i>)

EIA	: Enzim immünoassay
ELISA	: Enzime bağlı immünosorbent testi
EORTC/MSG	: Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Kurumu / İnvaziv Mantar Enfeksiyonları İş Birliği Grubu ve Ulusal Alerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü Mikoza Çalışma Grubu (<i>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</i>)
ERK	: Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz
ERS	: Avrupa Solunum Derneği (<i>European Respiratory Society</i>)
ESCMID	: Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (<i>European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</i>)
GAG	: Galaktozaminogalaktan
GM	: Galaktomannan
GM-LFA	: Galaktomannan-Lateral akış testi
GM-EIA	: Galaktomannan- Enzim immünoassay
GVHD	: <i>Graft-versus-host</i> hastalığı
FDA	: ABD Gıda ve İlaç İdaresi (<i>Food and Drug Administration</i>)
FIBCD1	: Fibrinojen C domain-içeren protein 1
FleA	: Fukoz bağlayıcı lektin
HIF1 α	: Hipoksi indüklenebilir faktör 1 α
HL	: Hodgkin Lenfoma
HRCT	: İnce kesitli bilgisayarlı tomografi
HSCT	: Hematopoetik kök hücre nakli
IDSA	: Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (<i>Infectious Diseases Society of America</i>)
IFI	: İnvaziv fungal enfeksiyon (<i>Invasive fungal infection</i>)
IFN	: İnterferon
IFNLR1	: İnterferon lambda reseptör 1
Ig	: İmmüoglobülin
IL	: İnterlökin

IQR	: Çeyrekler arası aralık (<i>Interquartile range</i>)
ITS	: Dahili kopyalanmış aralayıcı (<i>Internal transcribed spacer</i>)
İA	: İnvaziv aspergilloz
İARS	: İnvaziv <i>Aspergillus</i> rinosinüziti
İATB	: İnvaziv <i>Aspergillus</i> trakeobronşiti
İPA	: İnvaziv pulmoner aspergilloz
κ	: Cohen'in kappa katsayısı
KLL	: Kronik lenfositik lösemi
KML	: Kronik myeloid lösemi
L-AmB	: Lipozomal amfoterisin B
LFA	: IMMY Sona <i>Aspergillus</i> lateral akış testi (<i>lateral flow assay</i>)
LFD	: OLM TM <i>Aspergillus</i> lateral flow device
LR+	: Pozitif olasılık oranı (<i>Positive likelihood ratio</i>)
LR-	: Negatif olasılık oranı (<i>Negative likelihood ratio</i>)
MAb	: Monoklonal antikor
MDS	: Myelodisplastik sendrom
MH	: Malign histiyositoz
MM	: Multipl miyelom
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NHL	: Non-Hodgkin Lenfoma
NK	: Doğal öldürücü hücreler (<i>Natural killer cells</i>)
NPV	: Negatif prediktif değer
ODI	: Optik yoğunluk indeksi
ρ	: Sperman korelasyon katsayısı
PA-EIA	: Platelia <i>Aspergillus</i> galaktomannan-Enzim immünoassay
PATH	: Prospektif Antifungal Tedavi Birliği (<i>Prospective Antifungal Therapy</i>)
PCP	: <i>Pneumocystis jirovecii</i> pnömonisi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PET-BT	: Pozitron emisyon tomografisi-Bilgisayarlı tomografi
PMNL	: Polimorfonükleer lökositler

<i>Possible</i>	: Düşük olasılıklı
PPV	: Pozitif prediktif değer
<i>Probable</i>	: Yüksek olasılıklı
<i>Proven</i>	: Kanıtlanmış
PRRs	: Patern tanıma reseptörleri (<i>Pattern recognition receptors</i>)
R1	: Mikro çukurcuk şerit plaka
R2	: Konsantre yıkama solüsyonu
R3	: Negatif kontrol serumu
R4	: Eşik kontrol serumu
R5	: Pozitif kontrol serumu
R6	: Konjugat şişesi
R9	: Kromojen çözeltisi
RNA	: Ribonükleik asit
ROC	: Alıcı çalışma karakteristikleri (<i>Receiver operating characteristic</i>)
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SARS-CoV-2	: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2
SE	: Standart hata
SMKIs	: Küçük moleküllü kinaz inhibitörleri
SOT	: Solid organ transplantasyonu
SREBPs	: Sterol regülatör element bağlayıcı proteinler
Th1	: <i>T helper 1</i>
Th2	: <i>T helper 2</i>
TLR	: <i>Toll</i> -benzeri reseptörler
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü- α
TRANSNET	: Organ Nakli İlişkili Enfeksiyon Sürveyans Ağı (<i>Transplant-Associated Infection Surveillance Network</i>)
Treg	: T regülatör hücre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnvaziv fungal enfeksiyonlar (IFI), hematolojik malignite tanılı hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Akut myeloid lösemi (AML) tanılı hastalar, allojenik kemik iliği nakli (allo-KİT) ve kalp, akciğer, karaciğer nakli alıcıları IFI için yüksek risk grubunda yer alırlar (1). Akut lenfoblastik lösemi (ALL), kronik lenfositik lösemi (KLL), lenfoma, myelodisplastik sendrom (MDS) orta riskli hematolojik malignitelerken; otolog kemik iliği nakli, multipl miyelom (MM), kronik myeloproliferatif hastalıklar IFI için düşük riskli insidans ve mortalite ile ilişkilidir (1).

Hematoloji hastalarında en sık görülen IFI etkenleri *Aspergillus* ve *Candida* türleridir (2). Uygun antifungal profilaksilerin kullanılmasıyla IFI epidemiyolojisi son yıllarda değişime uğramıştır. İnvaziv *Candida* enfeksiyonları hematoloji hastalarında daha nadir görülmeye başlanmış, *Aspergillus* türlerine bağlı enfeksiyonlar ön plana çıkmıştır (2, 3). *Aspergillus* enfeksiyonlarındaki yükselişin muhtemel nedenleri; T hücre fonksiyonu üzerinde yoğun ve uzun süreli bağışıklık baskılayıcı etkileri olan kemoterapilerin uygulanması (pürin nükleozid analogları, monoklonal antikolar), lenfoproliferatif ve myeloproliferatif hastalıklarda hedefe yönelik yeni tedavi yöntemlerinin kullanımının artışı (kinaz inhibitörleri, immün kontrol noktası inhibitörleri) ve kronik *graft-versus-host* hastalığı (GVHD) için daha yüksek risk taşıyan allo-KİT prosedürlerinin artışı gösterilebilir (4, 5). İnvaziv aspergilloz (İA) için temelde en önemli risk faktörü uzun süreli ve derin nötropenidir (6). Kemoterapi alan hastalarda tekrarlayan uzun süreli nötropeni döngüleri ve eş zamanlı kortikosteroid tedavisi IA riskini daha fazla artırır (7). Hematoloji hastalarında kemoterapi rejimlerine göre IA riski de farklılaşmaktadır. AML tanılı hastalarda IA en sık indüksiyon kemoterapisi sonrasında gelişirken, kötü prognostik sitogenetik özelliklere sahip AML/MDS hastalarında azasitidin gibi hipometile edici ajanların kullanımı esnasında da oldukça yüksek IFI riski geliştiği gösterilmiştir (8, 9).

İA'nın en sık görülen klinik formu invaziv pulmoner aspergilloz (İPA)'dur (10). *Aspergillus* sporlarının (konidyum) toprak, çürüyen bitkiler, ev tozu, yapı malzemeleri ve sudan solunum yoluyla alınmasıyla, konidyumlar solunum epiteline

bağlanır ve metabolik olarak aktifleşirler. Alveolar makrofajlar içinde hifler oluşur, etkili konak savunmasının yokluğunda hifler akciğer parankimine ve vasküler yapılara yayılır (11). Nefes darlığı, kuru öksürük, plöritik göğüs ağrısı, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen ateş ve hemoptizi İPA'da görülen semptomlardır. Derin nötropenik hastalarda inflamatuvar yanıt oluşturulamaması nedeniyle bu semptomlar görülemeyebilir. Ayrıca ateş çoğu hastada görülse de yüksek doz kortikosteroid alan hastalarda maskelenebilir (12). İPA semptomları ve laboratuvar bulguları genel olarak hastalığa özgü değildir. İPA'nın, hava yolu invaziv ve anjiyoinvaziv olmak üzere iki formu vardır. Anjiyoinvaziv formun radyolojisinde erken safhada halo bulgusu (nodülü çevreleyen buzlu cam görünümü), geç safhada hava-hilal işareti (kaviteleşen nodül) görülebilen; hava yolu invaziv formda endobronşiyal tüberküloz yayılımında görülenlere benzer, tomurcuklanmış ağaç görünümü ile yama tarzında sentrilobüler nodüller görülebilir (13).

İnvaziv aspergilloz tanısında altın standart yöntem, doku biyopsisinde septalı, 45 derece açı ile dallanan hifleri göstermek ve *Aspergillus* türlerini kültürde üretmektir. Akciğerdeki şüpheli lezyonlar periferik yerleşimli ise ince iğne biyopsisi ya da cerrahi rezeksiyon; lezyonlar hilus ve büyük damarlara yakın ise torakotomi ve rezeksiyon düşünülebilir. Fakat operasyon ya da biyopsinin yapılmasının riskli olduğu ve akciğerdeki lezyonların cerrahi rezeksiyona uygun olmadığı (bilateral alveolar ya da multifokal) hastalarda bronkoskopi tercih edilir (14). Kültürün dezavantajı duyarlılığın düşük olması ve geç sonuç vermesidir (15).

Galaktomannan-Enzim immünoassay (GM-EIA), (1,3)-*beta*-D-glukan (BDG) ve nükleik asit testleri kullanılan kültür dışı testlerdir. Serolojik yöntemlerin içinde en sık kullanılan, serum ve bronkoalveolar lavajda (BAL) galaktomannan antijeninin enzim immünoassay ile tespiti. Hematolojik maligniteli hastalarda ve hematopoetik kök hücre nakli (HSCT) alıcılarında, GM-EIA serum duyarlılığı %70-82, özgüllüğü %81-92; bronkoalveolar lavajda duyarlılığı %73-100, özgüllüğü %68-92 olarak gösterilmiştir (16). Leeflang ve ark.'nın yaptığı bir metaanalizde GM-EIA optik yoğunluk indeksi (ODI) sınır değeri ≥ 0.5 alındığında testin duyarlılığının %82 (%73-90), özgüllüğünün %81 (%72-90) olduğu görülmüştür (17). Profilaktik ya da ampirik

küf etkili antifungal kullanımının yanlış negatif test sonuçlarına; diğer taraftan piperasilin&tazobaktam, amoksisilin&klavulanik asit kullanımı, ciddi mukozit ve ciddi gastrointestinal *graft-versus-host* hastalığının yanlış pozitif test sonuçlarına neden olabildiği bilinmektedir (18, 19). GM-EIA testinde *Aspergillus* dışı mantarlar ile çapraz reaksiyon görülebilmektedir, ancak bu mantar türleri insanlarda çok nadir enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (20). GM antijen testi kemoterapi sonrasındaki nötropeni dönemi boyunca haftada bir-iki kez kanda ve gerektiğinde solunum örneklerinde bakılmalıdır. İA tanısında kullanılan diğer bir serolojik test olan BDG *Aspergillus*'a özgü olmayan panfungal bir testtir, oldukça pahalıdır. *Aspergillus* spesifik polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi 2019'da revize edilen Avrupa Kanseri Araştırma ve Tedavi Kurumu / İnvaziv Mantar Enfeksiyonları İş Birliği Grubu ve Ulusal Alerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü Mikozi Çalışma Grubu (*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/MSGERC) ile invaziv mantar hastalığı için uzlaşma tanımlarına dahil edilmiştir (21). Bu testlerin klinik faydasını sınırlayan en önemli faktörler çoğu sağlık kurumunun bu testlere erişiminin olmaması ve testlerin sonuç sürelerinin uzun olmasıdır.

İA tanısında son zamanlarda kullanıma sunulan iki immünokromatografik '*point of care*' diğer bir ifadeyle 'anlık tanı testi' vardır: antijenik mannoproteinleri tespit eden 'OLM™ *Aspergillus lateral flow device*' (AspLFD) ve galaktomannan temelli 'IMMY Sona *Aspergillus lateral flow assay*' (LFA). AspLFD, büyüme sırasında *Aspergillus fumigatus* tarafından salgılanan bir hücre dışı glikoproteini saptar. Bu test antijen tespiti için fare monoklonal JF5 antikoru kullanmaktadır (22). IMMY sona *Aspergillus* LFA ise serum ve BAL numunelerinde *Aspergillus* galaktomannanı tespit eden sandviç bir test sistemidir. GM varlığının tespiti için iki monoklonal antikor (MAb) karışımı kullanır. Bunlardan ilki Platelia GM-EIA'da kullanılan EB-A2 ile benzer bir GM epitopuna bağlanan ME-A5 MAb iken ikincisi açıklanmayan bir monoklonal antikordur ve bu Mab, GM-EIA tarafından yakalanamayan diğer GM epitoplarını tespit edebilir (23, 24). *Aspergillus* GM-LFA,

bir saatten az sürede sonuç vermesi ve basit çalışma yöntemi ile anlık tanı testi olmaya güçlü bir adaydır.

Mercier ve ark. tek merkezli bir çalışmada İA tanısında LFA, LFD ve BDG testlerinin performansını karşılaştırmıştır. Hematolojik maligniteye sahip 239 hastanın yer aldığı çalışmada, EORTC/MSG kriterlerine göre hastaların 41'i *proven* (kanıtlanmış) ve *probable* (yüksek olasılıklı) İA iken, 188 hastada İA gösterilmemiştir. Hastaların serum örneklerinde LFA, LFD ve BDG testlerinin duyarlılıkları sırasıyla %49 (%33-65), %24 (%12-40) ve %27 (%14-43) ve özgüllükleri %95 (%91-98), %89 (%84-93) ve %98 (%95-100) bulunmuştur (25). Retrospektif bir vaka kontrol çalışmasında ise %82'si hematolojik maligniteli olmak üzere 136 hasta çalışmaya dahil edilmiş, bu hastalardan 179 serum örneği alınmıştır. Hastaların 27'si *proven/probable* İA, 4'ü *probable* IFI, biri kronik İA grubunda, 100 hasta ise kontrol grubunda yer almıştır. ODI 0.5 alındığında LFA duyarlılığı %96.9 (%94.3–99.5), özgüllüğü %98.0 (%93.0–99.5), pozitif prediktif değeri (PPV) %93.9 (%80.4–98.3) ve negatif prediktif değeri (NPV) %99.0 (%94.5–99.8) olarak bulunmuştur (24). Çok merkezli, 104 hematoloji hastasının (35'i *proven/probable* İA, 28 İA şüphesi olmayan vaka) çalışmaya dahil edildiği bir kohortta, hastalardan BAL örneği alınmıştır. ODI 0.5 ve 1.0 alındığında LFA duyarlılığı sırasıyla %89 ve %80, özgüllüğü ise %54 ve %89 bulunmuştur (26).

Tanı ve tedavideki gelişmelere rağmen İA yüksek mortaliteye sahiptir. İA mortalitesi hematolojik maligniteli hastalarda %50'nin üstünde iken, kemik iliği nakli hastalarında %90'a ulaşmaktadır (27-29). Aspergilloz vaka-fatalite oranının araştırıldığı bir sistemik derlemede, kemik iliği nakli olan hastalar %86.7 ile en yüksek orana sahipken; lösemi ve lenfoma tanılı hastalarda oran %49.3 olarak bulunmuştur (29). Hematolojik maligniteli 464 hasta ile kemik iliği nakli olan 268 hastanın dahil edildiği prospektif bir çalışmada, İA tanısı sonrası tedavi altında 12 haftalık sağ kalıma bakılmıştır. Hematolojik maligniteye sahip, allojenik ve otolog kemik iliği olan hastaların sağ kalımları sırasıyla %59.6, %59.7 ve %71.3 bulunmuştur (30). Antifungal tedaviye yanıt, hastanın immün yanıtına, enfeksiyon bölgesine ve tanı alma

süresine bağlıdır. Tanısal değerlendirme yapılırken kuvvetli İA şüphesi doğduğunda antifungal tedavinin erken başlanması önerilmektedir (31).

Hematoloji kliniklerinde İA kesin tanısının konulmasındaki güçlükten dolayı, şüphe durumunda antifungal tedavi ampirik olarak başlanmaktadır. Bu yaklaşım gereksiz antifungal kullanımına, ciddi yan etki ve ilaç-ilaç etkileşimine yol açmaktadır. İA tanısında hızlı, ucuz ve güvenilir tarama ve tanı testlerine ihtiyaç vardır. *Aspergillus* GM-LFA, hızlı sonuç vermesi, basit çalışma yöntemi, diğer tetkiklere göre daha ekonomik olması nedeniyle anlık tanı testi olarak kullanılmaya adaydır. Literatürde serum GM-LFA testinin duyarlılık, özgüllük ve kesim değerini belirlemeye yönelik az sayıda çalışma vardır. Aralık 2019-Aralık 2021 tarihleri arasında gerçekleştirilen, prospektif, çok merkezli çalışmamızda hematolojik malignite tanılı hastalarda *Aspergillus* GM-LFA'nın İA tanısına yönelik etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Aspergillus* türleri ve özellikleri

2.1.1. Tarihçe ve *Aspergillus* türlerinin taksonomisi

Aspergillus cinsi ilk olarak Floransa’da rahip ve biyolog olan Pier Antonio Micheli tarafından 1729 yılında tanımlandı. Micheli, bir besiyerinde yetiştirilen mantar sporlarının, aynı tür mantarın ortaya çıkmasını sağladığını göstererek abiyojenez (kendiliğinden varoluş, spontan jenerasyon) fikrine karşı çıktı. Mantarın şeklini kutsal su serpmek için kullanılan ucu topuzlu çubuk olan ‘aspergillum’a benzetmesi nedeniyle *Aspergillus* adını verdi (32). 1768’de Von Haller *Aspergillus* cinsini doğruladı, 1832’de Fries jenerik ismi onaylandı (33). 1856’da Virchow tarafından *Aspergillus*’un insanlarda hastalık etkeni olduğu tanımlandı. Mikroorganizmanın ilk tam mikroskopik betimlemesini yapan da Virchow’du (34). *Aspergillus* cinsi içinde en önemli patojen olan *Aspergillus fumigatus* Georg W. Fresenius tarafından 1863’de bir kuş akciğerinde tanımlandı (35). Mackenzie, 1893’de ilk paranazal sinüs mikoz vakasını yayınladı (36). Rankin’in 1953 yılında yayınladığı vakada kloramfenikol tedavisi sonrası agranülositoz gelişen hastanın postmortem akciğer ve böbrek patolojisinde *Aspergillus fumigatus* benzeri yapılar görülmesi ile ilk defa İA tanımlandı (37).

Thom ve Church 1926’da *Aspergillus* hakkındaki tüm bilgileri bir monografide toplayarak, 69 *Aspergillus* türünü 11 grupta sınıflandırdı. 1965 yılında Raper ve Fennell, yeni türler ekleyerek 151 *Aspergillus* türü tanımladı ve bu türleri 18 grupta sınıflandırdı (38). Mevcut sınıflandırma şemasında ‘grup’ ifadesi Uluslararası Botanik Adlandırma Kodu’nun (*International Code of Botanical Nomenclature*) kurallarına uymak için ‘bölüm’ ile değiştirildi (39). Gams ve arkadaşları tarafından 1985’de *Aspergillus* 18 bölüme ayrılarak, bu bölümler 6 alt cins içinde organize edildi. (40). Fenotipe bağlı sınıflandırmada yavaş sporülasyon ve anormal konidiofor oluşumu nedeniyle birçok zorluk yaşanmaktadır. Fenotipik yöntemler tek tek türleri tanımlamak yerine, bir bölüm içindeki *Aspergillus* izolatlarını tanımladığı için,

izolatların bir "tür kompleksinin" üyeleri olarak rapor edilmesi önerilmektedir (39). Patojenik mantarları karakterize etmek için moleküler tekniklerin kullanılmasıyla son zamanlarda *Aspergillaceae* familyasında farklı araştırmacılar tarafından alt cinsler ve bölümler tanımlanmıştır. 2008'de Peterson, bir multigen filogeni kullanarak *Aspergillus*'ta 5 alt cins (*Aspergillus*, *Circumdati*, *Fumigati*, *Nidulantes* ve *Ornati*) ve 16 bölüm tanımladı (41). Patojenik mantarları karakterize etmek için moleküler tekniklerin kullanılmasının yaygınlaşması ile aspergilli, 8 alt cins içinde (*Aspergillus*, *Fumigati*, *Circumdati*, *Candidi*, *Terrei*, *Nidulante*, *Warcupi* ve *Ornati*) 250'den fazla türe ayrılmıştır (12).

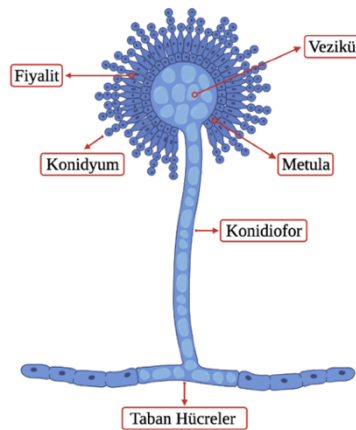
Aspergillus cinsinin infracins sınıflandırması geleneksel olarak morfolojik karakterlere dayanmaktadır. Türleri karakterize etmek için kullanılan koloni karakterleri arasında koloni büyüme oranları, sporülasyon derecesi, miçel renkleri, çözünür pigmentler, eksüdalar ve *Hülle* hücreleri bulunur. Konidioforların şekilleri, askospor boyutları ve morfolojisi de tanımlamada önemlidir. Besiyeri, inokulasyon tekniği ve inkübasyon koşulları da *Aspergillus* morfolojisini etkilemektedir (33).

Mantar terminolojisinde eşeyli üreme aşaması 'teleomorf', eşeysiz üreme aşaması 'anamorf' olarak adlandırılır. *Aspergillus* türlerinin çoğu aseksüeldir (anamorf) ve bunlar Deuteromycota filumunda yer alır (38). Aseksüel üreme yanında askospor oluşumu ile seksüel (teleomorf) üremeye de sahip olan türler Eurotiales takımı, Eurotiomycetes sınıfı, Trichocomaceae ailesi, Ascomycota filumunda yer almaktadır (42). Patojenik seksüel üremeye sahip türlerden bazıları *Aspergillus nidulans*, *A. amstelodami*, *A. udagawa* ve en sık karşılaşılan patojen *Aspergillus* türü olan *A. fumigatus*'tur (43).

2.1.2. Mikoloji

Mantarların üreme süreci mikolojide hala tam aydınlatılamamış bir alandır. Modern moleküler genetik tekniklerin uygulanması ile 'mantarlardaki cinsellik' araştırmalarında önemli yol alınmıştır. Bu ilerlemenin büyük kısmı, *Aspergillus* türlerinin incelenmesi ile kat edilmiştir.

Aspergillus türleri, vegetatif üreme, eşeyli ve eşeysiz sporülasyon olmak üzere çeşitli şekillerde doğada yayılabilirler. *Aspergilli*'lerde eşeyli/eşeysiz gelişim evresinden önce, tek bir konidyumdan (eşeysiz üremede mitoz ile oluşan) ya da bir askospordan (eşeyli üremede mayoz ile oluşan) ortaya çıkan hiflerin vejetatif büyümesi görülür (44). *Aspergillus* hifleri, 3-6 µm çapında, duvarları birbirine paralel, dallanan septumlu yapılardır (44). Dallanma genellikle dar açıdır (~45°). Hiflerin farklılaşması sırasında, hifin bir bölümünün genişlemesi ve hücre duvarının kalınlaşması ile 'L' veya 'T' şeklinde bir ayak hücresi (*foot cell*, taban hücreler) oluşur. Bu taban hücreler, ana vejetatif hiflerdir. Ana vejetatif hif, dokuda veya kültürde havayla temas ettiklerinde aseksüel üreme yapılarına farklılaşabilen konidioforu oluşturur. Konidiofor, ana hife dik açı oluşturacak şekilde septalı ya da septasız şekilde uzar, yaklaşık 100 µm'lik bir uzunluğa ulaşır. Konidioforun apikal ucu genişleyerek yaklaşık 10 µm bir çapa sahip vezikülü oluşturur. Vezikül üzerinden tek sıralı (uniseriat) ya da çift sıralı (biseriat) 'fiyalit' adı verilen yapılar çıkar. Fiyalitler çift sıralı ise, vezikül üzerinde fiyalit taşıyan hücre olan 'metula' üzerinden çıkarlar (45). Fiyalitlerin ucundan, kök hücreler gibi, asimetrik mitotik bölünme ile yuvarlak, 2-5 µm çapında, hidrofobik, mavi-yeşil renkte konidyumlar (konidyospor, konidia) gelişir, bunlar konidyum zincirlerini oluştururlar (Şekil-1). Bir konidiofordan yaklaşık 50.000'den fazla konidyum oluşur (46). *Aspergillus* türlerinin çoğu (yaklaşık %64'ü) bu şekilde eşeysiz çoğalır (47).



Şekil 1. *Aspergillus* türlerinin şematik görünümü
(BioRender web uygulaması kullanılarak çizilmiştir.)

Aspergillus türlerinin yaklaşık üçte birinin eşeyli üreme evresi vardır. Genom dizilerinin analizi ile aslında *Aspergillus* türlerinin çoğunun eşeyli olarak üreyebilmesi gerektiği gösterilmiştir (48). Eşeyli üreyen *Aspergillus* türleri homotalik ya da heterotalik üreme sistemine sahiptir. Homotalik türler hem erkek hem dişi üreme yapılarına sahip olup, uyumlu bir eşle çaprazlanma ihtiyacı olmadan cinsel döngüye girebilir. Heterotalik türler ise eşeyli sporlar üretmek için uyumlu eşe ihtiyaç duyarlar. *Aspergillus* türleri arasında homotalik türler daha fazladır. 2012 yılına kadar 150'den fazla homotalik türe karşılık sadece 12 heterotalik tür rapor edilmiştir (49). *Aspergillus nidulans* homotalik türlere, *A. flavus*, *A. fumigatus* heterotalik türlere örnektir (45).

Eşeyli üreme döngüsünde askus içinde mayoz bölünme ile 4, mayozu takiben miyoz bölünme ile toplamda 8 askospor oluşur. Askuslar, klaystotesya (*cleistothecium/cleistothecia*) olarak adlandırılan çapı 125-200 µm olan kapalı yuvarlak yapıların içindedir (45). Eşeyli üreme evresinde ortaya çıkan *Hülle* hücreleri, cinsel gelişimin önemli bir belirleyicisidir. Aseksüel ya da seksüel üreme evresine girişi çevresel etkenler ve iç sinyaller belirler. *Hülle* hücreleri hem eşeyli hem eşeysiz üremeyi başlatabilir. Ayrıca kök hücreler gibi, özelleşmiş hücrelere ve çok hücreli yapılara farklılaşan yavru hücreler üretme yeteneğine sahiptir (50).

Aspergillus türlerinin tanımlanması, kültür ve morfolojik özellikler ile genotipin kombinasyonuna dayanmaktadır. Aspergilloza neden olan türler, konidyal başın şekli, boyutu, kültürdeki kolonilerin rengi ve termotolarens gibi biyotipik özelliklerle birbirinden ayrılabilir. Biyotip analizi kolonik yapıların karakteristiklerini tanımladığından birkaç gün ile birkaç hafta sürebilir. Genotip analizi ise türde deoksiribonükleik asit (DNA) izolasyonu mümkün olduğunda gerçekleştirilebilir (51). Dahili kopyalanmış aralayıcı (ITS, *internal transcribed spacer*) dizisi, *Aspergillus* bölümlerinin belirlenmesi için kullanılabilir fakat türlerin tanımlanmasında yetersizdir. Ribozomal, kalmodulin, rodlet A ve β -tubulin genlerinin dizilenmesi ile türler birbirinden ayrılabilir (52).

Konidyal başların renkleri *Aspergillus* türlerini ayırt etmekte önemli parametrelerdir. *Aspergillus fumigatus*'un konidyum hücre duvarında 1,8-

dihidroksinaftalen melanin biriktirdiğinden konidyal baş mavi-yeşilimsi renk alır (53). *A. nidulans*'ın konidyal başı da *A. fumigatus*'a benzer yeşil renktedir. Fakat *A. fumigatus* tek sıralı, *A. nidulans* çift sıralı fiyalit yapıya sahiptir (54, 55). Diğer patojenik *Aspergillus* türleri olan *A. flavus*, *A. Terreus* ve *A. niger*'in konidyal başları sırasıyla açık sarı-yeşil, sarı-açık kahverengi ve siyah renklindedir. Konidyumların büyüklükleri de türlerin tanımlanmasında ipuçları verebilir. *A. fumigatus*'un yeşilimsi fiyalitlerinin ucunda 2.5-3 µm konidyumlar bulunur (56). Benzer şekilde *A. terreus* ve *A. nidulans*'ın konidyumları da 1,5-4 µm büyüklüğündedir. *A. niger* ve *A. flavus*'un ise kondiyum boyutu 6-10 µm'ye ulaşabilir (55). Termotolerans bir diğer tür ayırt etmede kullanılabilecek özeliiktir. *A. fumigatus* 50°C'de büyüeyebilirken, Fumigati bölümünde yer alan diğer türler büyüeyemez (57).

Aspergillus fumigatus, en sık invaziv enfeksiyona neden olan *Aspergillus* türüdür. *Aspergillus* enfeksiyonlarının yaklaşık %70'inin nedeni *A. fumigatus* iken, kalan %30'una *A. flavus*, *A. niger* ve *A. terreus* gibi diğer patojenik türler neden olmaktadır (30). Tanısal moleküler yaklaşımlar, konidyal morfolojilerine göre *A. fumigatus* ile benzerlik gösteren en az 11 tür ortaya koymuştur: *A. lentulus*, *A. fumigatiaffinis*, *A. fischeranus*, *A. felis*, *A. pseudofischeri*, *A. udagawae*, *A. viridinutans*, *A. hiratsukae*, *A. novofumigatus*, *A. laciniosa* (51). *Aspergillus fumigatus*'un optimal büyüme sıcaklığı 37°C dir, fakat 12°C ila 65°C arasında değişen sıcaklıklarda hayatta kalabilen termofilik bir türdür (57, 58). Ayrıca 2,1 ile 8,8 pH aralıklarındaki ortamlardan izole edilebilir (59), sıvı nitrojen içinde 18 yıla kadar yaşayabilir (60). Konidyumlar uzun süre dehidrasyonu da tolere edebilir, liyofilize edildiğinde 60 yıldan uzun süre canlı kalabilir (61). *A. fumigatus* genomunda ekstrasellüler proteinazları ve glikozilhidrolazları kodlayan çok sayıda gen tanımlanmıştır. *A. fumigatus*, bitki hücrelerinin hücre duvarlarındaki polisakkaridleri parçalar ve proteinli substratların bozunmasıyla nitrojen elde eder, bu şekilde büyümesini destekler (62). *A. fumigatus*'ta majör kolaylaştırıcı taşıyıcıları (membrandaki transport proteinleri) kodlayan >100 gen bulunmuştur. Toksik metabolitlerin, *efflux* pompaları ile dışarı atılması, *A. fumigatus*'un doğada yaygın bulunmasına katkı sağlamaktadır (62).

2.1.3. *Aspergillus* türlerinin patojenitesi ve virölans faktörleri

İnvaziv aspergillozda en olası bulaş yolu, *Aspergillus* konidyumlarının solunum yolu ile alınmasıdır. Her konidyal başta binlerce konidyum bulunur ve atmosfere salınan konidyumlar akciğer alveollerine ulaşabilecek kadar küçüktür. Konidyumlar yine küçük boyutları sayesinde iç ve dış mekanlarda havada asılı olarak kalabilir (56). Paranasal sinüs ve akciğer haricinde *Aspergillus* nadir de olsa cerrahi yaralar ve kontamine intravenöz kateterler yolu ile lokal doku invazyonu yapar ve cilt enfeksiyonlarına neden olur (63).

Aspergillus konidyosporları solunduktan sonra, mantar ile konak arasındaki ilk temas noktası genellikle akciğer epitel hücreleridir. Solunum yolu epitel hücreleri *Aspergillus* türlerine karşı anatomik bir bariyer görevi görür, mukosiliyer klirensi destekler. Hava yolu epitel hücrelerindeki *Toll*-benzeri reseptörler (özellikle TLR-2 ve TLR-6) ile konidyum arasındaki etkileşim sonucunda, epitel hücreler konidyumu endositoz yoluyla alır ve antimikrobiyal peptitler ile öldürür (64). Ayrıca konidyum ile temas, organizmayı içine alan psödopodların oluşumu için akciğerdeki tip 2 pnömositleri indükler. Bu psödopodların oluşumu, konakçı hücre mikrofilamentleri ve mikrotübüllerinin organizasyonu ile gerçekleşir (65). Bu savunmadan kaçan konidyumlar, fagositik konak savunmasının ilk öncüleri olan alveolar makrofajlar tarafından fagosit edilir. Enfeksiyon bölgesine daha sonra nötrofiller ve monositler gelir.

Konidyumun epitel hücrelerine girişinin ardından, konidyumdan hifaya dönüşüm olur (germinasyon, çimlenme). Hifal yapıya dönüşümden sonra nötrofiller, invaziv form olan hiflere karşı temel savunmadır. *Aspergillus* sporları son olarak akciğer endotel hücrelerinin abluminal tarafından luminal tarafına geçer ve vasküler endoteliumu istila eder (66). Vasküler invazyon, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını ve koagülasyon kaskadının aktivasyonunu indükler, bu da intravasküler tromboz ve doku iskemisi ile sonuçlanır (67). Enfekte dokunun sekestrasyonu, savunma hücrelerinin ve antifungal ilaçların enfekte bölgeye iletimini sınırlayabilir.

Bağıklık sistemi baskılanmış hastalarda, anjiointvazyon ardından hifal fragmanlar hematojen olarak derin organlara yayılabilir (68).

Aspergillus fumigatus, konak canlıda maruz kalabileceği düşük oksijen, pH ve sıcaklık değişimleri gibi olumsuz koşullara karşı bazı mekanizmalar geliştirmiştir. Aerobik solunum yapan *A. fumigatus*, toprakta ve konak akciğerinde düşük oksijen konsantrasyonları ile karşılaşır. Ayrıca konakta anjiogenezi inhibe etmesi ve inflamatuvar yanıtın sürekli aktivasyonu yolu ile pulmoner dokunun kollateral hasara uğraması, pulmoner hipoksiye katkıda bulunur. Mantarın hipoksiye adaptasyonunu sağlayan tanımlanan transkripsiyon faktörü, sterol regülatör element bağlayıcı proteinleri (SREBPs)'dir. SREBPs, hipoksi ve demirden fakir ortamlarda indüklenir; demir alımını, ergosterol ve siderofor biosentezinde yer alan genleri düzenler (69). Siderofor yetersiz demir olan ortamlarda üremeye olanak sağlar. Hipoksi, hücre duvarındaki β -(1,3)-glukan ve kitinde artma ile α -(1,3)-glukanlarda azalmayla ilişkili bulunmuştur (70). *A. fumigatus*, asidik ve alkali pH'ta yaşayabildiğinden pH değişikliklerine karşı çok hassas değildir. *A. fumigatus*'un pH'a duyarlı transkripsiyon faktörü PacC, konak-patojen etkileşiminin hem erken hem de geç fazları sırasında epitel girişi ve doku invazyonunu yönetir (71). *A. fumigatus*'un termofilik olması da virülans özelliklerindendir (72).

Aspergillus fumigatus'un konakçı dokuya adezyonu, kolonizasyonu, invazyonunu kolaylaştıran ve konakçı immün yanıtı kaçıması sağlayan virülans faktörler tanımlanmıştır. *A. fumigatus*'un konak ekstraselüler matriksine adezyon yeteneği, enfeksiyonun başlamasında önemli bir adımdır. Konidyum dolaşımdaki ve bazal membrandaki çeşitli proteinlere bağlanır. Bunlardan bazıları fibrinojen, laminin, kompleman, fibronektin, albümin, immünglobulin ve tip 1 kollajendir (56). *A. fumigatus*'un ürettiği bazı enzimler akciğer kolonizasyonunda ve konak dokuya invazyonda görev alır. Akciğer matriksinin ana elemanları elastin ve kollajen olduğundan enfeksiyonda en önemli rolü elastinolitik ve kollajenolitik aktivitelerin oynaması beklenir. *A. fumigatus* enfeksiyonunda rol alan enzimler katalaz, aspartik proteaz, metalloproteaz, elastaz ve kollajenazdır. Ayrıca fosfolipaz ve ribonükleaz

enzimleri konakçı hücreleri yok eder ve süperoksit dismutaz mantarı antioksidanlara karşı korur (55).

A. fumigatus'un miçelyum hücre duvarının %90'dan fazlasını polisakkaritler oluşturur. Yapısal olanlar dallı bir β -(1,3)-glukan ve β -(1,3)-, β -(1,4)-glukan iken, α -(1,3)-glukan ve galaktozaminogalakтан (GAG) gibi diğer polisakkaritler dolgu görevi görerek fibriler polisakkaritler arasındaki gözenekleri doldurur (73). *A. fumigatus*'un hücre duvarında konak savunmasına karşı koruma sağlayan bazı bileşenleri şunlardır: melanin, α -(1,3)-glukan ve hidrofobinler. Konidyumun dış tabakası, bir rodlet tabakası ile kaplanmış melaninden oluşur. Hidrofobik olan dihidroksinaftalin (DHN) melanin, konidyal hücre duvarının yapısı ve sağlamlığı için önemlidir. Rodlet tabakası, RODA geni tarafından kodlanan hidrofobinlerden oluşur. Rodlet tabakası, konidyumun yüksek sıcaklığa direncini ve konağın bağışıklık sisteminden kaçışını sağlar (72). DHN melanin ve RodAp (hidrofobin), α -(1,3)-glukanlar ile sıkı bir şekilde örtülür. α -(1,3)-glukan hücre duvarının %40'ını oluşturur (73).

Miçelyumun çevresini kaplayan polisakkarit, α 1,4 glikosidik bağı ile bağlanan galaktoz, galaktozamin ve N-asetilgalaktozamin rezidülerinden oluşan, suda çözünmeyen heterojen bir polimer olan bir galaktozaminogalakтанdır (74). GAG, epitel hücrelerine bağlanır ve aktin tünellerinden germ tüplerin geçmesine yardımcı olur (75). GAG ayrıca plastik yüzeylere bağlanmada da önemlidir. Biyofilm oluşumunda yer alan GAG, hiflerin makrofajlara, nötrofillere ve trombositlere bağlanmasını kolaylaştırır (76). GAG'ın tanımlanan immünosupresif özellikleri de vardır. Polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) apoptozunu doğal öldürücü hücreler (NK, *natural killer cells*) aracılı bir mekanizma ile tetikler, PMNL kemotaksisini inhibe eder (74, 77). GAG, hücre duvarı β -glukanlarının dektin-1 tarafından tanınmasını maskeleyerek konakçı inflamatuvar yanıtını baskılar (78).

Aspergillus türleri, aflatoksinler (B1, B2, G1, G2), glikotoksin, okratoksin A, fumonisinler (B2 ve B4), patulin, sterigmatositin, penisilik asit ve sitrinin gibi çeşitli mikotoksinler üretir. Aflatoksinler, özellikle AFB1, hepatotoksik ve hepatokarsinogenik iken; okratoksinler nefrotoksiktir (79). Glikotoksin, makrofaj

fagositozunu inhibe eder ve makrofajın apoptozunu indükler. T ve B hücre aktivasyonunu ve sitotoksik hücrelerin oluşumunu bloke eder (56).

2.1.4. *Aspergillus* türlerine karşı konak defans mekanizmaları

2.1.4.1. Doğal bağışıklık

Solunum epitel dokusu, mantar konidyumları ile ilk temas noktasıdır ve önemli bir etkileşim yüzeyi oluşturur. Solunan *Aspergillus* türlerine karşı anatomik bir bariyer görevi görür. *Aspergillus* sporları mukosiliyer aktivite ile temizlenebilir ve kalanlar epitel hücreleri tarafından alınır.

Mantar ve epitel hücreleri arasındaki etkileşimde taumatin-benzeri protein CalA, Fukoz bağlayıcı lektin (FleA) proteini ve fibrinojen C domain-içeren protein 1 (FIBCD1) gibi birkaç molekül tanımlanmıştır (72). *A. fumigatus*'un hücre duvarının yüzeyinde eksprese edilen taumatin-benzeri protein CalA, epitel ve endotel hücrelerine invazyona aracılık eder. CalA, konak hücrelerin yüzeyindeki integrin $\alpha 5 \beta 1$ ile etkileşime girerek endositozu indükler (80). FleA, *A. fumigatus* tarafından eksprese edilen, fukosillenmiş yapılar için on iki bağlanma bölgesine sahip bir lektindir. FleA proteini, fukoza bağımlı bir şekilde akciğer müsin glikoproteinlerine bağlanır. Ayrıca FleA, makrofaj hücre yüzeyi proteinlerine güçlü bir şekilde bağlanır (81). FIBCD1, bağırsak epiteli, tükürük bezleri, bronşiyal ve alveolar akciğer epitelinde eksprese edilen zara bağlı bir proteindir ve *A. fumigatus* hücre duvarındaki kitine bağlanır. FIBCD1, *A. fumigatus*'un hücre duvarı polisakkaritlerini tanıır, inflamatuvar mediatörleri ve müsinleri baskılayarak akciğer epitelyal inflamatuvar yanıtını modüle eder (82).

Epitel bariyer ile esas olarak alveolar makrofajlar ve nötrofillerden oluşan fagosit hücreler, mantar eradikasyonunda doğal bağışıklığın anahtar elemanlarıdır. Alveolar makrofajlar, inhale edilen sporlara karşı ilk fagositik konak savunmasını yaparlar. Konaktaki patojen tanıma reseptörleri, beta-glukanlar gibi hücre duvarı yapıları ve mikrobiyal DNA ve ribonükleik asit (RNA) gibi spesifik motifleri tanımlar

ve doğal bağışıklığı tetikler. Mantar motiflerini tanımlayan çözünür patojen tanıma reseptörleri arasında *Toll* benzeri reseptörler (TLR'ler), sürfaktan proteinleri A ve D, dektin-1, mannoz bağlayıcı lektin ve pentraksin-3 vardır (11). TLR'ler, interlökin-1 reseptör 1 ile benzer sinyal kaskadını paylaşır ve TLR'lerin aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indükler (83). Mantar hücre duvarının prototip immünstimülatör polisakkariti olan B-glukan, bir patern tanıma reseptörü (*pattern-recognition receptors*, PRRs) olan dektin-1 tarafından tanınır (84). Solunan konidyumlara karşı en önemli doğal bağışıklık cevaplarından biri de proinflamatuvar sitokinlerin sentezidir. İnterlökin-8 (IL), granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör ve proapoptotik faktör tümör nekroz faktörü-alfa bu sitokinlere örnektir (51). Bunların yanında, mukus epitelinin üst tabakasında mantar için sidal olan b-defensinler, SP-A ve SP-D sürfaktan proteinleri ve pentraksin-3-fikolin kompleksleri yer almaktadır (51). Pulmoner sürfaktan proteinleri olan SP-A ve SP-D doğal bağışıklığın patern tanıma molekülleridir. Bu moleküller, makrofajlar ve nötrofiller tarafından *A. fumigatus*'un fagositozunu ve yol edilmesini destekler (85).

Konidyumların hiflere dönüşmesi ile hiflere karşı baskın konak savunmasını nötrofiller üstlenir. Bu nedenle ciddi nötropeni, İA gelişiminde en önemli risk faktörüdür. CXCR kemokinlerinin indüklemesi ile nötrofil kemotaksisi, *Aspergillus* enfeksiyonu kontrolü için önemlidir. Nötrofil kemotaksisi 2 yolla regüle edilir: epitel bağımlı IL1R/MyD88 sinyal yolu ve inflamatuvar monosit aracılı CARD9 sinyal yolu. Nötrofiller, hücre içi konidyumlara ve hücre dışı hifalara karşı reaktif oksijen türlerine (ROS) bağlı öldürme mekanizmalarını kullanır. Nötrofillerde interferon lambda reseptör 1 (IFNLR1) aracılığıyla meydana gelen tip I interferon (IFN) ve tip III IFN sinyali, optimal ROS üretimi için kritik bir yoldur. Optimum ROS üretimi için ayrıca IL-6/IL-23 ve Dektin-2 sinyal yoluyla IL-17A otkrin üretimi gereklidir (72).

Fagositlerdeki indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, aspergilloza karşı konak savunmasında ana mekanizmalardandır. NADPH oksidaz, oksijenin süperoksit anyonuna dönüştürülmesi ve antimikrobiyal aktivitesi olan reaktif oksidan metabolitlerin üretilmesinde görevlidir. Nötrofil NADPH oksidaz, mantar hücre duvarının bileşenleri tarafından aktive edilir. Nötrofiller, makrofaj

fagositozundan kaçan sporları ve hifleri, ROS ve oksidatif olmayan mikrosidal peptidleri kullanarak öldürür (86). Fakat *A. fumigatus*'un ürettiği katalaz ve süperoksidaz dismutaz enzimleri, nötrofillerin oksidatif yolunu nötralize edebilir (86). Kronik granülomatöz hastalık (CGD), fagositlerin reaktif oksidan üretiminin kusurlu olduğu, NADPH oksidaz kompleksinin nadir görülen kalıtsal bir hastalığıdır. Hastalarda tekrarlayan bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar görülebilmektedir ve İA hastaların en önemli mortalite nedenlerindendir (87).

NK hücreler, *Aspergillus* hifalarına karşı IFN- γ aracılı doğrudan sitotoksiste gösterir ve nötropenik hastada konak savunmasında yer alır (88). IFN, fagositlerde oksidatif ve oksidatif olmayan mikrobisidal mekanizmaların aktivasyonu, antijen sunumunun artırılması ve IL-12'nin indüksiyonu ile *T helper1* (Th1) hücrelerinin gelişimini sağlar. Ayrıca IFN- γ , adezyon moleküllerinin indüksiyonu ve bazı lokal mediatörlerin ekspresyonu ile lökositlerin enfeksiyon bölgesine gelişine aracılık eder (89). *Aspergillus*'a karşı savunmada trombositler de yer alır. Konidyal melanin, hidrofobin ve GAG'ın algılanması ile trombositler aktive olur ve inflamatuvar mediyatörlerin salınımı tetiklenir (76).

2.1.4.2. Kazanılmış bağışıklık

Aspergillus'a karşı bağışıklıkta hem CD4 hem de CD8 T hücrelerinin önemli bir rolü vardır. Patojen tanıma reseptörlerinin aktivasyonu, T hücre bağışıklığını hazırlayan antijen sunan hücrelerin (APC) maturasyonunu indükler. IFN- γ , Th1 hücreleri uyarak hücrel bağışıklığa katkı sağlar. Fare modellerinde, bazı sitokinlerin uygulanması yoluyla Th1 yanıtının artması, mantara karşı konak savunmasının güçlenmesi ile ilişkili bulunmuştur (90). Th1 hücreler, fungal hastalıklara karşı güçlü hücrel yanıt oluştururlar ve IL-2, IFN- γ ve IL-12 seviyesinin artışı Th1 cevabına eşlik eder. Th2 cevap ise minimal hücrel yanıt oluşturur; antikor üretimi, IL-4, IL-5 ve IL-10 üretimi ile ilişkilidir (56).

Alerjik bronkopulmoner aspergiloz (ABPA) ve alerjik fungal sinüzit, İA patogenezinin aksine, organizmaya karşı anormal inflamatuvar konak yanıtı ile

ilişkilidir (91). ABPA, *A. fumigatus* antijenlerine karşı Th2 cevabın yönettiği aşırı duyarlılık sonucu gelişir. ABPA, konidyumun bronşlara solunması sonrası alerjik bir inflamatuvar yanıtla başlar. Miçel hücreleri APC tarafından işlenir ve bronkoalveolar lenfoid doku içindeki T hücrelerine sunulmak üzere alerjenleri ortama bırakır (92). Bronşiyal submukozadaki inflamatuvar yanıt, aşırı müsin üretimine, eozinofillerin bronşiyal müsinine ekstrasvazasyonuna, bronş obstrüksiyonuna ve zamanla bazı hastalarda bronşektazi gelişimine yol açar (12). Th2 cevabın baskılanması ile ABPA'nın azaldığı gösterilmiştir (92).

Th17, IL-17 üretimini, spesifik miyelopoietik büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinlerin oluşumunu indükler, bu faktörler enfeksiyon bölgesine nötrofil göçünü destekler. Genel olarak insanda *Aspergillus*'a karşı bağışıklıkta Th17 hücrelerinin kesin bir rolü gösterilmemekle birlikte paradoksal olarak IL-17'nin aspergillozda konak savunmasını bozabildiğine dair çalışmalar vardır (93).

T regülatör hücreler (Treg), deneysel aspergillozda toleransı indükleyerek düzenleyici bir işleve sahiptir. Bu hücrelerdeki bir tahrif, patojenin konak savunmasına üstün gelmesine ya da mantara karşı alerjik yanıtın gelişmesine neden olabilir (94). *Aspergillus* antijenine özgü Treg hücreler, akciğerlerdeki immün homeostazın kritik belirleyicileridir. Kronik granülomatöz hastalıkta kusurlu triptofan katabolizması, *Aspergillus* yanıtında Treg aktivitesinde bozukluğa ve Th17/Treg dengesinin kaybına neden olur (95).

2.2. Epidemiyoloji

Aspergillus türleri, toprakta, suda, gübrede, çürüyen bitkilerde, gıda ve havada olmak üzere hemen hemen her yerde bulunan saprofitik mantarlardır. Doğada karbon ve nitrojen döngüsünde yer alırlar. *Aspergillus* türlerine maruziyet riski hem coğrafi koşullara hem zamana bağlı olarak değişir; yağış, nem, sıcaklık ve rüzgar gibi doğa koşullarından etkilenir (96). *Aspergillus* sporlarının solunum yolu ile alınması en sık giriş yoludur ve sinopulmoner hastalık en sık görülen klinik formdur. Sporlar ile kontamine olmuş ürünlerin solunması ya da tüketilmesi ile de küfe maruz kalınabilir

(97). *Aspergillus* türleri en sık solunum yollarında olmak üzere gastrointestinal sistem, merkezi sinir sistemi, hepatorenal sistem, tiroid dokusu ve ciltte de enfeksiyona neden olabilmektedir (38).

A. fumigatus 'a bağlı akciğer enfeksiyonları, iç ve dış ortamlarda havada 1-100/ m³ arasında değişen konsantrasyonlarda bulunan konidyumların solunması ile meydana gelir. Bazı ortamlara konidyum yoğunluğu m³'te 108'e ulaşabilmektedir (98). Sağlıklı bireyler günlük yaşamda, hava yoluyla alınan *Aspergillus* konidyumlarına sık maruz kalmalarına rağmen nadiren hastalık geliştirirler. *Aspergillus* ile enfekte olmayan hastaların %38-42'sinin balgam örnekleri ve akciğer doku kültürlerinde *Aspergillus* saptanmışken (99, 100), yine sağlıklı gönüllülerin %36.3'ünün BAL örneklerinde *Aspergillus* spp. DNA'sı saptanmıştır (101). Enfeksiyonun belirleyici faktörü, mantar ile temas yoğunluğu değil, hastanın bağışıklık durumudur. Bağışıklığı baskılanmış, nötropenik ya da kortikosteroid gibi pulmoner makrofajların aktivitesini inhibe eden ilaç kullanımı olan hastalarda, *Aspergillus* enfeksiyonuna karşı duyarlılık artmıştır. Kistik fibroz hastalarında bozulmuş mukosilyer aktivite ve hava yollarındaki yoğun mukus nedeni ile *Aspergillus* konidyumlarının atılımı zorlaşır. Kistik fibrozlu hastaların yaklaşık %60'ı *A. fumigatus* ile enfekte ve enfeksiyon varlığı akciğer fonksiyonunun hızlı kötüleşmesi ile ilişkilendirilmiştir (102).

Aspergilloz, konakçının özelliğine göre farklı hastalıklara neden olur. ABPA, kronik kaviter pulmoner aspergilloz (CCPA), aspergilloma ve invaziv aspergilloz *Aspergillus*'un neden olduğu hastalıklardır. Genel olarak ABPA atopik hastalarda, kronik pulmoner aspergilloz normal ya da hafif immünsupresyonu olan hastalarda görülürken, invaziv aspergilloz orta-ciddi immünsupresif hastalarda görülür. Amerika Birleşik Devletleri'nin 1980-1997 arasındaki otopsi raporları incelendiğinde aspergilloz ilişkili ölümlerin sayısı dört kat artmıştır. Artışın bağışıklığı baskılanmış hastaların sayısının artmasının bir yansıması olduğu düşünülmektedir (103).

Uzun süreli ve derin nötropenisi olan hastalar İA için en yüksek risk grubundadır. Allojenik kemik iliği transplantasyonu alıcıları, solid organ

transplantasyonu (SOT) alıcıları, kortikosteroid kullanan hastalar, ileri edinsel immün yetmezlik sendromu (AIDS, *acquired immunodeficiency syndrome*) ve CGD tanılı hastalar, İA için risk altındaki gruplardır. Hematolojik malignite tanılı hastalarda, malignitenin tipine göre farklı derecede risk mevcuttur (104). 1999-2003 yılları arasında İtalya'da 18 hastanenin hematoloji servislerinde yatan 11.802 hematolojik malignite tanılı hastanın dahil edildiği retrospektif kohort çalışmasında, 538 (%4.6) hasta *proven/probable* IFI tanısı almışken, bunların 310'u (%2.6) *Aspergillus* spp. ilişkilidir. Hastalar malignitelerine göre gruplandırıldığında, akut lösemi hastalarının %6.1'i, kronik lösemili hastaların %1.1'i, lenfoma hastalarının %0.6'sı ve multipl miyelom hastalarının %2'si *proven* ya da *probable* İA tanısı almıştır. Akut lösemi hastalarında *Aspergillus* enfeksiyonu ilişkili atfedilebilir mortalite oranı %38.5 iken, kronik lösemide %57.8, lenfomada %53.3, multipl miyelomda %75; tüm hematolojik maligniteli hastalarda ise %41.6 olarak bulunmuştur (104). 2004-2009 yılları arasında yapılan tek merkezli prospektif çalışmada hematoloji servisinde yatan 4073 hasta çalışmaya dahil edilmiş, hastaların 127'sinde (%3.1) *proven/probable* İA tespit edilmiştir. AML hastalarında insidans %4.4 iken ALL hastalarında %2.2; 3 aylık tüm nedenlere bağlı mortalite AML tanılılarda %38, ALL tanılı hastalarda %53 bulunmuştur. Tüm hematolojik maligniteli hastalarda 3 aylık mortalite %42 bulunmuştur (28). Akut lösemi tanılı 4448 hastanın dahil edildiği çok merkezli bir çalışmada 209 vaka *proven/probable* İA olarak tanımlanmış, insidans %4.7, atfedilebilir mortalite oranı %48 bulunmuştur (105). Fransa'da 18 eğitim hastanesinin dahil edildiği prospektif epidemiyoloji çalışmasında, İA insidansı AML hastalarında %8 iken, ALL hastalarında %6.3 bulunmuştur. Çalışmadaki kaba mortalite oranlarına bakıldığında AML hastalarında %64, ALL hastalarında %56 olarak görülmüştür (106). Amerika ve Kanada'da 25 merkezin katıldığı Prospektif Antifungal Tedavi Birliği (PATH, *Prospective Antifungal Therapy Alliance*) çalışmasında *proven/probable* İA tanısı alan 464 hematolojik maligniteli ve 268 KİT (195 allojenik, 73 otolog) yapılan hasta değerlendirilmeye alınmış, 12 haftalık sağ kalım hematolojik malignite hastalarında %59.6, allojenik KİT alıcılarında %59.7 ve otolog KİT alıcılarında %71.3 olarak bulunmuştur (30). Çalışmaya alınan 960 İA tanılı hastadan izole edilen *Aspergillus* türlerine bakıldığında en sık *Aspergillus fumigatus* (%72.6) etken iken, *A. flavus* (%9.9), *A. niger* (%8.7) ve *A. terreus* (%4.3) onu izlemektedir (30). AML tanılı

hastalarda İA en sık, primer indüksiyon kemoterapisinden sonra gelişen nötropeni döneminde, refrakter ya da relaps hastalığı olanlarda görülür. Konsolidasyon tedavisi sırasında İA oldukça az görülmektedir (8, 104).

Fred Hutchinson Kanser Araştırma Merkezi'nde 1985-1999 yılları arasında KİT yapılan 5589 hastanın kayıtlarının derlendiği bir çalışmada, hastaların %7'den fazlasının küf enfeksiyonu olduğu ve bunlar içinde en yaygın olanının *Aspergillus* enfeksiyonu olduğu tespit edilmiştir (107). İtalya'da 11 transplantasyon merkezindeki kemik iliği nakli olan 3228 hastanın dahil edildiği çalışmada, hastalarda gelişen fungal enfeksiyonların insidansı ve sonuçları araştırılmıştır. Hastaların 1249'u allojenik, 1979'u otolog nakilli olup 121 hastada invaziv fungal enfeksiyon gelişmiştir (total insidans %3.7; %2.8 küf, %0.9 maya kaynaklı). Allojenik nakil olan hastaların %7.8, otolog nakillilerin %1.2'sinde IFI görülmüştür, en sık etken *Aspergillus*'tur. *Aspergillus* enfeksiyonu allo-KİT alıcılarında, otolog KİT alıcılarına göre anlamlı olarak daha fazla görülmüştür (%6.3 vs %0.3 $P<0.001$). *Aspergillus* ilişkili mortalite oranı allojenik nakilli hastalarda %77.2, otolog nakilli hastalarda %14.3 bulunmuştur (108). 2010 yılında yayınlanan ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yer alan 23 transplant merkezinin verisini içeren Organ Nakli İlişkili Enfeksiyon Sürveyans Ağı (TRANSNET, *Transplant-Associated Infection Surveillance Network*) veri tabanında 875 KİT alıcısı fungal enfeksiyon açısından değerlendirmeye alınmıştır. Hastalarda 983 IFI tanımlanmış olup, %43'ü İA, %28'i invaziv kandidiyaz olarak tespit edilmiştir. On iki aylık kümülatif IFI insidanslarına bakıldığında IFI sıklığı otolog nakilde %1.2, tam uyumlu allojenik nakilde %5.8, akrabadan uyumsuz nakillerde %8.1 ve uyumlu akraba dışı nakillerde %7.7 bulunmuştur. Enfeksiyon etkenine göre mortalitelere bakıldığında en yüksek mortalite *Fusarium* (%91.7), ikinci sırada *Aspergillus* (%74.6) ilişkilidir (109).

Kemik iliği nakli sonrası IFI gelişimi bazı risk faktörleri ile ilişkilendirilmiştir. KİT tipi, akut/kronik GVHD varlığı, antifungal profilaksi, steroid kullanımı ve sitomegalovirüs (CMV) hastalığının varlığı risk faktörlerinden bazılarıdır (108). Kore'de 6 merkezden 518 allojenik KİT hastası dahil edildiği retrospektif, gözlemsel çalışmada (RISK çalışması) *proven* ve *probable* IFI vakaları irdelenmiştir. IFI

vakalarının 12 aylık kümülatif insidansı, allojenik KİT sonrası erken (0-40.gün), geç (41-100.gün) ve çok geç (101-365.gün) olmak üzere periyotlara ayrılmıştır. *Proven* ve *probable* IFI vakalarının 12 aylık kümülatif insidansı erken periyotta %4.09 iken geç ve çok geç periyotlarda sırasıyla %7.38 ve %15.36 bulunmuştur. IFI vakalarının çoğunluğunda etken *Aspergillus* türleridir (%87.3), en sık tutulan organ akciğerdir (%83.1). Erken periyotta görülen IFI ile ilişkilendirilen nedenler; altta yatan akciğer hastalığı, kronik hastalıklar, uzamış nötropeni ve akraba dışı/aile içi uyumsuz donörden nakildir. Geç periyot ile ilişkilendirilenler kemik iliği transplantasyon prosedürü sırasında yüksek ferritin seviyesi, refrakter GVHD'e bağlı ikincil immünsupresif ajanların kullanımı ve CMV reaktivasyonu iken çok geç periyotta ise sekonder nötropeni, şiddetli kronik GVHD ve refrakter GVHD için TNF-alfa inhibitörünün kullanılması IFI risk faktörleridir (110).

Allojenik kemik iliği nakli uygulanan hastalarda *Aspergillus* için erken ve geç olmak üzere riskli 2 periyot tanımlanmıştır. En yüksek insidanslar transplant sonrası 40. günden önce ve 100. günden sonradır. Erken dönemde risk nötropeni nedeniyle, geç dönemde GVHD nedenlidir. TRANSNET çalışmasında İA tanısına kadar geçen ortalama süre 99 gün olarak bulunmuştur (109). Wald ve ark.'nın çalışmasında ise bimodal dağılımın ortalama günleri transplant sonrası 16. ve 96. günler olarak bulunmuştur (6). Nakilden sonraki ilk 40 günde enfekte olan hastaların risk faktörleri, altta yatan hastalık, donör tipi ve hasta odalarında laminar hava akımı olmaması olarak tanımlanmışken; 40 günden sonrasında gelişenler için altta yatan hastalık ve donör tipinin yanında GVHD, nötropeni, kortikosteroid kullanımı *Aspergillus* riskini artıran önemli faktörler olarak bulunmuştur (6). Allo-KİT alıcılarında GVHD sırasında görülen İA sıklığı, nötropenik dönemde görülen İA'ya göre daha sıktır. Bu durum GVHD ciddiyeti, immünsupresif tedavinin yoğunluğu, metabolik anormallikler, yüksek dozlarda kortikosteroid kullanımı, diğer komorbiditeler ve CMV koenfeksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (111, 112). TRANSNET çalışmasında İA gelişen KİT alıcılarında mortaliteyi etkileyen faktörler araştırılmış, yapılan çok değişkenli lojistik regresyon analizinde renal yetmezlik, karaciğer yetmezliği, erken başlangıçlı İA (<30 gün), kanıtlanmış İA ve metilprednizolon kullanımı mortalite ile ilişkili bulunmuştur (113).

Solid organ naklinde akciğer transplantasyonu başta olma üzere kalp-akciğer, ince bağırsak ve karaciğer nakli, İA gelişimi için yüksek risk taşımaktadır (72). Akciğer nakli hastalarındaki risk, akciğerlerin sürekli çevre ile yakın maruziyeti, buna bağlı olarak nakledilen ve/veya doğal akciğerde *Aspergillus* kolonizasyonu olması ile ilişkili düşünülebilir. Akciğer nakli alıcılarının havayollarından alınan kültürlerinde yaklaşık %25-30'unda *Aspergillus* türleri tespit edilmiştir (114). İA ise hastaların ~%6'sında (%3-15) görülmüştür. Bu enfeksiyonların %58'i trakeobronşit veya bronşiyal anastomoz enfeksiyonları iken %32'si İPA ve %22'si akciğer dışı tutulumu olan dissemine enfeksiyonlardır (115).

Solid organ nakli alıcılarında İA gelişme süresi, nakilden sonra ortalama >180 gündür ve geç başlangıçlı İA allograft reddini tedavi etmek için verilen yoğun immüsupresyon ile ilişkilendirilmiştir (116). İspanya'da 11 hastaneden 11.104 solid organ alıcısının dahil edildiği retrospektif vaka kontrol çalışmasında, 156 vakaya *proven/probable* İA tanısı konulmuş ve bu hastaların risk faktörleri değerlendirilmiştir. İA tanısı alan hastaların %57'si nakilden sonraki ilk 3 ayda (erken dönem) enfekte olmuştur. Bu gruptaki risk faktörü analizinde tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, CMV hastalığı, böbrek yetmezliği veya diyaliz ihtiyacı ön plana çıkmıştır. Geç başlangıçlı İA olan hastalarda ise tanımlanan risk faktörleri ileri yaş, kronik organ reddi ya da allograft disfonksiyonu nedeni ile hastaların aşırı bağışıklığının baskılanması ve transplant sonrası böbrek yetmezliğidir (117). TRANSNET çalışmasına dahil edilen solid organ nakli hastalarında 12 aylık kümülatif İA insidansı %0.63 iken tüm nedenlere bağlı 12 haftalık mortalite %34.4 bulunmuştur. Aynı çalışmada İA gelişen solid organ alıcılarında yapılan çok değişkenli lojistik regresyon analizinde mortaliteyi artıran faktörler karaciğer yetmezliği, malnütrisyon ve santral sinir sistemi enfeksiyonu olarak bulunmuştur (113).

İPA, düşük riskli gruplarda da artan sayılarda tanımlanmaktadır. Özellikle dikkat edilmesi gereken hasta grupları; Bruton tirozin kinaz (BTK), ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) ve JAK/STAT sinyal yolağını hedefleyen küçük moleküllü kinaz inhibitörleri (SMKIs) alan lenfoid orijinli malignitesi olan hastalar, kimerik antijen reseptör T hücreleri (CAR-T hücreleri) ile immünoterapiyi takiben

sitokin fırtınası geliştiren ve tedavisinde yüksek doz kortikosteroid alan hastalardır (72). İnfliksimab, etanercept, adalimumab gibi tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) antagonistleri alan hastalar ve ciddi influenza ile yoğun bakım yatışı yapılan hastalar İA açısından risk altındaki gruptandır (118, 119).

Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) enfeksiyonu İPA için önemli bir risk faktörüdür. COVID-19 pandemisi sırasında şiddetli enfeksiyonu olan ve/veya yoğun bakımda takip edilen COVID hastalarında İPA sıklığındaki artış gözlenmiş ve COVID-19 ilişkili pulmoner aspergilloz (CAPA) tanımlanmıştır (120). Yapılan araştırmalarda CAPA insidansı %19.6-%33.3 olarak bulunmuştur (121). Çok merkezli ve prospektif bir araştırmada, mekanik ventilasyon uygulanan mikrobiyolojik olarak doğrulanmış COVID-19 enfeksiyonu olan yetişkin hastalarda CAPA insidansı ve mortaliteye etkisi değerlendirilmiştir. Muhtemel CAPA hastaların %27.7'sinde tespit edilmiş ve hastalar yoğun bakım yatışlarının ortanca 4.gününde tanı almışlardır. CAPA tanısı alan hastaların 30-günlük mortalitesi, pulmoner aspergilloz düşünülmeyen COVID hastaları ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksekti (%44 vs %19 $P=0.002$) (122).

İnvaziv küf hastalıkları toplum kaynaklı olabildiği gibi nozokomiyal de olabilmektedir. Hastaneye yatıştan 7 gün sonra hastanın semptomları başladığında, invaziv küf hastalığının hastane kaynaklı olma olasılığı daha yüksektir (123). Fakat nozokomiyal aspergillozun, toplum kaynaklı aspergillozdan ayrımı her zaman mümkün değildir. Tanımlanmış bir çevresel kaynağa sahip bir salgın veya mantar izolatlarının kümelenmesini gösteren moleküler analiz nozokomiyal aspergillozu ayırt etmeyi sağlayabilir (124). İnvaziv küf enfeksiyonu vakalarının çoğu sporadiktir, fakat özellikle hastane çevresinde inşaat varlığının enfeksiyon sıklığını artırdığı iyi bilinmektedir (125).

2.3. Klinik Tablolar ve Semptomlar

2.3.1. Aspergillus ilişkili invaziv olmayan sendromlar

Aspergillus türleri, atopik hastalarda ve kistik fibroz hastalarında alerjik bronkopulmoner aspergilloza (ABPA), kronik akciğer hastalığı ve hafif immüsupresyonu olan hastalarda ‘aspergilloma’ olarak adlandırılan mantar topuna ya da kronik pulmoner aspergilloza (CPA) neden olmaktadır. Aspergilloma ve *Aspergillus* nodülleri, kronik pulmoner aspergillozun daha az ciddi formlarıdır. Kronik kaviter pulmoner aspergilloz, kronik fibrozan pulmoner aspergilloz ve subakut invaziv pulmoner aspergilloz, kronik pulmoner aspergillozun diğer alt formlarıdır (126, 127). Kronik kaviter aspergilloz sessiz ilerler ve tedavisiz kaldığında kronik fibrozan pulmoner aspergilloza dönüşür.

2.3.1.1. Alerjik bronkopulmoner aspergilloz

Atopik hastalarda görülen en şiddetli aspergilloz formu olan alerjik bronkopulmoner aspergilloz, *A. fumigatus* ile ilişkili olan akciğerin aşırı duyarlılık hastalığıdır (128). ABPA, kötü kontrollü astım hastalarının %7-14’ünde, kistik fibrozlu hastaların %7-9’unda meydana gelen ciddi Th2 aracılı alerjik bir hastalıktır (72). Solunan konidyumlar doğal bağışıklık sisteminden kaçtıktan sonra Th2 CD4+ T hücreleri, immünoglobülin (Ig) E aracılı Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonunu ve IgG aracılı Tip III aşırı duyarlılık reaksiyonunu tetikler (129). Bunlar *Aspergillus* sensitizasyonu ile sonlanan inflamatuvar sitokinleri aktive eder (126). Bronşiyal hava yollarında kolonize olan *Aspergillus* hifleri, tekrarlayan inflamasyona neden olur, geçici pulmoner infiltrat gelişen hastalarda uzun süreçte santral bronşektaziler görülebilir. ABPA semptomları düşük dereceli ateş, yorgunluk, öksürük, balgam iken kanda eozinofili ve balgamda eozinofil görülür. Kistik fibrozlu hastalarda bunların yanında pnömotoraksa bağlı akciğer kollapsı ile hemoptizi görülebilir (128).

Balgam kültüründe *Aspergillus* üremesi ya da *Aspergillus* uyumlu hiflerin görülmesi ve balgamda dejenere eozinofillerin (Charcot-Leyden kristalleri) görülmesi

tanıya yardımcı olabilir (130). *Aspergillus*'a özgü IgE, ABPA için en iyi tarama testidir, >0.35 kUA/L değerinde %100 duyarlılığa sahiptir (131). ABPA ile uyumlu akciğer tomografi bulguları geçici veya kalıcı olabilir. Geçici olanlar konsolidasyon, nodül ve opasiteler, kalıcı olanlar ise bronşektazi ve plöropulmoner fibrozistir (128). Toraks tomografisinde ayrıca mukus tıkaçı olmaksızın bronşiyal kalınlaşmayı gösteren “halka işareti” ve normal bronшта görülen daralmanın aksine bronşektaziyi düşündüren “paralel çizgiler” veya “tramvay izleri” geç bulgulardır (132).

ABPA’da tanıda kullanılması için güncel kriterler Agarwal ve ark. tarafından önerilmiştir. Bronşiyal astım ya da kistik fibroz gibi ABPA’ya yatkınlık oluşturacak hastalığı olanlarda ABPA tanısı için olması zorunlu 2 kriter vardır: (i) tip I *Aspergillus* cilt testinin pozitif olması (*Aspergillus* antijenine karşı ani kutanöz aşırı duyarlılık) veya *A. fumigatus*'a karşı yüksek IgE seviyeleri, (ii) toplam IgE seviyesinin yüksek olması (>1000 IU/mL). Ek olarak aşağıda belirtilen 3 kriterden en az ikisi pozitif olmalıdır: (i) serumda *A. fumigatus*'a karşı presipite edici veya IgG antikorlarının varlığı, (ii) ABPA ile uyumlu radyografik pulmoner opasiteler, (iii) steroid kullanımı olmayan hastalarda toplam eozinofil sayısının > 500 hücre/ μ L olması (128).

ABPA’da tedavinin amacı inflamasyon ve hipersensivite cevabının baskılanması, akut astım semptomlarının azaltılması ve son dönem fibrozisin engellenmesidir (133). Sistemik glukokortikoid, ABPA’da temel tedavidir. Akut hastalıkta, prednizolon 2 hafta boyunca 0.5 mg/kg/gün verilmek üzere başlanır, sonrasında taper edilerek total tedavi 3-5 aya tamamlanır (91). Glukokortikoid tedavisine cevap vermeyen, tekrarlayan alevlenmeleri olan ve alevlenme olmaksızın glukokortikoid dozu azaltılamayan hastalarda özellikle itrakonazol olmak üzere küf etkili antifungal tedaviler yararlı olabilir. On üç merkezin katıldığı çift kör, plasebo kontrollü çalışmada itrakonazol verilen grupta günlük kortikosteroid kullanımının önemli ölçüde azaldığı, IgE düzeylerinin düştüğü, egzersiz toleransının ve solunum fonksiyonunun iyileştiği gözlenmiştir (134). Vorikonazol ve posakonazol kullanımı ile ilgili kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.3.1.2. Aspergilloma

Aspergilloma (mantar topu), eski tüberküloz kaviteleri ile sarkoidoz, büllöz amfizem, histoplazmoz, konjenital kist, bakteriyel akciğer apsesi, ankilozan spondilitin akciğer tutulumuna bağlı gelişen kavite içinde ve çok nadir AIDS hastalarında *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi (PCP) ile ortaya çıkan pulmoner blebler içinde oluşur (13, 135). Gelişmekte olan ülkelerde tüberküloz, aspergillom vakaların %90'dan fazlasında predispozan faktördür (72).

Komplike olmayan aspergilloma, immün sistemi baskılanmamış bir hastada mantar topu içeren tek bir akciğer boşluğu olarak tanımlanır. Hastaların semptomu yoktur ya da minimaldir, *Aspergillus* spp.'nin mikrobiyolojik veya serolojik kanıtları vardır ve radyolojide son 3 ay içinde progresyon gözlenmez (136). Mantar topu hem ölü hem de canlı fungal yapılardan, inflamatuvar hücrelerden, fibrin, mukus, kan ve epitel hücrelerinden oluşur. Miçel, kavite içinde serbest olarak bulunabilir veya kavite duvarına yapışık olabilir (13). *Aspergillus fumigatus* en sık etkindir. Toraks bilgisayarlı tomografisinde (BT) mantar topu tipik olarak akciğerlerin üst loblarında “hava-hilal” işaretiyle kendini belli eder. Bu görüntü, mantar topunun kavite duvarından ayrılarak hava boşluğu oluşturması ile olur. Bu boşluk aynı zamanda kitlenin vücut pozisyon değişiklikleri ile hareket etmesine neden olur (137). Aspergillom dışında anjioinvaziv ve kronik nekrotizan aspergillozda da hava hilal işareti görülebilir. Hastaların toraks görüntülemelerinde bulgular anjiyo-invaziv formda birkaç gün içinde ve kronik nekrotizan formda ise birkaç hafta veya ay içinde ortaya çıkar (138). Toraks BT’de mantar topu görülmesi yanında balgam kültürlerinde *Aspergillus* üremesi de tanıda yardımcıdır.

Mantar topu birçok hastada asemptomatiktir, fakat hastaların yaklaşık %75’inde hafif, kendini sınırlayan hemoptizi görülebilir (139). Hastaların %25’inde hayatı tehdit edici masif hemoptizi görülebilir (140). Vakalarının çoğunda aspergillom stabil kalır, bazılarında boyutları küçülebilir, nadiren boyut artışı gösterebilir ve vakaların yaklaşık %10’unda kendiliğinden düzelebilir (141). Tek aspergilloması olan ve 6-24 ay boyunca kavite boyutunda ilerleme olmayan asemptomatik hastalar

izlenmeye devam edilmelidir. Belirgin hemoptizisi olan hastalarda optimal tedavi, konvansiyonel ya da video yardımlı göğüs cerrahisi prosedürü (VATS) ile cerrahi rezeksiyondur (142, 143). Cerrahi öncesi solunum rezervinin yeterliliği değerlendirilir ve antitrombotik ilaç kullanımına en az 4 gün ara verilmesi önerilir. Preoperatif bronşiyal arter embolizasyonu, belirgin hemoptizisi olan hastaların cerrahi öncesi stabilize edilmesini sağlar. Aspergilloma tedavisinde antifungal ilaç kullanımı tartışmalıdır. Ameliyat sırasında kavitenin açılması ve plevral kontaminasyona neden olması muhtemel ise vorikonazol veya mikafungin kullanımı önerilmektedir. Antifungal tedavinin amacı, *Aspergillus* ampiyemini, cerrahi sonrası relapsı ve plevral boşluğa ekilme olduysa progresyonu önlemektir. Operasyondan 2 hafta önce antifungal (genellikle vorikonazol) başlanması ve serum konsantrasyonunun operasyondan önce kontrol edilmesi önerilir (144). Ameliyat sırasında plevral boşluğa dökülme olmazsa antifungal tedavi durdurulabilir (145). Dökülme meydana gelmesi durumunda, plevral boşluğun amfoterisin B deoksikolat veya %2 taurolidin ile yıkanması, *Aspergillus* ampiyemini önlemek için bazı hekimlerin kullandığı bir yöntemdir. Ameliyat sonrası enfeksiyon bulgusu yoksa 4-8 hafta antifungal tedaviye devam önerilir (124, 144). İki ayrı aspergilloması olan hastalarda lokasyon ve solunum rezervine göre bilobar rezeksiyon ya da pnömonektomi yapılması düşünülebilir. Rezeksiyon sonrası nüks takibi, 3 yıl boyunca 4-6 ayda bir periyotlarla *Aspergillus* IgG titreleri, inflamatuvar belirteçler ve yılda bir akciğer grafisi ile yapılır (144).

Aspergillus, sinüslerde de doku invazyonu yapmadan mantar toplarına neden olabilir. Maksiller sinüs, en sık tutulan sinüstdür. Sinüs BT ve endoskopik sinüs cerrahisi ile örnekleme yapılarak tanı konur. Tedavi cerrahi eksizyondur.

2.3.1.3. Kronik pulmoner aspergilloz

Aspergillus türlerinin neden olduğu diğer bir kronik, yavaş seyirli inflamatuvar hastalık da kronik pulmoner aspergillozdur. CPA; basit aspergilloma, *Aspergillus* nodülü, kronik nekrotizan pulmoner aspergilloz, kronik kaviter pulmoner aspergilloz ve kronik fibrotik pulmoner aspergilloz olarak alt sınıflara ayrılan heterojen bir sendromdur (127). *Aspergillus*'un neden olduğu invaziv olmayan hastalıkların tümü

artık kronik pulmoner aspergilloz tanımı altında sınıflandırılmaktadır. Tedavi ve sonuç açısından diğer CPA formlarından farklı olan aspergillomanın, CPA'nın bir alt grubu mu yoksa pulmoner aspergillozun ayrı bir prezentasyonu mu olduğu tartışma konusudur. İPA'nın aksine CPA, haftalar ila aylar arasında değişen bir seyir izler ve vasküler invazyonu veya diğer organlara yayılımı nadirdir.

CPA, geçirilmiş mikobakteriyel akciğer enfeksiyonu, ABPA, sarkoidoz, geçirilmiş pnömotoraks, amfizem, KOAH, pnömokonyoz ve akciğer kanseri gibi akciğer patolojileri olan, uzun süreli steroid kullanımı gerektiren ya da diyabet, renal yetmezlik, alkolizm gibi hafif immün supresyon yapan hastalıklara sahip olan bireylerde görülür (136). Kronik prodüktif öksürük, istemsiz kilo kaybı, nefes darlığı, halsizlik ve hemoptizi CPA semptomlarındandır, ateş ve göğüs ağrısı nadirdir. CPA'nın radyolojisinde basit aspergillomadan farklı olarak kalıcı perikistik akciğer nodülleri, konsolidasyon, buzlu cam opasiteleri, plevral kalınlaşma, perikaviter infiltratlar, bir veya daha çok pulmoner kavite ve kavitenin progresyonu görülebilir (72).

CCPA, eski isimlendirmesi ile kompleks/komplike aspergilloma, yeni ve genişleyen kalın duvarlı kaviterler ile karakterizedir. CCPA kaviterlerinin önemli kısmında mantar topu yoktur. Plevral tutulum, pnömotoraksa veya fistüllere bağlı olarak olabilir, dokuya ya da damara invazyon görülmez (146). Kronik nekrotizan pulmoner aspergilloz (CNPA, semi-invaziv form), genişleyen kalın duvarlı kavite ve lokal doku invazyonu ile karakterizedir, vasküler invazyon beklenmez (147). Bu form aynı zamanda subakut invaziv aspergilloz olarak adlandırılır ve toraks BT de İPA ile karıştırılabilir. Devam eden steroid tedavisi veya antifungal tedavinin yokluğunda CNPA, kronik fibrotik pulmoner aspergilloza evrilir.

CPA tanısı için, Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (ESCMID, *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*), Avrupa Solunum Derneği (ERS, *European Respiratory Society*) ve Avrupa Tıbbi Mikoloji Konfederasyonu'nun (ECMM, *European Confederation of Medical Mycology*) 2016 yılında belirlediği kriterler şunlardır (127): (i) toraks BT de ≥ 3 ay süre

ile 1 veya daha fazla kavite olması (mantar topu eşlik edebilir/etmeyebilir) ya da nodüller olması, (ii) *Aspergillus* enfeksiyonunu direk gösteren bir kanıt ya da *Aspergillus* spp. karşı immünolojik yanıt, (iii) alternatif tanıların dışlanması. Semptomlar ve radyoloji tanıyı desteklese de hastalığın en az 3 aydır mevcut olduğu bilinmelidir. Yine 2016 yılında yayınlanan Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (IDSA, *Infectious Diseases Society of America*) kılavuzunda da benzer kriterlerin kullanımı CCPA tanısında önerilmiştir (124): (i) 3 aydır süren kronik akciğer hastalığı semptomları ya da kavitasyon, plevral kalınlaşma, perikaviter infiltratlar ve bazen bir mantar topu ile progresyon gösteren radyografik bulgular, (ii) yükselmiş *Aspergillus* IgG antikor veya diğer mikrobiyolojik bulgular, (iii) immün kompetan ya da hafif immüsuprese hastalarda bir veya daha fazla altta yatan akciğer hastalığı.

CPA tanısında, *Aspergillus* spesifik IgG antikor testi en duyarlı mikrobiyolojik testtir. Toraks BT’de bir mantar topu gözlendiğinde, *Aspergillus* kaynaklı olduğunun teyidi için *Aspergillus* IgG veya presipitin testinin pozitif olması gerekir. Toraks BT’de CPA ile uyumlu bir veya daha fazla kavitesi olan hastalarda kullanılabilecek diğer mikrobiyolojik yöntemler; solunum sıvılarında pozitif *Aspergillus* antijeni veya PCR’da *Aspergillus* DNA’sı saptanması, perkütan veya eksizyon biyopsi ile alınan örnek mikroskopisinde fungal hiflerin gösterilmesidir (127).

CPA tedavisinde semptomları ve hemoptiziye azaltmak ve akciğer fibrozunu önlemek temel amaçtır. Pulmoner veya sistemik semptomları olan ve akciğer fonksiyonlarında progresif kayıp olan hastalarda en az 6 ay antifungal tedavi verilmelidir. Oral tedavi, tolerans ve maliyet göz önüne alındığında ilk tercih ajanlar vorikonazol ya da itrakonazoldur (148, 149). Bu ilaçlar ile yan etki görüldüğünde ya da klinik başarısızlık durumunda posakonazol tedavisine geçilebilir (150). Azol direnci durumunda intravenöz mikafungin veya amfoterisin B tedavisine yanıt alınabilir (124). Cerrahi rezeksiyon, medikal tedaviye yanıt vermeyen hastalar için bir seçenektir. İzlem 3-12 ayda bir düşük doz toraks BT ya da akciğer grafisi, yıllık akciğer fonksiyon testleri, inflamatuvar belirteçler ve *Aspergillus* IgG titreleri ile yapılır (124).

2.3.2. *Aspergillus* ilişkili invaziv sendromlar

İA en sık olarak *Aspergillus* konidyumlarının solunmasıyla vücuda alınır. Konidyumların diğer giriş yerleri bütünlüğü bozulmuş cilt bölgeleri, ameliyat yaraları, gastrointestinal sistem, kornea ve kulaktır (14). İnvaziv sendromlar içinde en sık görülen İPA'dır. Dissemine hastalık, uzak bölgelere hematogen yayılım veya akciğerden komşuluk yolu ile meydana gelir. Ciddi immünsupresif hastalarda diğer organlara hematogen yayılım görülebilir (12). *Aspergillus*'a bağlı endoftalmit, endokardit, osteomyelit, septik artirit, kutanöz tutulum, peritonit ve hepatit diğer nadir görülen invaziv tutulumlardır (124).

2.3.2.1. İnvaziv pulmoner aspergilloz

İA enfeksiyonlarının %90'ından fazlasını invaziv pulmoner aspergilloz vakaları oluşturmaktadır, ekstrapulmoner aspergilloz da çoğu zaman pulmoner odakların hematogen yayılımından kaynaklanır (151). İPA'nın en önemli risk faktörü nötropenidir. Derin ($PMNL \leq 0.5 \times 10^3$ ve özellikle $PMNL \leq 0.1 \times 10^3$) ve uzamış (>12 ile 15 gün) nötropeni yüksek düzeyde İA gelişme riski oluşturur (56). AML tanılı hastaların nötropeniye girmeleri ile İA gelişmesi arasındaki ortalama süre 14.6 gün olarak bulunmuştur (152). Nötropeni önemli bir risk faktörü olsa da kemik iliği nakli hastalarında yapılan bir epidemiyoloji çalışmasında İPA tanısı koyulan hastaların yalnızca üçte birinin, tanı anında nötropenik olduğu görülmüştür (6). Özellikle allojenik kemik iliği nakli hastalarında gelişen GVHD ve solid organ nakli hastalardaki organ reddinde kullanılan kortikosteroid tedavisi İA için yüksek risk oluşturmaktadır (6). İndüksiyon kemoterapisi alan AML ve MDS hastaları, uzamış nötropenisi olan aplastik anemi hastaları, geçirilmiş aspergillozu olan ve yeniden kemoterapi alacak hastalar diğer risk gruplarıdır.

İPA klinik semptom ve bulguları spesifik değildir, genellikle bronkopnömoniye taklit eder. Kuru öksürük, dispne, plöritik göğüs ağrısı ve geniş spektrumlu antibiyotiklere rağmen düşmeyen ateş görülebilir (138). Plevral efüzyon, pnömotoraks ve anjioinvazyon varlığında gelişen hemoptizi diğer semptomlardır (12). İPA tanı ve tedavisi ilerideki bölümlerde ayrıntılı tartışılacaktır.

2.3.2.2. İnvaziv *Aspergillus* trakeobronşiti

İnvaziv *Aspergillus* trakeobronşiti (İATB), *Aspergillus* enfeksiyonunun tamamen veya ağırlıklı olarak trakeobronşiyal ağaçla sınırlı olduğu, İA'nın nadir görülen klinik bir formudur. İATB çoğu vakada İPA ile ilişkilidir (153). İATB, İPA gibi immünsupresif hasta grubunda baskın olarak görülse de ciddi immünsupresyon oluşturmeyen diyabet gibi kronik hastalığı olan ya da immünkompetan hastalarda da görülebilmektedir (154, 155). İATB tanısı bronkoskopik görüntü ve işlem sırasında alınan dokunun mikrobiyolojik ve patolojik analizi ile konulur. Akciğer nakli alıcıları, hematolojik maligniteleri olan ve/veya KİT yapılan hastalar, AIDS hastaları, ağır KOAH ve COVID-19 hastaları ve mediastinal tutulumu olan hastalar öncelikli risk gruplarıdır (138, 156).

İATB, bronkoskopi ve patolojideki görünümüne dayanarak, obstrüktif, psödomembranöz ve ülseratif olarak 3 sınıfta gruplandırılır. Obstrüktif İATB'de, biyopside bronşiyal mukozaya invazyon görülmez, bronşiyal ve/veya trakeal inflamasyona eşlik eden *Aspergillus* spp. ile dolu kalın mukus tıkaçlar ile karakterizedir (157). Hastalar subakut başlangıçlı öksürük, dispne, göğüs ağrısı ve hemoptizi ile başvururlar. Psödomembranöz İATB'de, trakeobronşiyal ağacın yoğun inflamasyonu ve mukozal yüzeyi kaplayan psödomembranlar vardır. Bu zar yapıları nekrotik epitelin dökülmesi ve endobronşiyal mukus ile oluşur. Psödomembranöz İATB en şiddetli formdur ve genellikle öksürük ve dispne ile kendini gösterir. Genellikle hematolojik maligniteli ya da GVHD gelişen KİT alıcıları gibi ciddi immünsupresif hastalarda görülür (158). Ülseratif formda, bronş duvarlarında ülseratif veya plak benzeri lezyonlar görülür. Bu form en yaygın olarak akciğer transplantasyonu alıcılarında sütür hattında ve AIDS'li hastalarda görülür (157). Wu ve ark. tarafından bronkoskopik bulgulara göre farklı bir sınıflandırma önerilmiştir. Bu sınıflamada tip I: yüzeysel infiltrasyonu, tip II: tam tabaka tutulumunu, tip III: obstrüktif ve tip IV: mix tutulumu ifade etmektedir. Ayrıca bu çalışmada İATB'nin İPA'nın erken tutulumu olabileceği ileri sürülmüştür (156).

Hematolojik maligniteleri olan hastalarda İATB genellikle semptomatiktir, en sık görülen semptomlar dispne, ateş ve kuru öksürüktür. Hava yolu obstrüksiyonu atelektazi ve ciddi solunum yetmezliğine neden olabilir. İATB tanısında bronkoskopik değerlendirmenin yanı sıra pozitron emisyon tomografisi-BT (PET-BT) taraması ve endobronşiyal ultrasonografi (EBUS) kullanılabilir. Bronkoskopi, endobronşiyal görünümü değerlendirme imkanı sunması ve işlem sırasında alınan örneklerin mikrobiyolojik ve histopatolojik değerlendirilmesi ile tanıya önemli katkı sağlar. Serum GM-EIA tanı değeri düşükken, BAL GM-EIA tanıya yardımcı olabilir (159). İATB tedavisinde küf etkili azoller (ilk tercih vorikonazol) veya Amfoterisin B lipid formu önerilir (31). Psödomembran ve mukus tıkaçların temizlenmesi için bronkoskopi yapılabilir, fakat özellikle pulmoner damarlara uzanan nekrotizan psödomembranların varlığında kanama gelişebileceği akılda tutulmalıdır (124).

2.3.2.3. İnvaziv *Aspergillus* rinosinüziti

Akut invaziv fungal rinosinüzit, en sık *Mukormikoz* ve *Aspergillus* türlerinin neden olduğu, hızlı başlangıçlı (<4 hafta) ve agresif seyir izleyen bir enfeksiyondur. İmmünsupresif hastalarda sinüsler ve diğer burun boşluklarına mantarların invazyonu ile karakterizedir. İnvaziv *Aspergillus* rinosinüziti (İARS), sıklıkla invaziv pulmoner aspergilloz ile birlikte görülür (160). Hematolojik malignite, nötropeni, hemokromatoz, malnütrisyon ve kontrolsüz kan şekeri olan diyabet hastaları en önemli risk gruplarıdır (161). İmmünsupresif hastalarda, genellikle sinüsleri daha önce kolonize eden mantarların mukozaya invazyonu veya mantar sporlarının solunması ile enfeksiyon meydana gelir (160). Klinik belirtiler, ateş, sinüzal dolgunluk, burun akıntısı, öksürük, nazal mukozal ülserasyon veya eskar, burun kanaması, baş ve yüz ağrısıdır. Kronik formlarda proptozis ve orbital apeks sendromu görülebilir.

Burun mukozasında ve sinüslerde başlayan enfeksiyon zamanla bitişik paranasal sinüslere, damağa, göze ve beyne yayılabilir. Erken evrelerde burunda, sinüste ve damakta nekrotik doku görülebilir. Etmoid, frontal ve sfenoid sinüsler tutulduğunda, kavernoöz sinüse yayılım kolaylaşır ve bu aşamadan sonra kraniyal sinir felçleri ile karotid arter trombozu görülebilir (160). Sinüs BT bulguları nonspesifik

olsa da enfeksiyonun yaygınlığını göstermek için kullanılır. En sık maksiller ve etmoid sinüs tutulur. BT’de kemik dekstrüksiyonu, periorbital doku, kavernöz sinüs, karotid arter ve beyine yayılım değerlendirilir. Cerrahi planı varsa etkilenen bölgelerin ayrıntılı değerlendirilmesi için manyetik rezonans görüntüleme (MRI) yapılabilir (162). Endoskopik sinüs girişi ile kültür alınması ve doku invazyonunun değerlendirilmesi için biyopsi yapılması tanıda önemlidir. İARS tedavisinde geniş cerrahi debridman ve sistemik antifungal tedavi önerilir. Vorikonazol ve amfoterisin B lipid formülasyonu tedavide tercih edilen ajanlardır (31).

2.3.2.4. Serebral aspergilloz

Serebral aspergilloz, genellikle İPA’ya eşlik eder, fakat özellikle immünkompetan hastalarda izole serebral tutulum da görülebilir (163). Serebral aspergilloz için KİT alıcıları, GVHD gelişen hastalar ve akut lösemi hastaları risk altındadır. *Aspergillus* spp., kemik iliği nakli alıcılarında beyin absesinin en sık etkenidir (164). Pagano ve ark.’nın akut lösemi ve aspergilloz tanısı olan 100 hastalık vaka serilerinde, 14 (%14) hastada serebral aspergilloz saptanmıştır. Hastaların tümü nörolojik semptomların başlangıcından itibaren ortalama 5 gün içinde vefat etmiştir (165). Yirmi üç transplant merkezinin verilerinin değerlendirildiği TRANSNET çalışmasında KİT alıcısı 415 hastada gelişen İA’lar incelenmiş ve hastaların 25’inde serebral tutulum görülmüştür. Bu çalışmada serebral aspergillozlu hastalarda 12 haftalık mortalite %84 (21/25) bulunmuştur (113). Stefan ve ark.’nın 17 serebral aspergilloz hastasını dahil ettikleri çalışmada, ilk semptomların başlamasından veya serebral aspergillozun radyolojik olarak kanıtlanmasından sonra ortalama sağkalım 10 gün (3 ila 60 gün arasında), mortalite %100 bulunmuştur (166). Serebral aspergilloz baş ağrısı, focal nörolojik belirtiler, nöbet ve mental durumda değişiklik ile kendini gösterir, meningeal irritasyon bulguları beklenmez. Vasküler invazyon varlığında, hemorajik inme ve subaraknoid kanama görülebilir.

Beyin T2 ağırlıklı MRI görüntülerinde halka şeklinde periferik kontrastlanma gösteren intraserebral apseler ile korteks ve subkortikal beyaz cevherde embolik enfarkt ile uyumlu hiperintensite görülebilir (167). Tanı doğrulanması için biyopsi

önerilmektedir fakat serebral biyopsi her zaman mümkün değildir. Beyin-omurilik sıvısında GM ve BDG bakılması tanıya yardımcı olabilir (168, 169). Vorikonazol, serebral aspergilloz tedavisinde birinci tercih antifungaldir. Amfoterisin B lipid formülasyonu, azol dirençli vakalarda kullanılabilir (124). Vorikonazol tedavisi ile birlikte enfekte dokunun ve apselerin rezeksiyonunun, cerrahi müdahaleye uygun hastalarda sağkalıma katkı sağladığı gösterilmiştir (163). İntratekal olarak uygulanan amfoterisin B'nin pia materden penetre olamaması nedeniyle serebral aspergillozun tedavisinde intratekal antifungal tedavisi önerilmez (124).

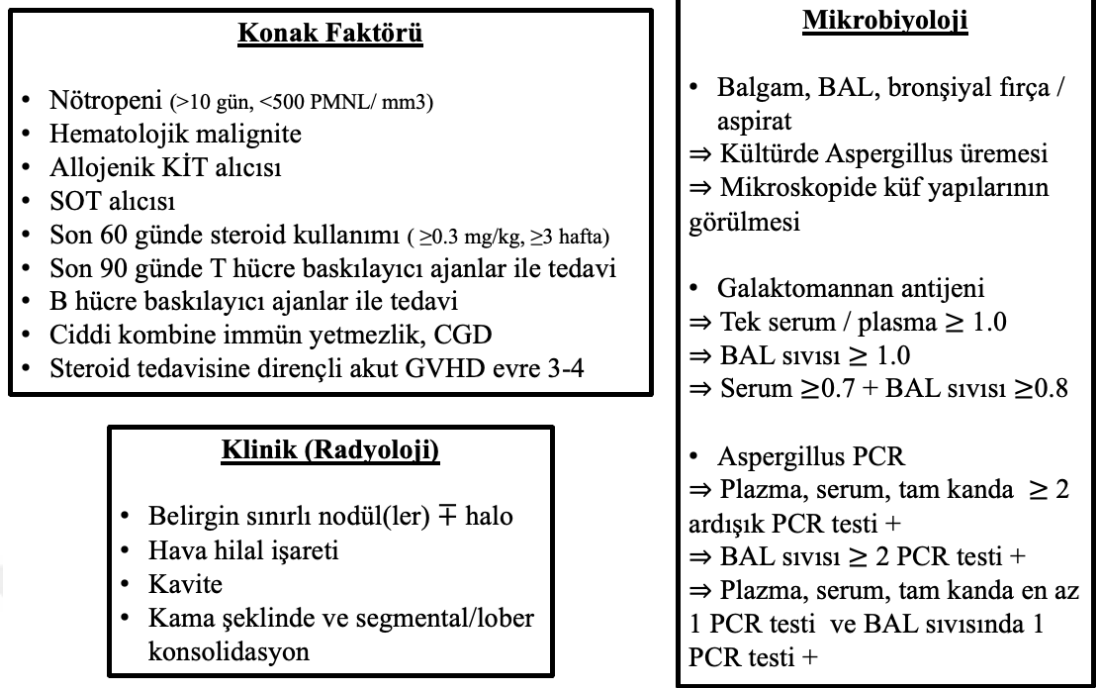
2.3.2.5. Kutanöz aspergilloz

Aspergillus'un cilt tutulumu, dissemine hematogen enfeksiyonun sonucu olabileceği gibi immünsupresif hastanın cildine minör travma sonrası *Aspergillus* spp.'nin inokülasyonu ile de meydana gelebilir (63). Epidermisin mekanik bütünlüğü cerrahi, yanık, intravenöz kateter veya maserasyon ile bozulabilir. İmmünkompetan bireylerde fagositik yanıt fungal elemanları ortamdan temizler. Fakat nötroopenik hastaların ciltteki yaraları *Aspergillus* türleri ile kontamine olursa etkili lokal fagosit yanıt geliştiremez. Kutanöz aspergillozun lezyonları makül, papül, nodül veya plak şeklinde başlar (170). *Aspergillus* hifleri dermis ve subkutan dokuya invaze olur; anjioinvazyon, kas ve kemiğe yayılım görülebilir. Tanı cilt biyopsisi ile konulur, patolojide kan damarlarının invazyonu ve kutanöz ülserasyon görülür. Tedavide primer odak araştırılması ile vorikonazol önerilmektedir. Yanık ve büyük doku yaralarındaki aspergilloz vakalarında antifungal tedavi yanında cerrahi debridman önerilmektedir (124).

2.4. İnvaziv Aspergilloz Tanı Yöntemleri

İA kesin tanısı, doku biyopsisinde doku hasarına eşlik eden hif invazyonunun gösterilmesi ve kültürde *Aspergillus* üretilmesi ile konulabilmektedir. Hematoloji hastalarında özellikle trombositopeni ve potansiyel riskler nedeni ile çoğu zaman doku biyopsisi mümkün olmamaktadır. İA tanısına klinik, radyolojik ve mikrobiyolojik verilerin kombinasyonunu ile gidilmektedir.

EORTC/MSG kriterleri klinik araştırmalar için tasarlanmış olsa da klinik uygulamada da kullanılabilmektedir. Bu kriterlere göre vakalar *proven* (kanıtlanmış), *probable* (yüksek olasılıklı), *possible* (düşük olasılıklı) IFI olarak sınıflandırılır (21). İA için *proven* vakaların tanısı, iğne aspirasyonu veya biyopsi ile alınan örneğın histopatolojik, sitopatolojik veya direkt mikroskopik incelemesinde doku hasarı ve kf yapıları görülmesi ve normalde steril ya da hastalığın bulaş süreci ile uyumlu klinik veya radyolojik olarak anormal bölgeden steril olarak alınan örnekten *Aspergillus* remesi ile konulur. Kan kültüründe *Aspergillus* spp. remesi nadirdir ve hematolojik maligniteli hastalarda görülen aspergillemlerin tama yakını kontaminasyon ilişkilidir (171). Formalinle fikse parafine gömülü dokuda küfler görüldüğünde, DNA dizilimi ve PCR ile mantar DNA'sının amplifikasyonu da *proven* vaka tanısı için geçerli yöntemdir. Seroloji *proven* vaka tanımlamasında kullanılmaz. *Possible* İA vakasında, konak faktörü ve radyolojik parametre olması aranır. *Probable* İA vakasında konak faktörü ve radyolojik parametreye mikrobiyolojik kanıtın eşlik etmesi gerekir. İPA radyolojisinde nodül, hava-hilal belirtisi, kavite ve segmental/lober konsolidayondan biri aranır. İPA için konak faktör, mikolojik ve klinik kriterler şekil-2'de özetlenmiştir. Trakeobronşit için bronkoskopide trakeobronşiyal ülserasyon, nodül, psödomembran, plak veya eskar görülmesi; sinonazal İA için göze yayılan akut ağrı, nazalda siyah kurutlanmanın eşlik ettiğ ülser ve paranazal sinüslerden kemik ve göze yayılım görülmesi gerekir. Mikolojik kriterlere bakıldığında trakeobronşitte BAL sıvısı veya bronşiyal aspiratta kf elementlerinin mikroskopide görülmesi ya da kültürde üremesi gerekir. Sinonazal İA'da sinüs aspiratında kf elementlerinin mikroskopide görülmesi ya da kültürde üremesi mikolojik kriterdir. *Proven*, *probable* ve *possible* İPA vaka tanımlaması şekil-3'de gösterilmiştir.



Şekil 2. EORTC/MSG-2019 uzlaşmasının *probable* İPA için tanı kriterleri

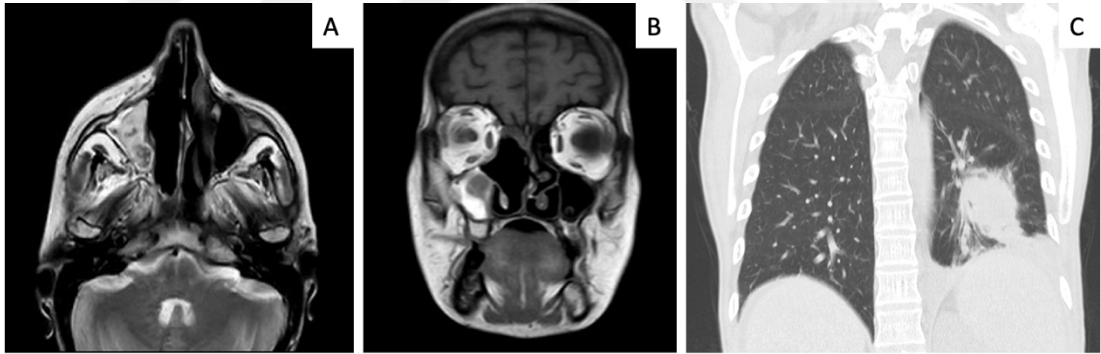
BAL: Bronkoalveolar lavaj, CGD: Kronik granümatöz hastalık, GVHD: *Graft-versus-host* hastalığı, KİT: Kemik iliği transplantasyonu, PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu, PMNL: Polimorfonükleer lökosit, SOT: Solid organ nakli



Şekil 3. EORTC/MSG uzlaşmasına göre İPA için *proven*, *probable* ve *possible* vaka tanımlaması

2.4.1. Radyolojik tanı

Radyolojik bulgular, İA tanısında ve tedavi takibinde kullanılır. Toplam nötropeni süresinin >7 gün olması beklenen ve 4-7 gün geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi almasına rağmen ateş yanıtı alınmayan nötropenik ateş hastalarında invaziv mantar enfeksiyonlarının araştırılması önerilmektedir. Yüksek riskli hastalarda nedeni açıklanamayan nötropenik ateş durumunda, ateş 96 saati geçtiğinde hastaya sinüs ve akciğer BT çekilmesi düşünülmelidir (172). Heussel ve ark. hematolojik maligniteli hastalarda nötropenik ateş varlığında ampirik antibiyotik tedavisi başladıktan 48 saat geçmesine rağmen ateş yanıtı alınamadığında toraks ince kesitli BT (HRCT) çekilmesinin tanının erken koyulmasına katkıda bulunacağını bulmuşlardır (173). Toraks BT dışında MRI ve PET tercih edilebilecek görüntüleme yöntemlerindendir (Resim 1). HRCT'nin, akciğer grafisine göre daha sensitif olması, MRI'a göre daha yaygın kullanılması ve PET'ten daha çok tecrübe sahibi olunması ile ilk tercih edilen görüntüleme yöntemidir.



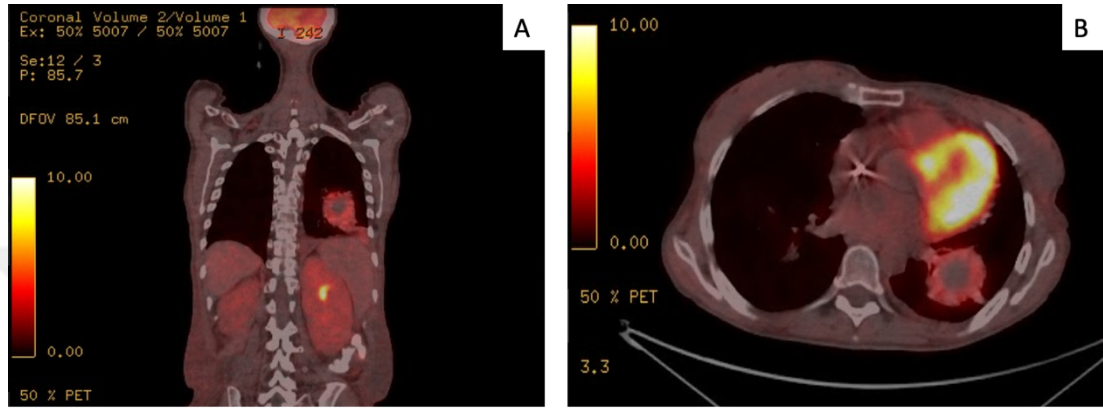
39 yaşında kadın hasta, Hodgkin lenfoma tanılı, paranasal sinüs biyopsisinden alınan kültürde *Aspergillus* spp. üremesi oldu. (A,B) Yüz MR: Sağ ethmoidal hücrelerde, sağ nazal pasajda ve sağ maksiller sinüste havalanma kayıplarına yol açan T2 ağırlıklı incelemelerde hiperintens alanlar; ethmoidal hücreler komşuluğunda sağ orbita retroorbital yağlı planlarda ethmoid hücreler komşuluğunda T2 ağırlıklı incelemelerde hiperintens alanlar ve silik kontrast tutulumları izlendi. (C) Toraks BT: Sol akciğer alt lob bazal kesimde 4 cm çapında lobüle konturlu kitle, komşuluğunda atelektatik değişiklikler izlendi.

Resim 1. Sinopulmoner invaziv aspergilloz MR ve BT görünümü

(Araştırmamızda yer alan hastaların görüntülemelerinden alınmıştır.)

BT ve MRI, enfeksiyonun anatomik konumunun belirlenmesi için iyi yapısal çözünürlüğe sahip olmasına rağmen, anatomik görüntüleme modalitelerinin rolünü tamamlamak için fonksiyonel ve metabolik görüntüleme tekniklerine sıklıkla ihtiyaç

duyulmaktadır (174). FDG PET/BT, İPA ile noninvaziv pulmoner aspergillozun ayrımını yapmakta kullanılabileceği gibi aspergilloz tanılı hastaların tedavi takibi için de değerli bir görüntüleme yöntemidir (175, 176) (Resim 2). Pulmoner aspergilloz, PET/BT görüntülemesinde akciğer malignitesini taklit edebileceğinden yanlış pozitif sonuçlara neden olabileceği unutulmamalıdır (177).



Refrakter Hodgkin lenfoma tanılı, 39 yaşında kadın hastanın paranazal sinüs biyopsisinde *Aspergillus* spp. üredi ve çekilen PET/CT'sinde sol akciğer alt lob süperior segmentten laterobazal segmentte uzanım gösteren yumuşak doku dansiteli lezyonun periferinde hafif orta düzeyde FDG tutulumu (SUVmax=4.4) izlendi. (A) PET/CT koronal kesit, (B) aksiyal kesit.

Resim 2. PET/BT'de invaziv pulmoner aspergilloz görünümü

(Araştırmamızda yer alan hastaların görüntülemelerinden alınmıştır.)

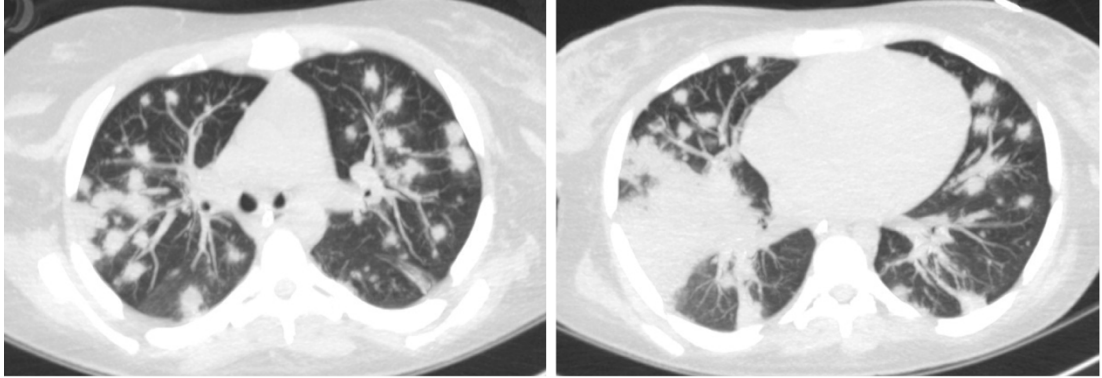
İPA tanılı 235 hastanın toraks BT'lerinin sistemik olarak analiz edildiği bir çalışmada (%49.3 akut lösemi, %24.2 allojenik KİT alıcısı), hastalığın belirti verdiğinde çekilen BT'lerinin %94'ünde makronodül, %61'inde halo işareti, %30'unda konsolidasyon, %20'sinde kavite, %10'unda hava-hilal işareti görülmüştür (178).

Hematolojik maligniteli hastalarda indüksiyon kemoterapisi sonrası meydana gelen nötropenik ateşte, ateş odağını belirlemek için çekilen toraks BT'nin hem tanıya yardımcı olduğu hem de *Aspergillus* GM sonucu çıkmadan İPA açısından fikir verdiği bilinmektedir. Bu hastalarda toraks BT taraması artmış sağ kalımla ilişkili bulunmuştur (179, 180). Tedavi yanıtı için ilaç başlanmasından en az 2 hafta sonra kontrol BT çekilmesi önerilmektedir, eğer hastanın kliniğinde kötüleşme varsa 2 haftadan önce de çekilebilir (124). Nötropenik hastalarda, akciğerdeki lezyonlar

tedavinin başlangıcından itibaren 1 hafta boyunca artmaya devam edebilir. Ayrıca hastalar nötropeniden çıkarken de lezyon boyunda artış olabilir. İlk hafta boyunca lezyon boyutu 4 kat artabilir ve takip eden 1 hafta boyunca da stabil kalabilir (181). Nodül büyük bir damara yakın ise masif hemoptizi riski nedeni ile yakın takip önerilmektedir.

2.4.1.1. Anjio-invaziv form

Anjio-invaziv form histolojik olarak, hiflerin küçük ve orta büyüklükteki pulmoner arterlere invazyonu ve vasküler tromboz ile karakterizedir (137). ‘Halo işareti’ olarak isimlendirilen buzlu cam atenüasyonu ile çevrili pulmoner nodüller ve plevraya oturan kama şeklinde konsolidasyonlar en tipik BT bulgularıdır (182). Nodüller genellikle bilateral, asimetriktir, bazen birleşme eğilimi gösterir (Resim 3). Makronodüllerin varlığı (>1cm) İA’nın iyi bir göstergesidir.



Nüks B-ALL tanılı 19 yaşında kadın hasta, blinatumomab tedavisi altında nötropenik izlenmekte iken uygun geniş spektrumlu antibiyoterapiye rağmen düşmeyen ateşi oldu. Çekilen toraks BT’sinde multiple makronodüller ve plevraya oturan geniş konsolidasyon alanı görüldü. Hastanın serum GM-LFA ve EIA-GM testleri pozitif geldi.

Resim 3. Toraks BT’de invaziv pulmoner aspergilloz görünümü

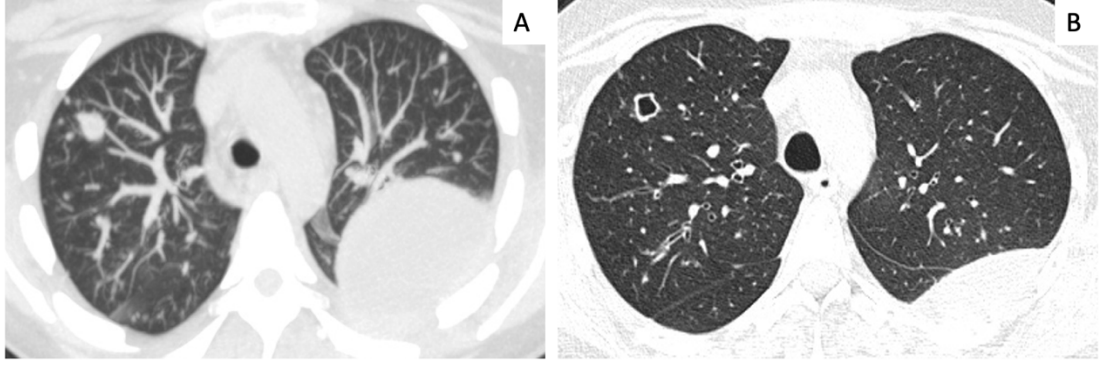
(Araştırmamızda yer alan hastaların görüntülemelerinden alınmıştır.)

Nötropenik hastalarda, *Aspergillus* pulmoner damarlara invaze olarak akciğer parankiminde tromboza ve iskemik nekroza neden olur. Koagülasyon nekrozunun merkezi nodüle karşılık gelirken, nodüllerin çevresindeki alveolar kanamalar da halo işareti oluşumuna neden olur (183). Halo işareti İA için karakteristik bir görünüm olsa da hastalığın erken evrelerinde ortaya çıkar. Hematolojik maligniteli, nötropenik ve

İPA tanısı olan 25 hasta ile yapılan bir çalışmada, hastalara İPA'nın 0, 3, 7, 14. günlerinde seri BT'ler çekilmiş ve halo belirtisi insidansı sırayla %96, %68, %22 ve %19 olarak bulunmuştur. Bu çalışma İPA enfeksiyonunun ilk 3 gününden sonra halo işareti görülme ihtimalinin hızla azaldığını ortaya koymuştur (181). Halo işareti, mukormikoz, pulmoner kandidiyaz, herpes simplex virüs, varisella zoster virüs, sitomegalovirüs, bakteriyel pnömoniler, septik emboli, tüberküloz, granülomatöz polianjit ve sarkoidoz gibi romatolojik hastalıklar, primer ve metastatik akciğer malignitelerinde de görülebilir (183).

Kama şeklinde plevraya oturan konsolidasyonlar da pulmoner emboli sonucu oluşan pulmoner enfarktlara karşılık gelir (13). 'Ters halo işareti' veya 'Atoll işareti', anjiyo-invaziv aspergilloz tanılı hastaların <%1'inde görülür. Radyolojide halo işaretinin aksine, merkezi buzlu cam atenüasyonunu çevreleyen periferik yoğun konsolidasyon görülür. Hastalığın erken evresinde görülen ters halo işareti, akciğerde enfarkte olmuş halka şeklinde bir alanın içinde kanama ve inflamatuvar kalıntıların birikimi ile oluşur (184). Organize pnömoni (BOOP), sarkoidoz, tüberküloz ve mukormikoz ters halo işaretinin görülebildiği diğer hastalıklardır (185).

Hematolojik malignite ve İPA tanılı hastaların genellikle nötropeniden çıkmasıyla nodül ya da konsolidasyon içinde kavitasyon oluşumu gözlenir (Resim 4). Geç fazda gerçekleşen bu durum, nekrotik akciğer dokusunun kavite duvarından ayrılması ve 'hava hilal' işareti oluşumu ile sonuçlanır (Resim 5). Bu işaret, İPA başlangıcından iki hafta sonra görülür ve hastanın bağışıklığının toparlandığının göstergesidir (137).



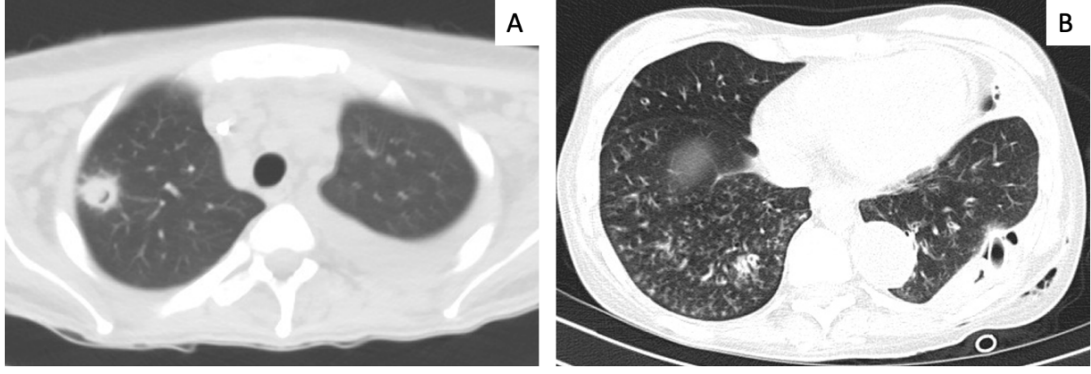
Aplastik anemi nedeniyle allojenik kemik iliği nakli yapılan 21 yaşında kadın hasta, probable İPA tanısı ile takip edildi. (A) Toraks BT'de sağ akciğer üst lobda 12mm'lik nodüler konsolidasyon alanı. (B) Tedavinin 1. ayında çekilen kontrol BT'de nodül boyutu stabil kalarak kaviter özellik kazanmıştır.

Resim 4. İPA'da toraks BT bulgularının tedavi ile değişimi

(Araştırmamızda yer alan hastaların görüntülemelerinden alınmıştır.)

2.4.1.2. Hava yolu invaziv form

Hava yolu invaziv form, pulmoner *Aspergillus* enfeksiyonlarının %7'sini, invaziv aspergillozun %15-30'unu oluşturur (13, 137). Segmental ya da subsegmental bronşiyal ağaçta, bazal membran invazyonu, mukus birikimine bağlı hava yolu obstrüksiyonu veya psödomembran oluşumu ile karakterizedir. Trakeobronşit, bronşiolit ve bronkopnömoni radyolojide görülen 3 ana bulgudur (137). Bronşiolitte küçük hava yollarının obstrüksiyonu sentrilobüler nodüller ile tomurcuklanmış ağaç görünümü (tree-in-bud) oluşmasına neden olur (Resim 5). Tüberkülozun endobronşiyal yayılımına benzer. Bakteriyel bronkopnömoni ile karışabilecek peribronşiyal konsolidasyonların birleştiği bronkopnömoni tablosu sık görülür. Nadir olarak trakeal ağaçta lokalize ülserasyon veya segmental/subsegmental bronшта bazal membranının izole invazyonu ile trakeobronşit görülebilir. Radyolojide trakeobronşiyal ağacı içeren duvar kalınlaşması tanıya götürebilir. Atektazi ve endobronşiyal kitleler de nadir olarak karşımıza çıkar.



Probable İA tanılı hastaların toraks BT görüntülemelerinde hava-hilal işareti (A) ve yaygın tomurcuklanmış ağaç görünümü (tree-in-bud görünümü) (B)

Resim 5. Toraks BT’de hava-hilal işareti ve tomurcuklanmış ağaç görünümü (Araştırmamızda yer alan hastaların görüntülemelerinden alınmıştır.)

2.4.2. Histopatolojik tanı

Doku biyopsisi ya da otopsi materyalinde doku invazyonu yapan filamentöz mantarın gösterilmesi ve kültürde üretilmesi IFI tanısını koydurur. Doku kesitlerinde *Aspergillus* hifal elementler standart hematoksilin&eoizin boyaması ile gösterilir. Fakat hifal elementler az, parçalanmış ve invazyona doku nekrozu eşlik ediyorsa görülme olasılığı düşer (15). Mantar enfeksiyonu düşünüldüğünde kesit ayrıca periyodik asit Schiff (PAS) ve Grocott-Gomori gümüş boyası ile boyanabilir, bu boyalar duyarlılığı artırır (186). Doku kesitlerinde görülen *Aspergillus* hifleri, septalı ve 1-3µm çapındadır.

Calcofluor beyazı, Uvitex 2B ve Blankophor gibi floresan boyaların, mantar hücre duvarlarındaki polisakkaritlere afinitesi yüksektir. Frozen kesitlere, parafin emdirilmiş dokulara ve BAL sıvısı gibi klinik örneklerle uygulanabilir. *Aspergillus* için özgül olmasa da duyarlılığı yüksektir (187).

2.4.3. Mikrobiyolojik tanı

2.4.3.1. Direkt bakı ve kültür

Klinik örnekler çoğunlukla solunum yolu örnekleri (balgam, bronkoalveolar lavaj sıvısı, transbronşiyal fırça) olması yanı sıra doku biyopsisi, steril-nonsteril vücut sıvıları, kan ve BOS olabilir. Sıvı örneklerde direkt mikroskopik inceleme yapılırken, diğer örnekler potasyum hidroksit ile incelenir. Hiyalin, septalı ve dar açılı ile dallanan (45°) yapılar görülür.

Aspergillus türleri mantara özgü besiyeri olan Sabouraud dekstroz agar ve genel bakteriyolojik kültür için kullanılan kanlı agar ve çikolatalı agarda ürer. Steril olmayan bölgelerden alınan örneklerde bakteriyel çoğalmayı önlemek için agara kloramfenikol ve gentamisin gibi antibiyotikler eklenir. Ayrıca kültürde patojenik olmayan çevresel küflerin aşırı büyümesini engellemek için medyuma ökaryotik protein sentezi inhibitörü olan sikloheksimid eklenebilir. Nadiren sikloheksimid *Aspergillus* spp. büyümesini baskılayabilir (188). *Aspergillus* türlerinin çoğu kültür plaklarında 30-37° de 48-72 saat içinde küçük, beyaz koloniler oluştururlar.

İA şüphesi olan hastalardan alınan alt solunum yolu örneklerinin kültürü, *Aspergillus* türlerinin tanımlanmasında kolay uygulanabilir ve ucuz bir yöntemdir, fakat duyarlılığı ve PPV değeri düşüktür. Frederick ve ark.'nın 82 immünsupresif hastanın BAL sıvı kültürlerinden elde ettikleri veride, İPA olan 17 hastanın 9'unda, İPA tanısı konulmayan 65 hastanın ise üçünün kültüründe *Aspergillus* hifleri görülmüştür. BAL sıvısı örneklerinde direkt bakıda hif saptanma duyarlılığı %53, özgüllüğü %97, PPV %75 bulunmuştur. BAL sıvısı mantar kültür pozitifliği %23 duyarlılıkta iken özgüllüğü %95, PPV %57 bulunmuştur. BAL sıvısı mantar direk bakı ve kültür kombinasyonunun tanı duyarlılığı %58, özgüllüğü %92, PPV %67 saptanmıştır (189). İA vakalarının dahil edildiği diğer çalışmalarda, solunum yolu örneklerinin kültür duyarlılığı %15-%69 arasında değişiklik göstermektedir (190). Horvarth ve ark.'nın çalışmasında alt solunum yolu kültürlerinde *Aspergillus* spp. üreyen immün sistemi baskılanmış hastaların (hematolojik/onkolojik malignite, KİT

alıcısı, kortikosteroid kullanımı, HIV enfeksiyonu) örnekleri kesin, muhtemel, belirsiz İPA ya da İPA şüphesi olmayan epizotlar olarak sınıflandırılmıştır. Pozitif alt solunum yolu kültürüne sahip 78 epizottan 49'unun (%63) kesin veya muhtemel İPA olduğu düşünülmüş ve alt grup analizinde en güçlü ilişkinin KİT alıcısı hastalarda (PPV %82) olduğu bulunmuştur (190).

Aspergillus türlerinin kültürde üretilmesi duyarlılık testlerinin yapılması, *A. terreus* ve *A. nidulans* gibi amfoterisin B doğal dirençli türlerin ayrımı açısından önemlidir. Fakat solunum ve diğer kültürlerde üretilen *Aspergillus* türlerinin enfeksiyon etkeni ile kolonizasyon açısından ayrımını yapmak zordur. Hastaların *Aspergillus* enfeksiyonu için konak faktörleri ve radyolojik bulgularına göre etken-kolonizasyon ayrımı yapmak önemlidir. İA risk faktörü taşıyan hastaların (hematolojik malignite, allo-KİT alıcıları gibi) balgam ve BAL sıvı kültürlerinde üretilen *Aspergillus* türleri, hava yolu kolonizasyonundan önce invaziv hastalık olarak değerlendirilmelidir (190). Pasqualotto ve ark.'nın 60 akciğer nakilli hasta ile yaptıkları çalışmada, BAL sıvısında kültür ve GM-EIA testi değerlendirildiğinde; BAL GM-EIA testleri yanlış pozitif çıkan hastaların %38,7'sinde *Aspergillus* kolonizasyonu saptanmıştır (191). Steril olmayan vücut bölgelerinden alınan kültürlerde *Aspergillus* pozitifliği olan hastaların dahil edildiği bir çalışmada, KİT alıcılarının %60'ının, hematolojik maligniteli hastaların %50'sinin ve nötropenik hastaların %60'ının pozitif kültürleri invaziv hastalık ile ilişkilendirilmiştir (192). Diğer bir çalışmada kemik iliği nakli alıcısı, steril ya da nonsteril örnek kültürlerinde *Aspergillus* spp. üreyen 214 hastanın 158'inde (%73,8) *proven/probable* İA saptanmıştır (6).

2.4.3.2. Serolojik yöntemler

2.4.3.2.1. EIA yöntemi ile galaktomannan antijeni tespiti

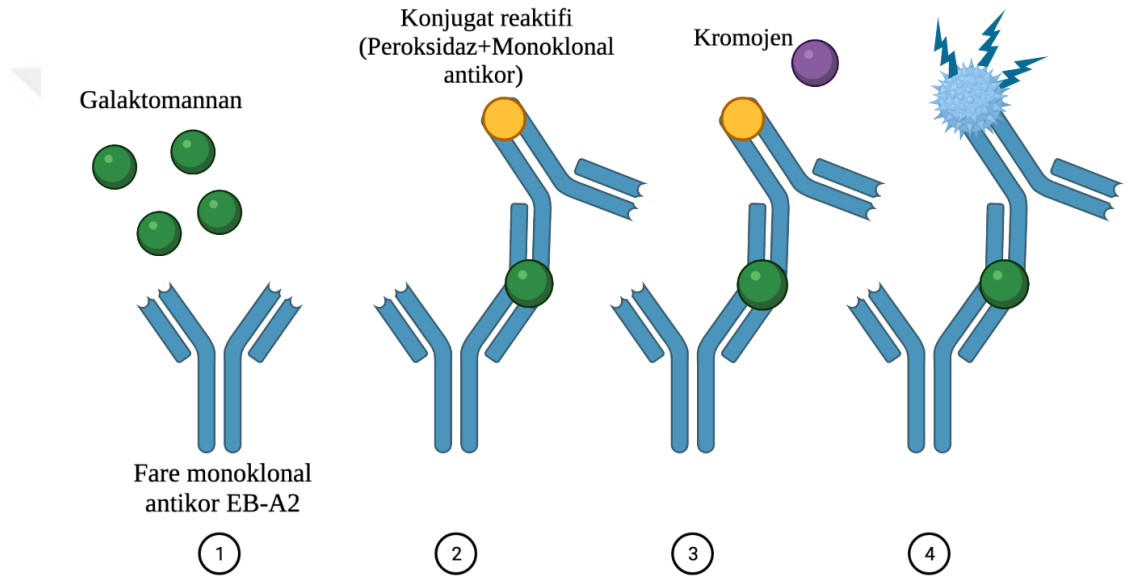
Galaktomannan, *Aspergillus* hücre duvarında bulunan bir heteropolisakkarittir. GM ayrıca *Fusarium*, *Alternaria*, *Histoplasma*, *Penicillium* spp. ve *Geotrichum capitatum* gibi mantarların neden olduğu enfeksiyonlarda da pozitif bulunmuştur (193). GM,

immünojenik olmayan bir mannan çekirdeği ile β 1-5 bağlantılı galaktofuranosil birimleri içeren immünoreaktif yan zincirlerden oluşur. *Aspergillus*'un logaritmik büyüme dönemi sırasında yaklaşık 20 kDa büyüklüğünde bir molekül olarak salınır (193). Stynen tarafından GM tanımlanması 1992'de dört galaktofuranosil kalıntısına bağlanan monoklonal antikor kullanılması ile gerçekleşmiştir (194). Sandviç ELISA yöntemi ile GM tespitinde EB-A2 olarak bilinen farelerden elde edilen bu monoklonal antikor kullanılmaktadır (195).

Fungal etken anjiyoinvazyon gerçekleştirene dek GM'nin dolaşımında tespit edilemediği düşünülmektedir. Nötropenik hematolojik malignite hastalarının akciğerlerinde gelişen halo bulgusu anjiyoinvazyon belirtisidir ve serum GM bu hastalarda çoğu zaman pozitifdir (182). CGH hastalarında ise anjiyoinvazyonu sınırlayabilen akciğer apsesi gelişir ve bu hastalarda sıklıkla serum GM negatifdir (196). Bu iki gözlem anjiyoinvazyon ile GM'nin dolaşımında görünür olduğu teorisini destekler (193). İA'da GM tespitini etkileyen hastaya ait faktörler; enfeksiyon bölgesi, mikro çevre (oksijen seviyesi, pH gibi), etken olan *Aspergillus* türü, renal klirens, hastanın immün durumu, altta yatan hastalığı ve antifungal ilaç kullanımındır (197). Test edilecek hasta örneklerinin saklanma koşulları, pretreatment (ön muamele) prosedürü, testi çalışanların deneyimi, testin kesim değeri de test performansını etkileyen faktörlerdir (197). GM renal yolla atılır ya da makrofajlar tarafından dolaşımdan temizlenir.

GM tespiti için yaygın olarak kullanılan iki ticari kit vardır: Pastorex kit (Sanofi Diagnostics Pasteur, Fransa) ve Platelia ELISA (BioRad, Fransa). Pastorex, lateks agglutinasyon yöntemini kullanır ve duyarlılığı düşüktür. Platelia pratikte daha sık kullanılan test kitidir, çift-sandviç ELISA yöntemi ile çalışır. Şekil-4'te Platelia tekniği özetlenmiştir. Test duyarlılığını etkileyebilecek bazı faktörler vardır: (i) EB-A2, dört veya daha fazla galaktofuranosid epitopuna bağlanır, daha az residü taşıyan antijenler tespit edilemeyebilir (197). (ii) EB-A2'nin epitoplara bağlanmasını engelleyebilen kompleks antikorlar, ön muamele aşamasında uzaklaştırılır, fakat bu adımda kullanılan edetik asit, aside duyarlı galaktofuranosid kalıntılarını indirgeyebilir (197). (iii) Sitotoksik kemoterapiye bağlı mukozal bariyer hasarı olan hastalarda

kontamine yiyeceklerden mantar galaktomannanın gastrointestinal sistemden translokasyonu serumda yanlış pozitifliğe neden olabilir. (iv) *Bifidobacterium bifidum*'un membranda bulunan lipoteikoik asidi de EB-A2 tarafından tanınır, gastrointestinal translokasyon olması durumunda yanlış pozitifliğe neden olabilir (198). (v) Piperasilin tazobaktam'ın eski jeneriklerinde GM içermesi nedeni ile antibiyotiği alan hastalarda yanlış pozitiflik görülmüştür (199), fakat son yıllarda üretilen ilaçların içerdiği GM miktarının pozitiflik oluşturabilecek düzeyde olmadığı düşünülmektedir (200).



Şekil 4. Platelia *Aspergillus* EIA Tekniği

(BioRender web uygulaması kullanılarak çizilmiştir.)

Platelia *Aspergillus* GM - Enzim immünoassay (PA-EIA), 2003 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, *Food and Drug Administration*) tarafından tanı amaçlı kullanımı onaylanmıştır (201). Testin paket ekinde (package insert) serum ve BAL için indeks <0.5 ise negatif kabul edilirken ≥ 0.5 pozitif kabul edilir. Negatif sonuçlar İA tanısını dışlatmaz (202). 2019 yılında revize edilen EORTC/MSG kılavuzunda GM kesim değerinin serum ve BAL sıvısında ≥ 1 olmasını önerilmiştir (21). GM-EIA testinde en az %90 doğruluk elde etmek için hematolojik maligniteli, nötropenik hastalarda ve allojenik KİT alıcılarında haftada en az 2 kez testin yapılması önerilmektedir (203). Küf etkili antifungal profilaksi alan

hastalara seri GM taraması önerilmez (204). Nötropenik olmayan hastalarda serum GM duyarlılığı düşüktür, bu hastalarda negatif GM sonuçları İA tanısını ekarte ettirmez (205). Bronkoalveolar lavaj sıvısında GM testi nötropenik olmayan hastalarda seruma göre tanıya daha çok yardımcı olabilir (206).

Serum GM-EIA testinin İA tanısında güvenilirliğini değerlendirmeyi amaçlayan bir metaanalizde 27 yayının verileri derlenmiştir. Dahil edilen 6 çalışma KİT alıcısı ve 17 çalışma hematolojik malignite tanılı hasta gruplarında yapılmıştır. GM kesim noktası değeri 5 çalışmada 0.5, 13 çalışmada 1.0 ve 11 çalışmada 1.5 olarak alınmıştır. *Proven* vakalarda GM duyarlılığı %71 (%95 CI, %68–74), özgüllüğü %89 (%88–90); *proven/probable* vakalarda ise duyarlılık %61 (%59–63), özgüllük %93 (%92–94) olarak bulunmuştur. Alt grup analizinde hematolojik maligniteli hastalarda duyarlılık %70 (%95 CI, %62–77), özgüllük %92 (%90–93); KİT alıcılarında sırasıyla %82 (%70–90), %86 (%83–88) bulunmuştur (207). İmmüsupresif hastaların İA tanısında GM-EIA testinin performansının incelendiği bir sistemik derlemede, 54 çalışmanın verileri incelenmiştir. Nötropenik ya da fonksiyonel olarak nötrofil fonksiyon bozukluğu olan (hematolojik malignite, KİT alıcısı, immüsuprese ilaç alan, solid organ nakli alıcısı, HIV, kemoterapi alan kanser hastaları) 5660 hastadan 586'sında (%10.3) *proven* ya da *probable* İA tespit edilmiş olup bu hastaların serum GM değerlerinin 0.5 – 1.0 – 1.5 optik dansite indeksindeki duyarlılık ve özgüllükleri hesaplanmıştır. Kesim noktası 0.5 – 1.0 – 1.5 olduğunda sırasıyla GM duyarlılıkları %82, %72 ve %61 iken özgüllükleri %81, %88 ve %93 olarak tespit edilmiştir (17).

BAL sıvısından bakılan GM-EIA testinin İA tanısındaki güvenilirliğini araştıran, 30 çalışmanın derlendiği bir metaanalizde *proven* ve *probable* İA tanılı hastalarda BAL GM duyarlılığı %87, özgüllüğü %89 bulunmuştur. 30 çalışmadan 24'ünde kesim noktası 0.5 ODI alınmıştır. Sadece *proven* İA vakalarında duyarlılık %100, özgüllük %77 bulunmuştur. Metaanalize dahil edilen 16 çalışmada hem serum ve BAL GM çalışılmış olup, serum ve BAL GM duyarlılığı %65 vs %85; özgüllüğü %95 vs %86 bulunmuştur (208). On üç çalışmanın dahil edildiği BAL EIA-GM'nin İA tanısındaki performansını değerlendiren bir metaanalizde 5 çalışmada kesim değeri 0.5, 7'sinde 1.0 ve ikisinde 1.5 ve 2 alınmıştır. *Probable* ve *proven* vakalarda BAL-

GM duyarlılığı %90, özgüllüğü %94 saptanırken; 4 çalışmada *proven* vakalarda hesaplanan duyarlılık %94, özgüllük %79 bulunmuştur (209). Yakın zamanda yapılan bir metaanalizde de aynı amaçla 65 çalışma incelenmiştir. *Proven* ve *probable* vakalar ile İA şüphesi olmayan hastaların BAL GM'leri karşılaştırıldığında duyarlılık %82, özgüllük %88; *proven* ve *probable* vakalar ile *possible* ve İA şüphesi olmayan hastalar karşılaştırıldığında da duyarlılık %81, özgüllük %87 bulunmuştur. BAL GM'nin kesim noktasının 1.0 ODI olması ile NPV değerinin azaltılabileceği ve duyarlılığın artılabileceği sonucuna varılmıştır (210).

2.4.3.2.2. *Aspergillus* galaktomannan lateral akış testi

İmmunokromatografik lateral akış testleri İA'da hızlı tanı için geliştirilmiş, anlık tanı testleridir (*point of care*). Günümüzde pratikte kullanımda olan iki test kiti vardır: AspLFD (*OLM Diagnostics, Newcastle upon Tyne, UK*) ve *Aspergillus* GM-LFA (*IMMY, Norman, Oklahoma, USA*). LFD testi, küfün aktif büyüme döneminde salgıladığı bir mannoprotein antijenini saptamak için JF5 antikorunu kullanır (211). GM-LFA testi, GM-EIA gibi GM tespiti yapar, bunun için iki monoklonal antikor (MAb) karışımı kullanır. Lateral akış testlerinin üretimi ucuzdur ve hızlı, kolay yorumlanabilir sonuç verirler (212). İki test de özellikle hematoloji hastalarında ve seruma göre BAL sıvısında daha iyi performansa sahiptir. LFA ısıtma (6-8 dakika) ve santrifüjlemeden (5 dakika) oluşan ön hazırlık periyodu gerektirir, toplam test süresi yaklaşık 45 dakikadır.

Retrospektif bir vaka kontrol çalışmasında %82'si hematolojik maligniteli olan 136 hastadan alınan 179 serum örneğinde LFA performansı araştırılmıştır. $GM \geq 0.5$ ODI iken LFA duyarlılığı %96.9 ve özgüllüğü %98 olarak tespit edilmiştir (24). Belçika'da yapılan prospektif bir çalışmada hematolojik maligniteli 239 hastadan alınan serumlarda IMMY LFA, OLM Diagnostics LFD ve Wako turbidimetrik beta-D-glukan testlerinin İA tanısındaki performansları değerlendirilmiştir. *Proven* ve *probable* vakalar ile kontrol vakalar karşılaştırıldığında LFA, LFD, GM-EIA, BDG'nin sırasıyla duyarlılık ve özgüllükleri; %49, %24, %44, %46 ve %95, %89, %99, %90 bulunmuştur. LFA'nın PPV ve NPV'si %69 ve %90 bulunmuştur. Testler

arasında en yüksek duyarlılık ve NPV LFA'da, en yüksek özgüllük ve PPV GM-EIA testinde bulunmuştur (25).

Mercier ve ark.'nın yaptığı çok merkezli retrospektif çalışmada hematolojik maligniteli hastalara ait 235 bronkoalveolar lavaj örneğinde AspLFD ve *Aspergillus* GM-LFA testi çalışılmıştır. Çalışmadaki hastaların 11'i *proven*, 64'ü *probable*, 43'ü *possible* İPA ve 117 hasta kontrol grubunda yer almıştır. *Proven* vakaların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında GM-LFA ve AspLFD'nin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %91 vs %82 ve %87 vs %87, *Proven* ve *probable* İPA vakalarının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında ise LFA ve LFD'nin duyarlılık ve özgüllüğü %83 vs %69 ve %87 vs %87 bulunmuştur (213). Diğer çok merkezli retrospektif çalışmada 390 hastanın solunum örnekleri *Aspergillus* kültür ve direk bakısı pozitif olanlar, kültür ya da direk bakısı pozitif olanlar ve kontrol grubu olarak üçe ayrılmış, örneklerden LFA çalışılmıştır. Kültür pozitif ve mikroskopisinde hif görülen solunum örneklerinde LFA duyarlılığı %92 (48/52) ve özgüllüğü %91 (44/48), PPV %92 ve NPV %91 tespit edilmiştir. Sadece kültürde *Aspergillus* üreyen solunum örneklerinde LFA duyarlılık, özgüllük, PPV, NPV sırasıyla %90, %84, %89, %85; sadece direk bakılarında hif görülenlerde %86, %84, %87, %82 tespit edilmiştir (214). Almanya'da üçüncü basamak iki sağlık merkezinde yürütülen retrospektif bir çalışmada 200 BAL sıvısından LFA çalışılmış ve kesim noktası 1.0 olarak belirlendiğinde duyarlılık %87.1, özgüllük %50.6, PPV %41.5 ve NPV %90.7 olarak bulunmuştur (215).

Solunum örneklerinde tespit edilen bazı mantarların çapraz reaksiyon ile yanlış pozitif LFA sonuçlarına neden olduğu bildirilmiştir. *Scedosporium* spp., *Geotrichum* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis* ve *Fusarium* spp. üremeleri ile çapraz reaksiyon bildirilmiştir (214).

2.4.3.2.3. 1,3 β -D-Glukan testi

1,3 β -D-Glukan, mantar hücre duvarının bir bileşenidir (56). Hücre duvarında çözünür olmayan bir yapı olarak bulunan 1,3 β -D-Glukan, kan ve diğer vücut sıvılarının varlığında tek sarmal (*helix*), üçlü sarmal veya rastgele sarmal formlarına

dönüşür ve çözünür hale gelir (216). *Candida* spp, *Fusarium* spp ve *Pneumocystis carini* gibi diğer mantarlarda da bulunduğu için *Aspergillus*'a spesifik değildir, 'panfungal' bir testtir. FDA'dan serumda çalışılmak üzere onay almış birçok BDG test kiti vardır (Fungitell, Glucatell, Wako, Fungitec-G, Dynamiker Fungus), Avrupa ve Amerika'da en sık kullanılan Fungitell (Associates of Cape Cod, East Falmouth, MA, USA)'dır (15, 217). Bu testlerin ortak özelliği, (1,3)-b-D-glukanın at nalı yengecinin pıhtılaşma faktörü olan Faktör G'yi aktifleştirmesi prensibine dayanmasıdır. BDG testinde, hemodiyaliz, kardiopulmoner bypass, immünoglobulin içeren ürünlerle tedavi ile yanlış pozitif sonuçlar bildirilmiştir. Fungitell testinde ≥ 80 pg/mL pozitif, < 60 pg/mL negatif, 60-80 pg/mL şüpheli olarak yorumlanır (218).

1995 ile 2019 arasında BDG ile ilgili yayınlanan 49 çalışmanın (vaka-kontrol, retrospektif kohort ve prospektif kohort) metaanalizinde %73 çalışmada Fungitell kullanılmıştır. İmmüsupresif veya yoğun bakımda yatan kritik hastalarda İA tanısında, BDG testinin duyarlılığı %27-%100, özgüllüğü %0-%100 olarak tespit edilmiştir. Testin performansında çalışmalar arasında yüksek varyasyonunun nedeni anlaşılamamıştır (219). Hematolojik maligniteli 96 hastada İA tanısındaki test performanslarının değerlendirilmesi amacıyla haftada bir GM, BDG (Wako) ve *Aspergillus* PCR bakılmıştır. Bu prospektif çalışmada 5 ng/mL kesim noktasında BDG duyarlılığı %55, özgüllüğü %72, PPV %38 ve NPV %96 bulunmuştur (220). Onishi ve ark.'nın serum BDG testinin İA tanısındaki performansını alt grup analizinde değerlendirdiği bir metaanalizde, testin duyarlılığı %77 (%71- %82), özgüllüğü %83 (%82 - %85) iken tanısal tahmini rölatif risk 23.2 (9.9 - 54.4) ve AUC-ROC 0.86 (%95 CI, 0.77 - 0.94) bulunmuştur (221). Almanya'da bir merkezde yürütülen İA tanısında BDG ve GM-EIA'nın karşılaştırıldığı retrospektif bir çalışmada, İA tanısının konulduğu gün g(0) olarak kabul edildiğinde, g(-6) ile g(7) arası alınan serum örneklerinde BDG vs GM-EIA duyarlılığı %80 vs %67 bulunmuştur (222). Metan ve ark.'nın hematolojik maligniteli hastalarda İA tanısında AspLFD ve BDG (Fungatell)'nin performansını karşılaştırdıkları çalışmalarında GM-EIA, BDG, AspLFD testlerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %35.7, %53.5, %13.7 ve %96.6, %76, %99.1 bulunmuştur. Çalışmada BDG'nin PPV'i %26.3 ve NPV'i %73.6 olarak bulunmuştur (223). Pakistan'da bir merkezde İA şüphesi olan ve sağlıklı

kontrollerin dahil edildiği, İA tanısında BDG ve GM testlerinin karşılaştırıldığı vaka-kontrol çalışmasında, *proven*, *probable* ve *possible* tüm vakalar değerlendirildiğinde GM-EIA ve BDG'nin duyarlılığı %80.6 ve %91.6 iken pozitif olasılık oranı (LR+) 0.81 ve 0.92 bulunmuştur. Sadece *proven* vakalar değerlendirildiğinde ise duyarlılık GM-EIA, BDG de sırasıyla %87.5, %100 ve LR+ 0.88 ve 1.00 olarak tespit edilmiştir (224).

2.4.3.3. Aspergillus DNA Tespiti

Serolojik ve kültüre dayalı tanı yöntemlerindeki kısıtlılıklar nedeni ile invaziv mantar enfeksiyonlarının tanısında PCR tekniğiyle fungal nükleik asit tespiti alternatif bir yöntem olarak düşünülmüştür. PCR temelli tekniklerin teorikte yüksek duyarlılığı olmasına rağmen klinikte standardizasyon çalışmaları devam etmektedir. Çalışmalarda İA tanısı için PCR yöntemi tam kan, serum, plazma, BAL sıvısı ve dokuda kullanılmıştır (15). Tüm PCR'lar kısa bir *Aspergillus* DNA dizisine bağlanıp, sentezi başlatacak bir çift oligonükleotit primerine ihtiyaç duyar (193). Hem korunmuş hem de değişken diziler içeren ribozomal DNA kompleksi ana hedeftir (15). PCR duyarlılığı çalışmadan çalışmaya büyük farklılık göstermektedir (%40 ile %100 arasında) (208). PCR'ın dezavantajları antifungal ilaç kullanımı ile PCR sinyallerinin düşmesi ve hastada kullanılan diğer ilaç ya da sıvıların PCR'ı spesifik olmayan şekilde inhibe etmesi olabilir (15). Benzer şekilde kanda bakılan *Aspergillus* PCR'da yanlış negatif sonuçların nedeni örnekte az *Aspergillus* DNA olması veya kan bileşenlerinin PCR inhibisyonu yapması olduğu düşünülmektedir. PCR testinin tekrarlanması ve örnek miktarının artırılması (kan için ≥ 3 ml) PCR performansını artırmaktadır (225).

Kami ve ark.'nın hematolojik maligniteli hastalarda İA tanısında kan örneğinin PCR performansını değerlendirdikleri çalışmalarında PCR, EIA, BDG duyarlılıkları %79, %58, %67, özgüllükleri %92, %97, %84, PPV değerleri %79, %86, %61 ve NPV değerleri %92, %86, %87 bulunmuştur (226). İA tanısı için bronkoalveolar lavaj sıvısından GM-EIA ve PCR bakılan 9 çalışmanın değerlendirildiği bir metaanalizde 1.0 ODI'de BAL GM ve PCR duyarlılığı %94, %82; özgüllüğü %97, %98 olarak tespit edilmiştir (208). Hematolojik maligniteli hastaların dahil edildiği prospektif bir

çalışmada, hastaların BAL sıvılarından *Aspergillus* PCR ve GM-EIA çalışılmış, BAL PCR ve GM duyarlılığı %59 ve %79, özgüllüğü %87 ve %96 bulunmuştur. BAL PCR'ın LR+, LR- ve tanısal tahmini rölatif riski sırasıyla 4.6, 0.47 ve 9.7, BAL GM ve PCR testleri ikisi birden pozitif olduğunda, iki testin kombinasyonun duyarlılığı %55, özgüllüğü %100 bulunmuştur (227). Avusturya ve Almanya'da iki üniversite hastanesinde, %64'ü hematolojik malignite tanılı hastaların dahil edildiği çalışmada İPA tanısında kültür, GM-EIA, AspLFD, BDG ve *Aspergillus* PCR yöntemleri karşılaştırılmıştır. *Proven* ve *probable* vakalar kontrol vakaları ile karşılaştırıldığında kültür, GM-EIA (ODI>0.5), AspLFD, BDG (>80 pg/ml) ve *Aspergillus* PCR testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %50, %80, %80, %80, %70 ve %95, %98, %95, %76, %100 bulunmuştur. Testlerin tanısal tahmini rölatif riskleri ise sırasıyla 19.5, 160, 78, 12.4 ve 161 olarak tespit edilmiştir (228).

2.5. İnvaziv Aspergilloz Profilaksi ve Tedavisi

Hematolojik maligniteli hastalarda İA riskini yönetmek için kabul gören bazı stratejiler şu şekilde sıralanabilir: (i) hastaya fungal etkenlere karşı primer antifungal profilaksi uygulanması, (ii) hastadan haftada en az iki kez biyobelirteç istenmesi ve gerektiğinde radyolojik bulgular ile de desteklenerek antifungal tedavi başlanması, (iii) antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen >96 saati aşan ateş varlığında ampirik olarak geniş spektrumlu antifungal başlanması. Hastanın malignite tipi, alacağı kemoterapi rejimleri, yerel epidemiyoloji ve tanı yöntemlerine erişim hızına göre bu stratejilerden biri seçilebilir (229). Profilaksi ve tedavide Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği 2016 kılavuzu, Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği ve Avrupa Tıbbi Mikoloji Konfederasyonu'nun 2017 kılavuzu ve Avrupa Lösemi Enfeksiyonları Konferansı'nın (ECIL-6) kılavuzunun önerileri sunulacaktır. Her bir rehberin öneri gücü ve kanıt kalitesi için kullanılan kısaltmalar Tablo-1'de belirtilmiştir.

Tablo 1. IDSA, ESCMID ve ECIL-6 kılavuzlarının öneri gücü ve kanıt kalitesi için kullanılan kısaltmalar

AI	[IDSA] güçlü öneri, yüksek kaliteli kanıt; [ECIL-6] güçlü kanıt ve kanıt kaynağının ≥ 1 RCT olması; [ESCMID] güçlü destek ve kanıt kaynağının ≥ 1 RCT olması
AII	[IDSA] güçlü öneri, orta kaliteli kanıt; [ECIL-6] güçlü kanıt ve kanıt kaynağının ≥ 1 randomize olmayan klinik araştırma, kohort veya vaka kontrollü çalışma olması; [ESCMID] güçlü destek ve kanıt kaynağının ≥ 1 randomize olmayan klinik araştırma, kohort veya vaka kontrollü çalışma olması
AIII	[IDSA] güçlü öneri, düşük kaliteli kanıt; [ECIL-6] güçlü kanıt ve kanıt kaynağının klinik deneyime, tanımlayıcı vaka çalışmalarına dayalı saygın otorite görüşleri olması; [ESCMID] güçlü destek ve kanıt kaynağının klinik deneyime, tanımlayıcı vaka çalışmalarına dayalı saygın otorite görüşleri olması
BI	[ECIL-6] orta kanıt ve kanıt kaynağının ≥ 1 RCT olması; [ESCMID] orta derecede destek ve kanıt kaynağının ≥ 1 RCT olması
BII	[ECIL-6] orta kanıt ve kanıt kaynağının ≥ 1 randomize olmayan klinik araştırma, kohort veya vaka kontrollü çalışma olması; [ESCMID] orta derecede destek ve kanıt kaynağının ≥ 1 randomize olmayan klinik araştırma, kohort veya vaka kontrollü çalışma olması
CI	[IDSA] zayıf öneri ve yüksek kaliteli kanıt; [ECIL-6] zayıf kanıt ve kanıt kaynağının ≥ 1 RCT olması; [ESCMID] zayıf destek ve kanıt kaynağının ≥ 1 RCT olması
CII	[IDSA] zayıf öneri ve orta kaliteli kanıt; [ECIL-6] zayıf kanıt ve kanıt kaynağının ≥ 1 randomize olmayan klinik araştırma, kohort veya vaka kontrollü çalışma olması; [ESCMID] zayıf destek ve kanıt kaynağının ≥ 1 randomize olmayan klinik araştırma, kohort veya vaka kontrollü çalışma olması
CIII	[IDSA] zayıf öneri, düşük kaliteli kanıt; [ECIL-6] zayıf kanıt ve kanıt kaynağının klinik deneyime, tanımlayıcı vaka çalışmalarına dayalı saygın otorite görüşleri olması; [ESCMID] zayıf destek ve kanıt kaynağının klinik deneyime, tanımlayıcı vaka çalışmalarına dayalı saygın otorite görüşleri olması
DIII	[ESCMID] kullanılmaması önerisi ve kanıt kaynağının klinik deneyime, tanımlayıcı vaka çalışmalarına dayalı saygın otorite görüşleri olması

ECIL-6: Avrupa Lösemi Enfeksiyonları Konferansı, ESCMID: Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği, IDSA: Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği, RCT: Randomize kontrollü çalışma

2.5.1. Primer ve sekonder profilaksi

Miyelosupresif kemoterapi protokolleri alan AML ve MDS hastalarında invaziv mantar enfeksiyonu gelişimi açısından birçok risk faktörü vardır. İleri yaş, derin ve uzamış nötropeni, fludarabin gibi pürin analogları kullanımı, mukozit, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, diyabet, mantar patojenlerine maruziyet ve HEPA filtre olmayan odalarda yatıyor olmak, yakın zamanda yapılan ev tadilatı ve influenza enfeksiyonu tanımlanan risklerdendir (230, 231). İA, flukonazol profilaksi kullanımının başlaması ile invaziv mantar enfeksiyonları içinde birinci sıraya yerleşmiştir (2). İA için yüksek riskli hastalara küf önleyici aktif profilaksi verilmesi, daha düşük risk altındaki hastalarda ise dikkatli izlem ve preempitif tedavi önerilen yaklaşımdır (12).

Yoğun remisyon indüksiyon kemoterapisi alan AML ve MDS hastalarında ve hematopoietik kök hücre transplantasyonundan sonra GVHD gelişen hastalarda küf etkili antifungal profilaksi önerilmektedir. İlk tercih antifungal ilaç posakonazoldür. Posakonazol profilaksisi IDSA 2016 ve ESCMID 2017 rehberlerinde İA için yüksek risk taşıyan indüksiyon tedavisi alan AML/MDS hastalarında nötropenik kaldıkları dönem boyunca ve orta-ciddi GVHD gelişen allojenik KİT hastalarında AI tavsiye düzeyinde önerilmektedir (124, 229). Vorikonazol profilaksisi aynı hasta grubunda IDSA rehberinde AII, ESCMID rehberinde CII tavsiye düzeyinde önerilmektedir. Posakonazol süspansiyon (3x200 mg), tablet (ilk gün 2x300 mg yükleme, sonrasında 1x300 mg) ve intravenöz (ilk gün 2x300 mg yükleme, sonrasında 1x300 mg) formları bulunmaktadır. Randomize çok merkezli bir çalışmada AML ve MDS hastalarında posakonazol ile flukonazol/itakonazol profilaksileri altında İA gelişimi karşılaştırılmış; posakonazolün invaziv mantar enfeksiyonunu önlemede diğer antifungallere göre çok daha efektif olduğu bulunmuştur (%1 vs %7, $P<0.01$) (232). Tablet formu yüksek biyoyararlanımı, gıda ile alınabilirliği, yüksek serum konsantrasyonu sağlaması ve günde bir kez kullanımı ile oral süspansiyona göre daha avantajlıdır (233).

Allojenik KİT vakalarında IFI profilaksisinde vorikonazol ve flukonazolü karşılaştıran randomize, çift-kör, çok merkezli bir çalışmada invaziv aspergilloz (P=0.09) ve invaziv fungal enfeksiyonlar (%7.3 vs %11.2 P=0.12) vorikonazol grubunda daha az görülse de 6 aylık sağkalım ve ciddi yan etki iki grupta benzer görülmüştür (234). İnvaziv küf enfeksiyonu lokal insidansı %5-8'den az ise erken tanı yöntemlerinin etkin kullanılması şartıyla küf etkili antifungal yerine flukonazol kullanımı seçeneklerden biridir (235, 236). Doksorubisin, idarubisin gibi antrasiklinler azoller ile birlikte kullanıldığında etkileşim olabildiğinden azol profilaksisinin antrasiklin tedavi tamamlanmasından 24 saat sonra başlanması önerilir (231). Ayrıca triazollerin vinka alkaloidleri ile birlikte uygulanması önerilmez.

Allojenik kemik iliği nakli sonrası GVHD gelişen hastalar, İA için yüksek riskli olup bu hasta grubunda da posakonazol profilaksisi önerilir. Antifungal profilaksiyi hastanın immüsupresyonu ortadan kalkana dek alması önerilir. GVHD ilişkili kronik immüsupresyon tanımı, >2 hafta 1 mg/kg/gün dozunda prednizon alması ve/veya TNF-a, lenfosit baskılayıcı ajanlar gibi steroid dışı tedavi almasıdır (124). Allo-KİT sonrası GVHD gelişen 600 hastada yapılan invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı profilakside posakonazol ile flukonazolü karşılaştıran faz 3, randomize, çok merkezli, çift kör, paralel gruplu ve çok uluslu bir çalışmada; posakonazolün İA'yı önlemede flukonazolden üstün olduğu gösterilmiştir (%2.3 vs %7 P=0.006). Ayrıca invaziv mantar enfeksiyonlarına bağlı mortalite posakonazol grubunda daha azken, tedaviye bağlı yan etki insidansı iki grupta benzer görülmüştür (237).

Ekinokandinler ve amfoterisin B'nin lipid formülasyonlarının profilakside kullanımı için yeterli veri yoktur. Fakat flukonazol ile birlikte aerosolize lipozomal amfoterisin B (L-AmB) kullanımı ile ilgili randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada, hematolojik maligniteli hastaların nötropenileri süresince (<300 hücre/mm³) flukonazole ek olarak bir gruba haftada iki ardışık gün 30 dakika nebulizatör ile 5mg/mL'lik L-AmB solüsyonundan 2.5 mL verilmiştir. L-AmB alan grupta plasebo grubuna göre daha az İPA görülmüştür (P=0.007) (238). ESCMID 2017 rehberinde nebulizatör ile L-AmB 12.5mg haftada 2 kere ve flukonazol kombine profilaksisi BI

tavsiye düzeyinde AML hastalarının uzamış nötropeni dönemlerinde önerilmektedir (229).

Sekonder profilaksi, daha önce başarılı bir şekilde İA tedavisi almış hastaların, takip edecek bir immünosupresyon periyodu sırasında İA tekrarını önlemek için antifungal profilaksi almasıdır. Allojenik KİT erken fazında, en az 7 günlük nötropeniye sokacak kemoterapi alacak hastalarda, > grade 1 akut GVHD ve kronik GVHD gelişen hastalarda ve T hücre supresyonu yapan ilaç alanlarda sekonder profilaksi düşünülmelidir. ESCMID rehberinde sekonder profilaksi için vorikonazol (AII) ve Allo-KİT hastalarında nötropeniden çıkana kadar kaspofungin, sonrasında itraconazol (BII) önerilmektedir (229).

2.5.2. İnvaziv aspergilloz tedavisi

İnvaziv aspergillozdan güçlü bir şekilde şüphelenildiğinde tedavi başlanması önerilmektedir. Erken tedavi başlanmasının daha iyi yanıt ve artmış sağkalımla ilişkisi gösterilmiştir (178). Tedavi ampirik (ateş odaklı), preempitif ya da hedefe yönelik olarak yönlendirilebilir (229). Ampirik tedavi ateş odaklı bir tedavi yaklaşımı olarak tanımlanır ve bu yaklaşım için en uygun hasta grupları indüksiyon-remisyon kemoterapisi alan akut lösemi/MDS hastaları ve KİT alıcılarıdır. Bu hasta gruplarında uzamış nötropeni ve geniş spektrumlu antibiyoterapiye rağmen 96 saatten uzun süren ateş varlığında ampirik antifungal tedavi başlanması önerilir (124). ESCMID rehberi ampirik tedavide kaspofungin (AI), L-AmB (BI), vorikonazol (BII) ve mikafungin (BII) kullanımını önerirken; IDSA rehberinde de AmB lipid formülasyonları ve ekinokandinler (kaspofungin ve mikafungin) AI, vorikonazol AII tavsiye düzeyinde önerilmektedir. Ampirik antifungal tedavinin kesilmesi için hastanın ateşsiz olması, nötropeniden çıkması ve aktif enfeksiyon bulgusu olmaması beklenir (239, 240). Preempitif tedavi yaklaşımı, açıklanamayan nötropenik ateşi olan veya IFI için risk altındaki asemptomatik hastaların invaziv olmayan tanı yöntemleri ile erken IFI tanısını koymayı hedefler. Toraks BT bulguları, galaktomannan, BDG ya da PCR testleri tanıyı yönlendirir. Preempitif tedavi yaklaşımı ile gereksiz antifungal kullanımı azaltılır.

IDSA 2016 kılavuzunda İPA tedavisinde birinci tercih antifungal olarak vorikonazolü (AI), alternatif tedavi seçenekleri olarak da L-AmB (AII) ve isavukonazol (AII) önerilmektedir. ECIL-6 rehberinde vorikonazol ve isavukonazol AI, L-AmB ise BI; ESCMID rehberinde vorikonazol ve isavukonazol AI-II, L-AmB ise BII tavsiye düzeyinde önerilmektedir. IDSA refrakter ya da progresif İPA vakalarında kurtarma tedavisi olarak AmB lipid formülasyonları, mikafungin, kaspofungin, posakonazol ve itrakonazol önerirken (AII); ECIL-6 rehberi L-AmB ve diğer lipit formülasyonları ve kaspofungin kullanımını önermektedir (BII) (124, 229, 241). Vorikonazol IV dozu ilk gün 2x6mg/kg, sonraki günler 2x4mg/kg (oral dozu 2x200-300 mg); isavukonazol oral dozu ilk 2 gün 2x200 mg, sonraki günler 1x200mg ve L-AmB IV dozu 1x3 mg/kg'dır. IDSA rehberinde İA tedavi süresinin enfeksiyon ciddiyeti, immünsupresyon süresi ve tedavi yanıtı göz önünde bulundurularak minimum 6-12 hafta olması önerilirken, ESCMID rehberinde ise tedavi süresi önerisi öncelikle tedavi yanıtına ve bağışıklığın yeniden kazanılmasına bağlıdır.

USA ve Kanada'da 25 merkezde yürütülen PATH çalışmasında *proven/probable* İA tanısının 3. gününde hastaların %47.8'ine monoterapi verilirken, %29.1'ine kombine antifungal tedavi verilmiştir. Monoterapi verilen hastalarda en sık tercih edilen ajan sırasıyla vorikonazol (%70.2), L-AmB (%10.7), kaspofungin (%7.3) ve posakonazoldür (%2.9). Kombinasyon tedavisi alan hastalarda tercih edilen antifungal ilaçlar ise vorikonazol + ekinokandin (%57.7), vorikonazol + amfoterisin B (%15) ve ekinokandin + amfoterisin B (%11.1)'dir (30). Hematoloji hastalarında vorikonazol monoterapi ile vorikonazol + anidulafungin kombinasyonunu karşılaştıran randomize kontrollü bir çalışmada 6 haftalık mortalite oranı monoterapi grubunda %27.5 iken kombinasyon grubunda %19.3 bulunmuştur (P=0.087). *Probable* vakalara alt grup analizi yapıldığında ise monoterapi grubunda mortalite oranı %27.3 ve kombinasyon grubunda %15.7 bulunmuştur (P=0.037) (242). Antifungal kombinasyonlar içinde en güçlü öneriye sahip vorikonazol + anidulafungin kombinasyonu olup ECIL-6'da CI, ESCMID'de CI-II ve IDSA'da CII tavsiye düzeyinde önerilmektedir.

İnvaziv aspergillozda erken antifungal tedaviye ek olarak sinüzit gibi akciğer dışı organ tutulumlarında cerrahi debridman da önemli rol oynar (243). *Aspergillus* spp.'nin neden olduğu sinüzit vakalarında, endoskopik sinüs cerrahisi ile debridman enfeksiyonun orbita, diğer sinüsler ve santral sinir sistemine invazyonunu engelleyebilir. Hachem ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, 39 *Aspergillus* sinüziti olan nötropenik hasta çalışmaya dahil edilmiş ve hastaların 13'üne antifungal tedaviye ek olarak sinüs cerrahisi yapılmıştır. Hastaların tedavi yanıtları değerlendirildiğinde sinüs cerrahisi geçiren grubun, sadece antifungal tedavi alan gruba göre tedavi yanıtının daha iyi olduğu görülmüştür (%53.2 vs %19.2 P=0.06) (244). İnvaziv pulmoner aspergillozda da cerrahi müdahale enfeksiyon yayılımını önlemek için düşünülebilir, fakat hematolojik maligniteli hastalarda trombositopeni gibi operasyonu komplike edebilecek durumlar sık olduğundan sadece bazı durumlarda antifungal tedaviye ek olarak cerrahi planlanabilir. Pulmoner lezyon ya da kavitenin rezeksiyonunu gerektirebilecek durumlar şu şekilde sıralanabilir: (i) büyük kan damarları veya perikard ile komşu olan pulmoner lezyon varlığı, (ii) tek bir kaviter lezyondan kaynaklanan hemoptizi gelişmesi, (iii) göğüs duvarında İA invazyonu (27, 151, 245, 246).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Hasta Seçimi ve Veri Toplama

Prospektif, çok merkezli bir validasyon (geçerlilik-güvenirlilik) araştırması ile *Aspergillus* GM-LFA'nın hematolojik maligniteli hastalarda İA tanısında performansının değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmaya Eylül 2019 – Aralık 2021 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bursa Uludağ Tıp Fakültesi Hastanesi, Kayseri Erciyes Tıp Fakültesi Hastanesi ve Antalya Özel Medstar Hastanesi hematoloji servislerinde yatan, 18 yaş ve üstü, İA risk faktörü olan hematolojik maligniteli ve allojenik/otolog KİT alıcısı olan hastalar dahil edildi. İA için risk faktörleri, (i) hematolojik malignite tanısı olan ve aktif tedavi alan ya da refrakter hastalığı olan, (ii) kemoterapi sonrası uzamış nötropeni (≥ 10 gün, ≤ 500 nötrofil/mm³), (iii) allojenik KİT alıcısı olma, (iv) son 60 günde, ≥ 3 hafta ≥ 0.3 mg/kg dozunda kortikosteroid kullanımı, (v) T ve B hücre immünsupresan ilaçlar ile tedavi, (vi) akut GVHD grade ≥ 2 ya da kronik GVHD olarak tanımlandı. Araştırmanın etik onayı Marmara Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alındı (13.09.2019 tarihli, 09.2019.796 protokol numaralı).

Hematoloji hastaları servis yatışları sırasında ateş ve enfeksiyon kliniği gelişimi açısından takip edildi. Küf etkili profilaksi ya da tedavi almayan hematoloji hastalarından yatışları boyunca rutin olarak haftada 2 kere serum örneğinden GM-EIA çalışıldı. Küf etkili tedavi ya da profilaksi alan hastalarda ise klinik şüphe durumunda serum GM-EIA çalışıldı. Enfeksiyon kliniği ya da ateş geliştiğinde antibiyoterapi başlanmadan önce kan kültürü ve odağa yönelik diğer kültürler alındı. Geniş spektrumlu antibiyoterapiye rağmen 96 saati geçen nötropenik ateş varlığında ya da solunum semptomu (öksürük, balgam, göğüs ağrısı, nefes darlığı, hemoptizi) veya sinüzit kliniği olan (sinüzal dolgunluk, burun akıntısı, nazal ve mukozal ülserasyon veya eskar), fizik muayenede akciğerde patolojik ses duyulan, sinüsler üzerinde hassasiyet saptanan hastalara akciğer ve/veya sinüs bilgisayarlı tomografisi çekildi. Akciğer tomografisinde mikro/makro nodül, kavite, hava-hilal veya konsolidasyon bulguları ile başka bir etiyolojik faktörle açıklanamayan ve invaziv aspergilloz şüphesi

uyandıran hastalar çalışmaya vaka grubu olarak alındı, hastalardan GM-EIA ve GM-LFA için serum örneği alındı. Yatan hematoloji hastalarından enfeksiyon kliniği gelişmeyen ya da İA düşündürecek klinik ve radyolojik bulguları olmayan hastalar kontrol grubuna alındı. Hastaların karakteristik özellikleri, malignite tipleri, monoklonal antikor ve steroid kullanımı, komorbiditeleri, geçirilmiş invaziv fungal enfeksiyon öyküleri, profilaktik ve terapötik antifungal kullanımı, solunum semptomları, akciğer tomografisi bulguları, antifungal tedavi durumu, solunum yolu kültürleri ile serum ve BAL GM-EIA ve GM-LFA not edildi.

Kemoterapi protokolünde antifungal profilaksi alması önerilen hastalara küf etkisiz (flukonazol) ya da küf etkili antifungal profilaksi (posakonazol, vorikonazol veya mikafungin) verildi. Hastaların antifungal profilaksileri, hematolojik malignite tipleri, aldıkları kemoterapi rejimi ve ilaç etkileşimi göz önünde bulundurularak düzenlendi. *Breakthrough* invaziv fungal enfeksiyon ≥ 7 gün süreyle fungal patojene karşı bilinen aktiviteye sahip antifungal alan hastalarda olası veya kanıtlanmış enfeksiyon gelişimi olarak tanımlandı (247, 248). Ampirik küf etkili tedavi başlanan, *possible* IFI ya da kandidemi nedeni ile tedavi alan hastalar da invaziv aspergilloz gelişimi açısından takip edildi. Küf etkili antifungal profilaksi/tedavi alan hastalarda rutin galaktomannan takibi yapılmadı; yeni gelişen solunum semptomu, ateş ya da Toraks BT’de yeni bulgu olması durumunda serum GM-EIA ile GM-LFA gönderildi ve hastalar vaka grubuna alındı. İlk analizde tüm hastaların serum örneklerinde GM-LFA ve GM-EIA testlerinin performansları değerlendirildi. İkinci analizde çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi alan hastalar dışlanarak; üçüncü analizde ise çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi veya profilaksi alan hastalar dışlanarak ek analizler yapıldı; antifungal ilaç kullanımının GM-LFA ve GM-EIA testlerinin performansına etkisi değerlendirildi.

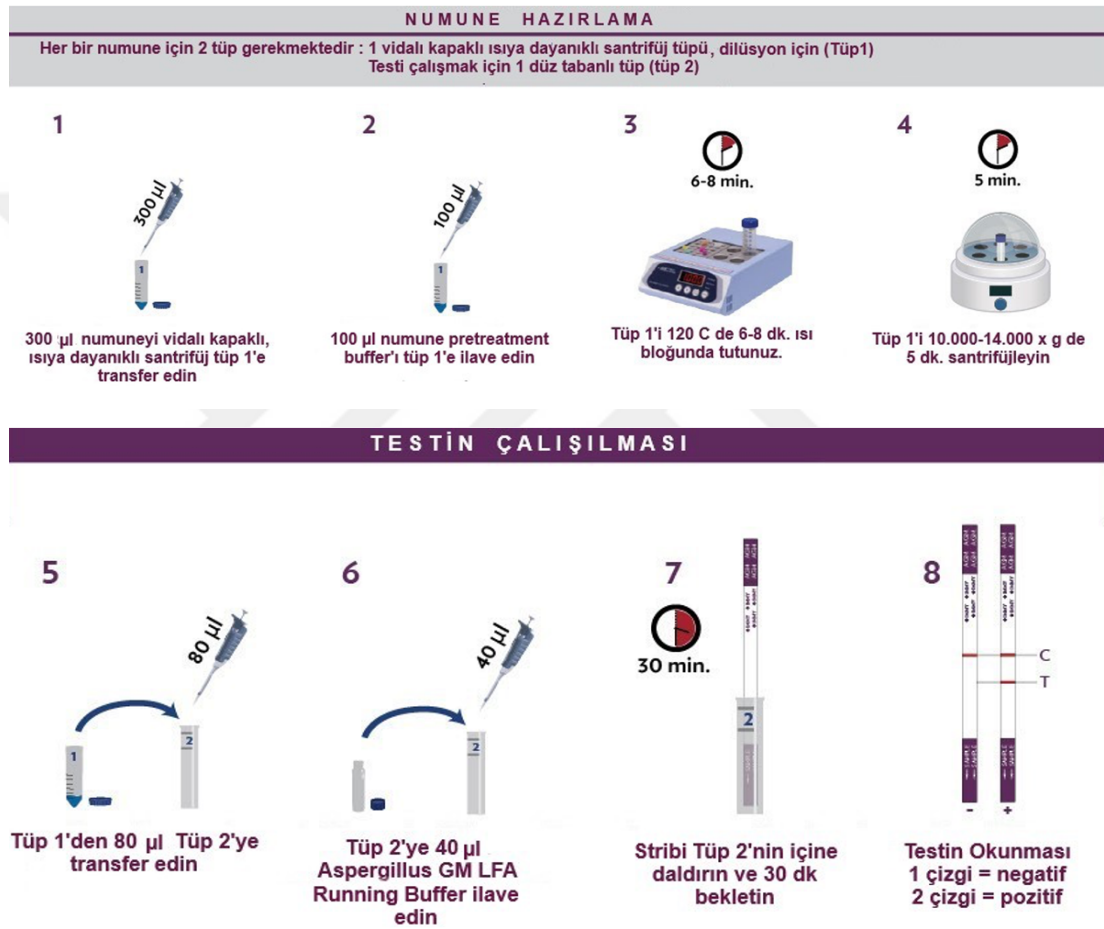
GM-EIA kesim değeri EORTC/MSG kriterlerine göre serum veya BAL örneklerinde ≥ 1 , hem serum hem BAL örnekleme yapılan hastalarda serum ≥ 0.7 ve BAL ≥ 0.8 ise pozitif kabul edildi. Kontrol grubunda hastalar çalışmaya dahil edildiklerinde serumdan rutin alınan GM-EIA yanında ek olarak GM-LFA’da çalışıldı. Vaka grubunda ise rutin alınan GM-EIA’ya ek olarak İA şüphesi olduğunda

serumdan hem GM-EIA ve GM-LFA çalışıldı. Prodüktif öksürüğü olan hastalardan balgam mantar kültürü çalışıldı. Bronkoalveolar lavaj örneklerinde GM-LFA testinin GM-EIA ile korelasyonunu değerlendirmek için hematolojik maligniteli, İA şüphesi olan hastalardan bronkoskopi işlemine uygun olanlara bronkoskopi planlandı, bronkoalveolar lavaj sıvısından GM-EIA ve GM-LFA, mantar kültürü, *Aspergillus* PCR (merkezde mevcut ise) çalışıldı. Hastalardan serum GM-LFA testi alındığı gün 0.gün olarak kabul edildi. Konak faktör, radyoloji ve mikrobiyolojik bulgular ile vakalar, Avrupa Kanseri Araştırma ve Tedavi Kurumu/İnvaziv Mantar Enfeksiyonları Kooperatif Grubu'nun (EORTC-MSGRC) 2019'da invaziv mantar enfeksiyonları için yayınlanmış vaka tanımlama kriterlerine göre 'proven', 'probable', 'possible' İA olarak sınıflandırıldı.

3.2. IMMY sona *Aspergillus* GM-LFA Çalışma Prosedürü

Aspergillus GM-LFA (IMMY), serum ve BAL numunelerinde *Aspergillus* GM'i tespit eden sandviç immünokromatografik bir testtir. Test ilk olarak numune hazırlığı ile başlar. Isıya dayanıklı, ağzı vidalı santrifüj tüpüne 300 µL serum veya BAL sıvısı konulur ve aynı tüpe 100 µL Numune Ön İşlem Tamponu (REF AFSPB1) eklenir. Kapağı sıkıca vidalanan tüp önce vortekslenir, sonrasında ısı bloğuna yerleştirilir. 120° C'de (+/- 3 ° C) 6-8 dakika kaldıktan sonra numune 5 dakika boyunca oda sıcaklığında 10.000-14.000xg'de döndürülür. Numune hazırlığının tamamlanması ile 80 µL süpernatani işlenmiş serum veya BAL sıvısı ayrı bir temiz tüpe alınır. Ayrıca pozitif ve negatif kontrol için temiz bir tüpe 120 µL *Aspergillus* GM Pozitif Kontrol (REF AFPC01) ve diğer bir tüpe 120 µL *Aspergillus* GM LFA Çalışan Tampon (Negatif Kontrol-REF AFLFRB) eklenir. Negatif ve pozitif kontroller ısı işleme tabi tutulmaz. Sonrasında her bir tüpe 40 µL *Aspergillus* GM LFA Çalışan Tamponu (REF AFLFRB) eklenir ve yine her tüpe bir *Aspergillus* GM Yanal Akış Testi Şeridi (REF LFAF50) yerleştirilir. Test oda sıcaklığında 30 dakika boyunca bekletilir. Testin tamamlanmasından sonraki 10 dakika içinde sonuçların okunması gerekir. LFA test şeridi, örneklerde mevcut olabilecek herhangi bir galaktomannana bağlanan koloidal altına konjuge edilmiş *Aspergillus* galaktomannana özgü antikorlara sahip olarak üretilir. Herhangi bir bağlanma meydana gelirse, antikor-antijen kompleksi kapiller

akış yolunu kullanarak görünür bir test çizgisinin oluşmasına neden olur. Pozitif test sonuçlarında test ve kontrol çizgileri olmak üzere iki satırda pembe çizgi oluşur. Negatif sonuçlarda ise sadece kontrol çizgisi yanında bir satırda çizgi oluşur. Bir kontrol çizgisi gelişmezse, test geçerli değildir. Test prosedürü Resim 6'da özetlenmiştir (249). LFA test şeridinden kantitatif sonuç elde etmek için LFA Küp Okuyucu'ya şerit yerleştirilir (250). Ekranda çıkan sonuç kayıt edilir (Resim 7).



Resim 6. IMMY sona *Aspergillus* GM-LFA çalışma prosedürü (249)



Resim 7. IMMY sona *Aspergillus* GM-LFA K p Okuyucu (250)

3.3. Platelia *Aspergillus* ELISA Tekniği

Platelia™ *Aspergillus* antijen, serum ve bronkoalveoler lavaj sıvısı örneklerinde *Aspergillus* galaktomannan antijeni bulunması için tasarlanmış immunoenzimatik sandviç yönteminin kullanıldığı bir testtir. Serum ve BAL sıvısının hazırlanması ile teste başlanır. Negatif kontrol (R3), eşik kontrol (R4) ve pozitif kontrol serum/BAL sıvısı (R5), test edilecek örnek ile aynı anda işlenir. Her test serumu/BAL sıvısı ve kontrolden 300  L pipet ile alınarak 1.5 mL'lik tüplere konulur. Her tüpe 100  L serum işlem  z ltisi (R7) eklenir. Tüpler vorteks karıştırıcı ile karıştırılır ve ısı bloğunda 120 C'de 6 dakika ısıtılır. Isı bloğundan sonra tüpler, santrifüje yerleştirilerek 10.000xg ile dakika santrifüj edilir. Galaktomannan antijen belirlenmesi için süpernatant kullanılır. Süpernatant test edilene kadar 2-8 C'de 48 saat saklanabilir.

Süpernatant hazırlığı ardından EIA prosedürüne geçilir. Reaktifler kullanımdan en az 30 dakika önce oda sıcaklığına (18-25 C) getirilir ve yıkama  z ltisi hazırlanır. Test serumu/BAL sıvısı ve kontrollerin mikro plakada tanımlanması için bir tablo hazırlanır ve R3 için bir kuyucuk, R4 için iki kuyucuk ve R5 için bir kuyucuk kullanılır. Plaka tutucuyu ve mikro kuyucuk şeritleri (R1) plaka poşetinden çıkartılır. Konjugat şişesinin (R6) içindekiler çalkalayarak karıştırılır ve

her kuyucuğa 50 µL R6 eklenir. Sonra her kuyucuğa 50 µL işlem görmüş serum/BAL süpernatantı eklenir. Plaka, plaka izolatörü ile kapatılır. Mikro plaka kuru inkübatör içinde 37°C'de ($\pm 1^\circ\text{C}$) 90 $\pm$ 5 dakika inkübe edilir. İnkübasyon ardından plaka izolatörü çıkarılır ve her kuyucuğa hızla 200 µL Kromojen TMB (R9) Reaksiyon Çözeltisi (R8 + R9) eklenir. Mikroplaka oda sıcaklığında (18 ila 25°C) karanlık ortamda 30 $\pm$ 5 dakika inkübe edilir. Her kuyucuğa 100 µL Durdurma Çözeltisi (R10) eklenir, R9 solüsyonu ile aynı sırada konulur ve karıştırılır. Her kuyucuğun optik yoğunluğun 450nm'de okunulur (referans filtre 620/630 nm). Test örneğinde galaktomannan varlığı veya yokluğu her hasta örneği için indeks hesaplamasıyla bulunur. İndeks değer, optik yoğunluk değerinin R4 içeren kuyucukların optik yoğunluklarının ortalamasına bölünmesi ile bulunur. Testin kullanım kılavuzunda Serum/BAL sıvısı indeksi <0.50 olan örnekler galaktomannan antijen için negatif, indeksi ≥ 0.5 olanlar ise pozitif olarak tanımlanmıştır (202). Fakat EORTC/MSG kriterlerinde indeks değeri ≥ 1.0 olanlar pozitif olarak değerlendirilmektedir.

3.4. İstatistik

Data analizleri IBM SPSS İstatistik sürüm 26.0 paket programı (*International Business Machines Corporation*, Armonk, New York, ABD) ile yapıldı. Tanımlayıcı istatistik, nitel kategorik değişkenler için frekans ve yüzdeleri; normal dağılım göstermeyen nicel değişkenler ortanca, en yüksek-en düşük değer ve çeyrekler arası aralık (IQR) ile sunuldu. Nitel kategorik değişkenlerde 2x2 tablolarda her hücrede örneklem sayısı >25 üstünde ise Pearson ki-kare; <25 ise Yates ki-kare (süreklilik düzeltmesi); hücrelerde beklenen frekans >%20 ise Fisher kesin olasılık testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen bağımsız nicel verilerde iki bağımsız grubu karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi, ikiden fazla grubu karşılaştırmak için Kruskal Wallis testi; normal dağılım gösteren nicel verilerde iki bağımsız grubu karşılaştırmak için bağımsız gruplarda T test kullanıldı. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Serum örneklerinde GM-LFA testinin 0.5, 1.0 ODI kesim noktalarında performansı değerlendirildi; duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer, tanısal doğruluk hesaplandı. Serum örneklerinde GM-LFA

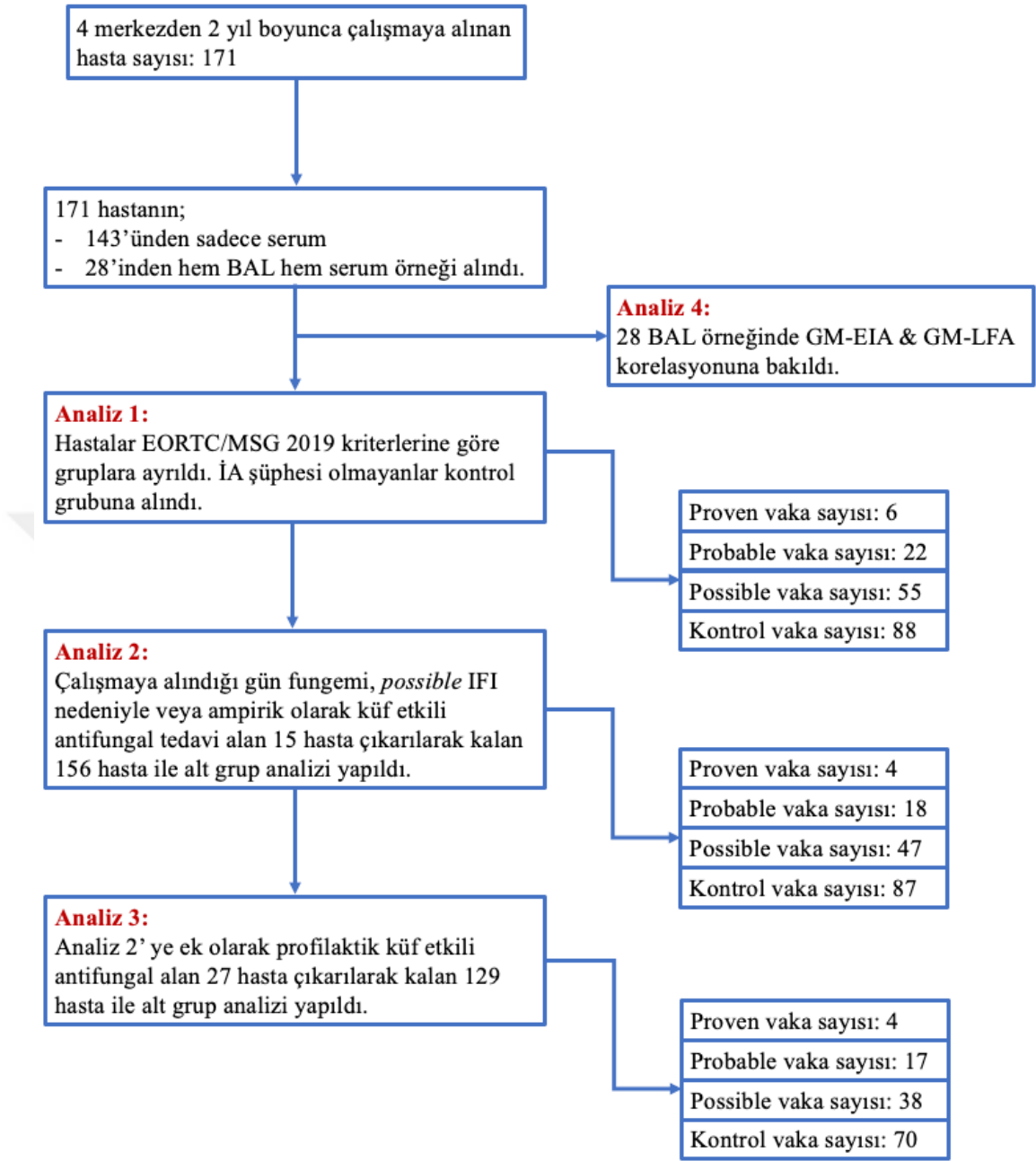
performansı vaka ve kontrol grupları karşılaştırılarak alıcı çalışma karakteristikleri (ROC) analizi yapıldı, %95 güven aralığında (%95 CI) eğri altında kalan (AUC) değerleri sunuldu. GM-LFA vaka ve kontrol grupları kıyaslanarak Youden indeks (duyarlılık + özgüllük-1) ile en yüksek doğruluk veren kesim noktası belirlendi. ROC eğrisi ile duyarlılık ve özgüllük arasındaki optimal ilişki göz önüne alınarak kesim değeri verildi. GM-LFA ve GM-EIA arasındaki ilişkiyi belirlemek için sürekli nicel değişkenlerde Spearman korelasyon analizi yapılarak korelasyon katsayısı (ρ), kategorik değişkenlerde (0.5 ve 1.0 değerlerine göre test pozitifliği) Kappa uyum testi yapılarak Cohen'in kappa katsayısı (κ) ve standart hata (SE) verildi. Spearman korelasyon katsayısı 0.40-0.69 arasında ise 'orta şiddette korelasyon', 0.70-0.89 arasında 'yüksek korelasyon' ve 0.90-1.00 ise 'çok yüksek korelasyon' olduğu yorumu yapıldı (251). Landis ve Koch'un sınıflandırmasına göre >0.8 kappa değerleri 'çok iyi düzeyde uyum', 0.61-0.8 arasındaki değerler 'iyi düzeyde uyum' ve 0.41-0.60 arasındakiler ise 'orta düzeyde uyum' olarak tanımlanmıştır (252).

4. BULGULAR

4.1. Serum Örneklerinde GM-LFA Etkinliğinin ve GM-EIA ile Uyumunun Değerlendirilmesi

Çalışmaya Eylül 2019 – Aralık 2021 tarihleri arasında 4 merkezden 171 hematolojik malignite tanılı hasta alınmıştır. Hastaların hepsinden serum örneği alındı, 28 hastadan serum örneğine ek BAL örneği alınabildi. BAL örnekleri kendi içinde GM-EIA ve GM-LFA korelasyonu açısından değerlendirildi. Hastalar EORTC/MSG 2019 kriterlerine göre İA varlığı açısından gruplandırıldı, İA şüphesi olmayan hastalar kontrol grubuna dahil edildi. Hastaların 6'sı *proven* İA (%3.5), 22'si *probable* İA (%12.9), 55'i *possible* İA (%32.2) grubunda ve 88'i kontrol (%51.5) grubunda yer aldı (Şekil 5). *Proven* İA tanılı 6 hastadan 5'inde sinonazal doku kültürde, birinde ise akciğer biyopsisi doku kültüründe *Aspergillus* spp. gösterilmesinin yanı sıra histopatoloji ile de doku hasarı ve küf yapıları gösterildi. *Probable* İA tanılı 6 vakanın solunum örneklerinde *Aspergillus* spp. üremesi oldu.

Hastaların ortalama yaşı 54 (min-max, IQR; 18-91, 27) ve cinsiyet olarak %58.5'i (n=100) erkek idi. Hematolojik malignitelere göre sınıflandırıldığında hastaların %50.9'u akut lösemi (n=87, AML %36.3, ALL %14.6), %28.1'i lenfoma (n=48, HL %7.6, NHL %20.5), %11.7'si (n=20) multipl miyelom ve %2.3'ü (n=4) miyelodisplastik sendrom tanılıydı. *Proven* vakaların 2'si NHL (%33.3), diğer 4'ü AML (%16.7), ALL (%16.7), KLL (%16.7) ve HL (%16.7) tanılıydı. *Probable* 22 vakanın ise 9'u AML (%40.9), 4'ü NHL (%18.2), 3'ü ALL (%13.6), 2'si MM (%9.1), 2'si malign histiyositoz (MH) (%9.1), diğerleri kronik myeloid lösemi (KML) (%4.5) ve aplastik anemi (%4.5) tanılıydı. Hematolojik maligniteler akut lösemi, lenfoma ve diğer malignite tipleri olarak sınıflandırıldığında *proven/probable*, *possible* ve kontrol grupları arasında fark vardı ($P=0.021$) ve bu fark *possible* grup ile kontrol grup arasındaki farktan kaynaklanmaktaydı ($P=0.004$). *Possible* İA hastaların içinde kontrole göre daha fazla oranda akut lösemi tanılı hasta varken (%67.3 vs %40.9), lenfoma tanılı hasta kontrol grubunda daha fazlaydı (%14.5 vs %37.5).



Şekil 5. Çalışmaya alınan hastaların dağılımı

Hastaların 17'si otolog, 12'si allojenik hematopoetik kemik iliği nakilli idi. Allo-KİT yapılan hastaların 4'ünde GVHD gelişti. En sık eşlik eden komorbiditeler: hipertansiyon (%15.8), kardiyovasküler hastalık (%12.3) ve diyabetes mellitus (%9.4) olarak bulundu. Hastalar *proven/probable*, *possible* ve kontrol olarak gruplandırılarak değerlendirildi. Gruplar arasında KVH dışında diğer komorbiditelerin görülme sıklıkları arasında istatistiksel anlamlılık izlenmedi. KVH, *possible* İA grubunda kontrol grubuna göre daha fazlaydı (Yates ki-kare, $P=0.008$). Hastaların demografik

özellikleri Tablo-2’de özetlenmiştir. Tablo-3’de *proven* ve *probable* İA vakalarının klinik ve laboratuvar özellikleri gösterilmektedir.

Tablo 2. Hastaların toplam ve gruplara göre demografik özellikleri

		Toplam		Proven+ Probable İA		Possible İA		Kontrol	
Yaş [Ortanca (min-max, IQR)]		54 (18-91, 27)		51 (19-73, 24)		57 (18-77, 27)		54 (18-91, 27)	
		N=171	%	N=28	%	N=55	%	N=88	%
Cinsiyet	Erkek	100	58.5	18	64.3	28	50.9	54	61.4
	Kadın	71	41.5	10	35.7	27	49.1	34	38.6
Hematolojik Malignite	AML	62	36.3	10	35.7	30	54.5	22	25.0
	ALL	25	14.6	4	14.3	7	12.7	14	15.9
	HL	13	7.6	1	3.6	4	7.3	8	9.1
	NHL	35	20.5	6	21.4	4	7.3	25	28.4
	MM	20	11.7	2	7.1	4	7.3	14	15.9
	MDS	4	2.3	0.0	0.0	3	5.5	1	1.1
	Diğer	12	7.0	5	17.9	3	5.5	4	4.5
KİT	HSCT	29	17.0	3	10.7	13	23.6	13	14.8
	Otolog	17	9.9	2	7.1	8	14.5	7	8.0
	Allojenik	12	7.0	1	3.6	5	9.0	6	6.8
	GVHD	4	2.3	0.0	0.0	1	1.8	3	3.4
Komorbidite	KVH	21	12.3	4	14.3	12	21.8	5	5.7
	DM	16	9.4	3	10.7	5	9.1	8	9.1
	HT	27	15.8	3	10.7	8	14.5	16	18.2
	KOAH	3	1.8	2	7.1	1	1.8	0	0.0
	KBY	7	4.1	2	7.1	3	5.5	2	2.3
	KKH	9	5.3	1	3.6	2	3.6	6	6.8
	Onkolojik Malignite	5	2.9	0	0.0	1	1.8	4	4.5
	Akciğer TBC öyküsü	4	2.3	1	3.6	0	0.0	3	3.4
	PTE Öyküsü	4	2.3	1	3.6	0	0.0	3	3.4
	Romatolojik Hastalık	4	2.3	0	0.0	1	1.8	3	3.4
	Tiroid Hastalığı	2	2.3	1	3.6	2	3.6	1	1.1
	HIV	1	0.6	0	0.0	0	0.0	1	1.1

AML: Akut myeloid lösemi, ALL: Akut lenfoblastik lösemi, DM: Diyabetes mellitus, GVHD: Greft versus host hastalığı, HL: Hodgkin lenfoma, HSCT: Hematopoietik kök hücre nakli, HT: Hipertansiyon, IQR: Çeyrekler arası aralık, İA: İnvaziv aspergilloz, KBY: Kronik böbrek yetmezliği, KKH: Kronik karaciğer hastalığı, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, KVH: Kardiyovasküler hastalık, MDS: Miyelodisplastik Sendrom, MM: Multipl miyelom, NHL: Non-Hodgkin lenfoma, PTE: Pulmoner tromboemboli, TBC: Tuberküloz

Tablo 3. Tanı anında *proven* ve *probable* İA vakalarına ait bulgular

EORTC/MSG	Kültür	Malignite	Sürvi ⁺	Nötropeni [†]	Serum EIA	Serum LFA	BAL EIA	BAL LFA
Probable İA*		ALL	Sağ	Var	7.174	4.3		
Probable İA		MM	Sağ	Yok	2.5	2.03	4.453	2.17
Probable İA	<i>A. fumigatus</i>	MH	Ex	Var	2.08	1.69		
Probable İA		AML	Sağ	Var	1.839	1.53		
Probable İA		AML	Sağ	Var	0.03	0.1	2.655	1.09
Proven İA	<i>Aspergillus spp</i>	KLL	Sağ	Var	1.765	2.23		
Probable İA	<i>Aspergillus spp</i>	MM	Sağ	Yok	5.188	3.02	4.7	21.13
Probable İA		AA [§]	Ex	Var	1.7	1.52		
Probable İA		NHL	Sağ	Yok	0.039	0	3.288	1.13
Probable İA	<i>A.fumigatus</i>	NHL	Ex	Var	3.926	2.7	20	1.5
Probable İA		AML	Ex	Yok	20	4.37		
Probable İA		KML	Sağ	Yok	0.04	0.31	2.84	0.87
Probable İA		NHL	Sağ	Yok	2.307	2.01	1.195	1.17
Probable İA		AML	Sağ	Var	0.776	0.96	0.859	1.24
Proven İA	<i>A.fumigatus</i>	NHL	Ex	Var	1.36	1.12		
Probable İA		NHL	Ex	Yok	5.468	1.3		
Proven İA*	<i>Aspergillus spp</i>	NHL	Sağ	Yok	2.963	1.45		
Probable İA		MM	Sağ	Var	2.8	1.2		
Probable İA*		AML	Sağ	Yok	4.77	3.41		
Proven İA	<i>A.flavus</i>	ALL	Ex	Var	3.94	15.03		
Probable İA	<i>A.flavus</i>	AML	Sağ	Yok	0.17	0.2		
Probable İA		AML	Ex	Var	2.7	1.34		
Proven İA	<i>Aspergillus spp</i>	HL	Ex	Var	2.116	2.46	4.034	1.7
Probable İA		ALL	Sağ	Var	1.083	1.91		
Probable İA*		AML	Ex	Var	22.4	15.2		
Probable İA*	<i>A. terreus</i>	AML	Sağ	Var	0.228	0.116		
Proven İA*	<i>A.flavus</i>	AML	Sağ	Var	0.286	0.273	0.241	0.223
Probable İA	<i>A. fumigatus</i>	ALL	Sağ	Var	0.236	0.213	2.88	2.05

AA: Aplastik anemi, AML: Akut myeloid lösemi, ALL: Akut lenfoblastik lösemi, BAL: Bronkoalveolar lavaj, EIA: Enzim immünoassay, HL: Hodgkin lenfoma, İA: İnvasiv aspergilloz, KLL: Kronik lenfositik lösemi, KML: Kronik myeloid lösemi, LFA: Lateral akış testi, MH: Malign histiyositoz, MM: Multipl miyelom, NHL: Non-Hodgkin lenfoma, PMNL: Polimorfonükleer lökosit [§]Aplastik anemi hastası steroid ve siklosporin kullanımı nedeni ile dahil edildi. ⁺ 30 günlük sağ kalım [†] 0. günde nötropeni varlığı *Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal kullanan hastalar

Son 3 ay içinde hastaların %11.1'i monoklonal antikor ya da tirozin kinaz inhibitörü; %4.7'si T hücre immünsüpresanı (siklosporin, takrolimus) kullandığı tespit edildi. Hastaların %17.5'i son 2 ayda ≥ 3 hafta süre ile ≥ 0.3 mg/kg dozunda kortikosteroid kullandığı görülmüştür. Gruplar arasında kortikosteroid kullanımı açısından anlamlı fark olup (Pearson Ki-kare, $P=0.003$), bu fark *proven/probable* İA grubunda hem *possible* İA grubuna (Yates ki-kare, $P=0.042$) göre hem de kontrol grubuna (Yates ki-kare, $P=0.002$) göre daha fazla steroid kullanımından kaynaklanmaktadır. Son 6 ayda *proven/probable* İA ve *possible* İA gruplarında, kontrol grubuna göre daha fazla invaziv fungal enfeksiyon gelişmiştir (Fisher kesin olasılık testi, sırasıyla $P=0.029$ ve $P=0.027$). Son 6 ayda IFI öyküsü olan 14 hastadan 4'ü fungemi (*Candida auris*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Saprochaete clavata*), 9'u *possible* IFI nedeni ile antifungal tedavi almıştı. Tablo-4'te hastaların İA riski oluşturan konak faktörleri özetlenmiştir.

Tablo 4. Hastaların İnvaziv Aspergilloz için konak faktörleri

	Toplam		Proven ve Probable İA		Possible İA		Kontrol		P*
N %	171	%	28	%	55	%	88	%	
MA / TKİ Kullanımı	19	11.1	4	14.3	3	5.5	12	13.6	.26
Kortikosteroid Kullanımı	30	17.5	11	39.3	9	16.4	10	11.4	.003
T hücre Baskılayıcı Ajan Kullanımı	8	4.6	1	3.6	2	3.6	5	5.7	
Son 6 ayda IFI Öyküsü	14	8.1	5	17.9	7	12.7	2	2.3	
Fungemi	4	2.3	2	7.1	1	1.8	1	1.1	
Possible IFI	10	5.8	3	10.7	6	10.9	1	1.1	

IFI: İnvaziv fungal enfeksiyon, İA: İnvaziv aspergilloz, MA: Monoklonal Antikor, TKİ: Tirozin Kinaz İnhibitörü
 *Çok gözlü düzenlerde Ki-Kare testi (Hücrelerin %20'den fazlasında beşten az beklenen frekans var ise test uygulanmadı.)

Hastaların %50.3'ü çalışmaya alındıkları gün profilaktik antifungal (%15.8 küf etkili, %34.5 küf etkisiz) kullanırken, gruplar arasında profilaktik antifungal kullanımı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (Pearson Ki-kare, $P=0.24$). *Proven* ve *probable* İA tanısı alan hastalardan 9'u küf etkisiz, 1'i küf etkili antifungal profilaksi almaktaydı. Küf etkili antifungal profilaksi alan hasta, MDS'ye sekonder AML tanısı ile takipliydi ve hastada posakonazol profilaksisi başlanmasından 12 gün sonra *probable* İA tespit edilmişti.

Hastalardan %11.1'i (N=19) çalışmaya alındığı gün oral kandidiyaz, fungemi, *possible* IFI tedavisi ya da ampirik başlanan antifungal tedavi almaktaydı, *proven/probable* İA ile *possible* İA gruplarında tedavi için antifungal kullanımı kontrol grubundan anlamlı olarak daha fazlaydı (Fisher kesin olasılık testi, $P=0.002$ ve $P=0.011$). *Proven/probable* İA ve *possible* İA grupları arasında terapötik antifungal kullanımında anlamlı fark gözlenmedi (Yates ki-kare, $P=0.51$). *Proven* İA grubundan 2 hasta ampirik başlanan L-AmB; *probable* İA grubundan bir hasta oral kandidiaz nedeni ile flukonazol, bir hasta *Candida tropicalis* kandidemisi nedeni ile kaspofungin, bir hasta *possible* IFI düşünülerek başlanan L-AmB, bir hasta ampirik L-AmB ve 1 hasta ampirik kaspofungin + vorikonazol alıyordu. *Possible* İA grubundan ampirik olarak dört hastaya L-AmB, *possible* IFI düşünülerek iki hastaya L-AmB, bir hastaya posakonazol, bir hastaya vorikonazol ve oral kandidiyaz için bir hastaya flukonazol başlanmıştı. Kontrol grubunda da bir hasta *Candida auris* kandidemisi nedeni ile anidulafungin, 2 hasta oral kandidiyaz nedeni ile flukonazol almaktaydı. Hastaların ortalama nötropeni süresi ($\pm$ standart hata) 17.04 ± 4.15 idi; nötropeni ortanca süresi 6 gün (0-630, IQR=15), *proven/probable*, *possible* ve kontrol vakaların ortanca süreleri sırasıyla 15.5 (0-205, 52), 12 (0-140, 16) ve 0.5 (0-630, 7) gündü.

Hastaların çalışmaya alındıkları gün %38'inin solunum semptomu, %46.8'inin ateşi ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) vardı. *Proven/probable* İA ve *possible* İA gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ateş ve solunum semptomu görülme sıklığı fazlaydı (Yates ki-kare, $P<0.001$), *proven/probable* ile *possible* İA grubu arasında ise anlamlı fark görülmemiştir (Yates ki-kare, ateş $P=0.68$, solunum semptomu $P=1.0$). GM testlerinin alındığı gün piperasilin tazobaktam kullanımlarına bakıldığında *possible* İA grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark varken (Yates ki-kare, ateş $P=0.04$); *proven/probable* İA grubu ile kontrol grubu ve *proven/probable* İA grubu ile *possible* İA grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla Fisher kesin olasılık testi, $P=1.0$; Yates ki-kare, $P=0.108$). Son 2 haftada gelişen bakteriyel enfeksiyonlar açısından gruplar karşılaştırıldığında *proven/probable* İA grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha fazla bakteriyel enfeksiyon varken (Fisher kesin olasılık testi, $P=0.002$), *possible* İA grubu ile anlamlı fark saptanmamıştır (Yates ki-kare, $P=0.27$). Hastaların çalışmaya dahil edildikleri gün kaydedilen klinik özellikleri ve laboratuvar değerleri Tablo-5 ve 6'da özetlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların

%5.8'inde (N=10) son bir ay içinde COVID PCR pozitifliği tespit edilmişti. Hastaların biri *probable* İA grubunda, 5'i *possible* İA ve 4'ü kontrol grubundaydı.

Tablo 5. Hastaların çalışmaya dahil edildikleri gün kaydedilen klinik özellikleri

	Toplam		Proven + Probable		Possible		Kontrol		P*
N %	171	%	28	%	55	%	88	%	
Profilaktik AF Kullanımı	86	50.3	10	35.7	29	52.7	47	53.4	.24
Küf Etkili	27	15.8	1	3.5	9	16.3	17	19.3	
Küf Etkisiz	59	34.5	9	32.1	20	36.3	30	34.0	
Terapötik AF Kullanımı	19	11.1	7	25.0	9	16.4	3	3.4	.002
Solunum Semptomu	65	38.0	17	60.7	34	61.8	14	15.9	<.001
Ateş	80	46.8	20	71.4	43	78.2	17	19.3	<.001
Pip&Tazo Kullanımı	31	18.1	3	10.7	16	29.1	12	13.6	.035
Bakteriyel Hastalık [†]	30	17.5	10	35.7	12	21.8	8	9.1	.003
İnfluenza [†]	3	1.8	1	3.6	1	1.8	1	1.1	
Nötropeni Süresi (Ort±SE)	17.04 ± 4.15		35.7 ± 9.5		14.5 ± 2.7		12.6 ± 7.2		

AF: Antifungal, Pip&Tazo: Piperasilin tazobaktam, SE: Standart hata,

[†]Son 2 haftada

*Çok gözlü düzenlerde Ki-Kare testi (Hücrelerin %20'den fazlasında beşten az beklenen frekans var ise test uygulanmadı.)

Tablo 6. Hastaların çalışmaya dahil edildikleri gün kaydedilen laboratuvar değerleri

	Toplam N=171 Ortanca (min-max, IQR)	Proven/Probable İA N=28 Ortanca (min-max, IQR)	Possible İA N=55 Ortanca (min-max, IQR)	Kontrol N=88 Ortanca (min-max, IQR)
Mutlak Nötrofil Sayısı (x10 ³ /µL)	1 (0-70, 3.9)	0.19 (0-23.8, 1.7)	0.5 (0-70.7, 3)	2.2 (0-27.5, 4.4)
ALT (U/L)	20 (3-297, 29.1)	31.5 (5-141, 40.3)	17 (3-195, 25)	20.5 (4-297, 28.9)
Kreatinin (mg/dL)	0.64 (0.24-10.2, 0.29)	0.62 (0.28-3.95, 0.33)	0.71 (0.25-2.77, 0.41)	0.62 (0.24-10.2, 0.27)
Albümin (g/L)	31.8 (11-48, 9)	27 (19-41, 7)	30 (19-40, 8)	34.5 (11-48, 9)
CRP (mg/L)	45 (0.2-414, 125.3)	112 (3-414, 152.3)	100 (0.2-397, 113)	13,5 (0.2-268, 47.3)
Prokalsitonin (µg/L)	0.19 (0.02-31.8, 0.39)	0.38 (0.05-4.68, 0.64)	0.35 (0.05-21.6, 0.91)	0.13 (0.02-31.8, 0.17)

ALT: Alanin aminotransferaz, IQR: Çeyrekler arası aralık, Max: En yüksek değer, Min: En düşük değer

Proven, probable ve *possible* İA tanısı alan hastaların toraks BT bulgularına bakıldığında %72.3'ünde nodül, %69.9'unda konsolidasyon ve %61.4'ünde buzlu cam görülmüştür. İki grup arasında toraks BT bulguları arasında anlamlı fark görülmemiştir. Vaka grubundaki hastaların toraks BT bulguları Tablo-7'de özetlenmiştir.

Tablo 7. Vaka grubundaki hastaların toraks BT bulguları

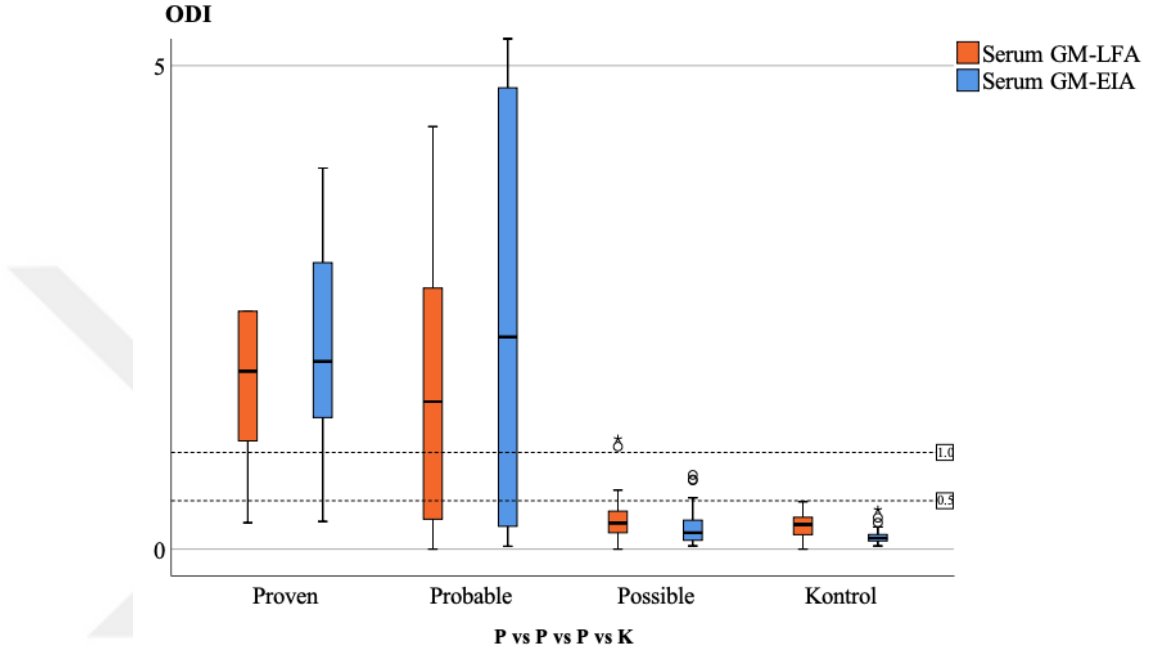
	Toplam		Proven/Probable İA		Possible İA		P
	N = 83	%	N=28	%	N=55	%	
Nodül	60	72.3	22	78.6	38	69.1	.514*
Hava-Hilal Bulgusu	2	2.4	1	3.6	1	1.8	1.0**
Kavite	5	6.0	3	10.7	2	3.6	.33**
Konsolidasyon	58	69.9	16	57.1	42	76.4	.12*
Buzlu Cam	51	61.4	18	64.3	33	60.0	0.88*
Tree-in-bud	10	12.0	4	14.3	6	10.9	.72**
Plevral Efüzyon	31	37.3	6	21.4	25	45.5	.058*
Atelektazi	22	26.5	7	25.0	15	27.2	1.0*

*Yates ki-kare, ** Fisher kesin olasılık testi

Çalışmaya alınan hastalarda tüm nedenlere bağlı 30 günlük mortalite oranı %19.9 (34/171), *proven* İA grubunda %50 (3/6), *probable* İA %31.8 (7/22), *possible* İA %27.3 (15/55) ve kontrol grubunda %10.2 (9/88) olarak tespit edilmiştir. *Proven/probable* İA vakaları ile kontrol grubu arasında mortalite yönünden anlamlı fark görülmüştür (Fisher kesin olasılık testi, $P=0.003$). Ayrıca *possible* grup ile kontrol grubu arasında da anlamlı fark saptanmıştır (Yates ki-kare, $P=0.015$); fakat *proven/probable* İA ile *possible* İA grupları arasında mortalite açısından anlamlı fark gösterilememiştir (Yates ki-kare, $P=0.59$).

Proven, probable İA vakalarında serumdan çalışılan GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri hem *possible* İA hem de kontrol vakalarına göre anlamlı daha yüksek bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, $P<0.001$) (Şekil-6). *Proven, probable, possible* İA ve kontrol gruplarında GM-LFA ortanca ODI değerleri sırasıyla 1.84, 1.52, 0.27, 0.25 iken; GM-EIA ortanca değerleri 1.94, 2.19, 0.16, 0.115

bulunmuştur. GM-LFA ve GM-EIA ortanca, minimum, maksimum, çeyrekler arası aralık ve 25. ve 75. çeyreklerdeki indeks değerleri Tablo-8’de gösterilmiştir. Serum GM-EIA ODI <0.5 olduğu hastalardaki LFA ODI ortancası 0.26 (min-max, IQR; 0.0-0.51, 0.18); EIA ≥ 0.5 olan hastaların LFA ODI ortancası 1.69 (min-max, IQR; 0.6-15.2, 1.69) olarak tespit edilmiştir.



Şekil 6. Vaka ve kontrol gruplarında serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerlerinin kümelenmiş kutu grafiği ile gösterimi

Tablo 8. Vaka ve kontrol gruplarında serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri

GM ODI	Proven İA		Probable İA		Possible İA		Kontrol	
	LFA	EIA	LFA	EIA	LFA	EIA	LFA	EIA
Min.	0.27	0.28	0.0	0.03	0.0	0.03	0.0	0.03
25. yüzdelerik	0.90	1.09	0.28	0.23	0.17	0.086	0.15	0.083
Ortanca	1.84	1.94	1.52	2.19	0.27	0.16	0.25	0.115
75. yüzdelerik	5.6	3.2	2.78	4.87	0.4	0.30	0.33	0.15
Max.	15.03	3.94	15.2	22.4	1.14	0.76	0.49	0.40
IQR	4.69	2.1	2.49	4.6	0.23	0.21	0.18	0.069

EIA: Enzim immünoassay, GMI: Galaktomannan optik yoğunluk indeksi, IQR: Çeyrekler arası aralık, İA: İnvaziv aspergilloz, LFA: Lateral akış testi, Max: En yüksek değer, Min: En düşük değer

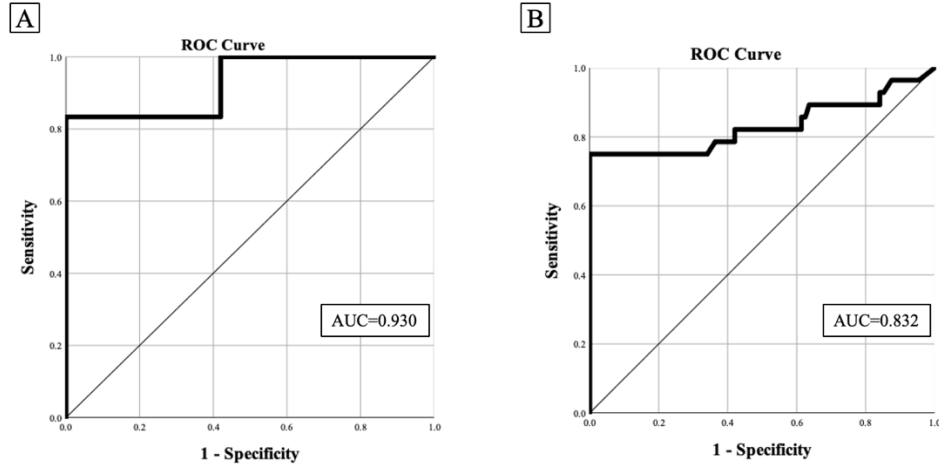
Proven İA ve kontrol grupları karşılaştırıldığında 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında GM-LFA'nın duyarlılığı %83.3, özgüllük ve PPV %100, NPV'si %98.9 olarak bulunmuştur (%95 CI). *Proven/probable* vs kontrol vakaların kıyaslanmasında ise yine 2 kesim noktasında da özgüllük ve PPV %100 iken, duyarlılık, NPV 0.5 ve 1.0 ODI'de sırasıyla %75, %92.6 ve %71.4, %91.7 olarak bulunmuştur (Tablo-9). GM-LFA testinin tanısallık doğruluk (*diagnostic accuracy*) değerleri 0.5 ODI kesim noktasında *proven* İA grubunda %98.9, *proven/probable* İA gruplarında %93.9 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 9. 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında GM-LFA testinin performansı

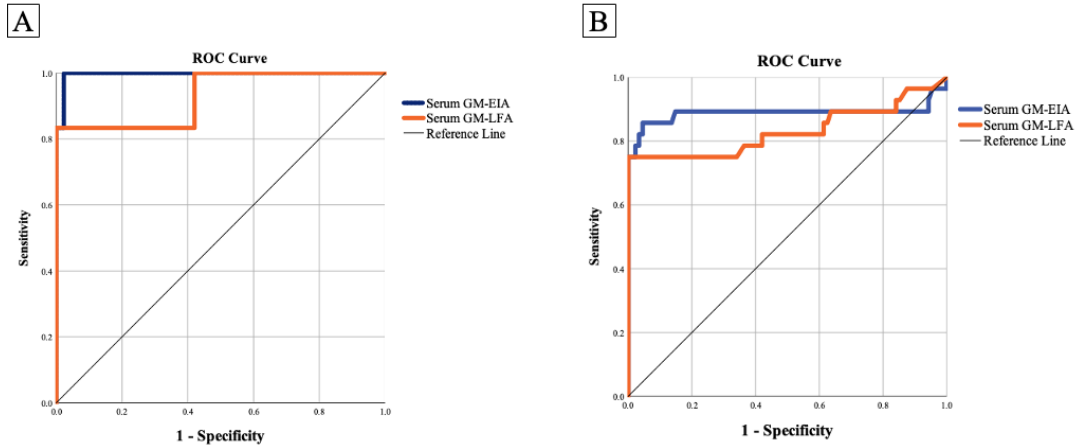
%95 CI	ODI	Duyarlılık	Özgüllük	PPV	NPV
Proven İA (n=6) VS Kontrol (n=88)					
	0.5 ODI	% 83.3	% 100	% 100	% 98.9
	1.0 ODI	% 83.3	% 100	% 100	% 98.9
Proven İA (n=6) + Probable İA (n=22) VS Kontrol (n=88)					
	0.5 ODI	% 75	% 100	% 100	% 92.6
	1.0 ODI	% 71.4	% 100	% 100	% 91.7

Vaka ve kontrol gruplarının serum LFA sonuçlarının ROC analizlerinde testin İA ayırma gücünün oldukça yüksek olduğu görülmüştür. *Proven* vs kontrol grubu karşılaştırıldığında AUC 0.930 (%95CI 0.802-1.000) ve *proven/probable* vs kontrol grubunda ise AUC 0.832 (%95CI 0.716-0.949) olarak bulunmuştur ($P<0.001$) (Şekil-7). ROC analizinde *proven* İA vs kontrol grupları kıyaslandığında Youden indeksten ($J = 0.83$) elde edilen en yüksek doğruluk veren kesim noktası 0.805 olup bu noktada duyarlılık %83.3 ve özgüllük %100 saptanmıştır. Kesim noktası 0.485'e ($J = 0.82$) çekildiğinde duyarlılık %83.3 ve özgüllük %98.9 saptanmıştır. *Proven/probable* İA vs kontrol gruplarında Youden indeksten ($J = 0.75$) elde edilen kesim noktası 0.725 alındığında duyarlılık %75 özgüllük %100 iken kesim değeri 0.485 alındığında ($J = 0.739$) duyarlılık %75 özgüllük ise %98.9 bulunmuştur. Serum GM-EIA sonuçlarının ROC analizinde ise *proven* vs kontrol grubu karşılaştırıldığında AUC 0.996 (%95CI 0.986-1.000) ve *proven/probable* vs kontrol grubunda ise AUC 0.888 (%95CI 0.778-0.998), ($P<0.001$) olarak bulunmuştur. EIA ve LFA değerlerinin ROC analizleri Şekil-

8’de birlikte sunulmuştur. ROC analizinde *proven/probable* İA vs kontrol grupları kıyaslandığında Youden indeksten ($J = 0.81$) elde edilen en yüksek doğruluk veren kesim noktası GM-EIA için 0.222 olup bu noktada duyarlılık %85.7 ve özgüllük %96 bulunmuştur.



Şekil 7. Hastaların serum örneklerinden çalışılan GM-LFA’nın ROC eğrileri
(A) *Proven* İA vs kontrol grubu, (B) *Proven* ve *probable* İA vs kontrol grubu.



Şekil 8. Hastaların serum örneklerinden çalışılan GM-EIA ve GM-LFA’nın birlikte sunulan ROC eğrileri

(A) *Proven* İA vs kontrol grubu, (B) *Proven* ve *probable* İA vs kontrol grubu.

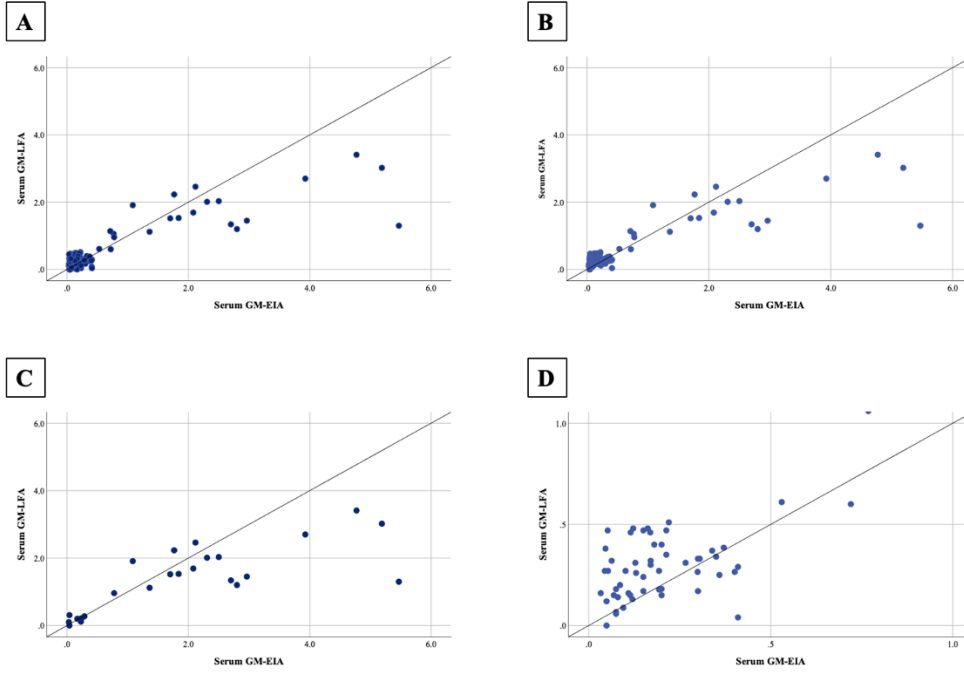
GM-LFA ile GM-EIA arasındaki 0.5 optik yoğunluk indeksinde gözlenen nitel uyuma bakıldığında; tüm vakalar için uyum oranı %99.4 olup Cohen’in kappa katsayısı 0.977 (%95CI, $SE \pm 0.023$, $P < 0.001$), *proven/probable* İA vakaları için uyum oranı %100 (%95 CI, $\kappa = 1.0 \pm 0.0$, $P < 0.001$), *possible* vakalar için %98.1 (%95 CI, $\kappa = 0.879 \pm 0.119$, $P < 0.001$) ve *proven/probable/possible* İA vakaları için %98.7 (%95

CI, $\kappa = 0.972 \pm 0.028$, $P < 0.001$) bulunmuştur. ODI 1.0'de gözlenen uyuma bakıldığında ise tüm vakalar için %98.8 (%95CI $\kappa = 0.946 \pm 0.038$, $P < 0.001$), *proven/probable* İA vakaları için %100 (%95 CI, $\kappa = 1.0 \pm 0.0$, $P < 0.001$) ve *proven/probable/possible* İA vakaları için %97.5 (%95 CI, $\kappa = 0.936 \pm 0.044$, $P < 0.001$) saptanmıştır. Her iki kesim noktası değerinde de tüm vakalar arasında testlerin 'çok iyi düzeyde uyumu' saptandı. Vaka ve kontrol gruplarında GM-LFA ve GM-EIA arasındaki uyum oranları Tablo-10 (A, B)'da özetlenmiştir.

Tablo 10. Vaka ve kontrol gruplarında GM-LFA ve GM-EIA arasındaki uyum

A		GM LFA ≥ 0.5 ODI							
GM-EIA ≥ 0.5 ODI		Toplam Vaka N=171 (%)		Proven/Probable İA N=28 (%)		Possible İA N=55 (%)		Kontrol N=88 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	Pozitif	25/26 (%96.1)	0/145 (%0)	21/21 (%100)	0/7 (%0)	4/5 (%80)	0/50 (%0)	0/0 (%0)	0/88 (%0)
	Negatif	1/26 (%3.8)	145/145 (%100)	0/21 (%0)	7/7 (%100)	1/5 (%20)	50/50 (%100)	0/0 (%0)	88/88 (%100)
Toplam		26	145	21	7	5	50	0	88
B		GM LFA ≥ 1.0 ODI							
GM-EIA ≥ 1.0 ODI		Toplam Vaka N=171 (%)		Proven/Probable İA İA N=28 (%)		Possible İA N=55 (%)		Kontrol N=88 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	Pozitif	20/22 (%90.9)	0/149 (%0)	20/20 (%100)	0/8 (%0)	0/2 (%0)	0/53 (%0)	0/0 (%0)	0/88 (%0)
	Negatif	2/22 (%9)	149/149 (%100)	0/20 (%0)	8/8 (%100)	2/2 (%100)	53/53 (%100)	0/0 (%0)	88/88 (%100)
Toplam		22	149	20	8	2	53	0	88

GM-LFA ile GM-EIA arasındaki nicel korelasyona bakıldığında, tüm hastalar için orta şiddette pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır (Spearman $\rho = 0.511$ $P = 0.01$) (Şekil-9A). Vaka grubunda (*proven/probable/possible* İA) ($\rho = 0.753$ $P = 0.01$) ve *proven/probable* İA grubunda ($\rho = 0.834$ $P = 0.01$) iki test arasında yüksek pozitif yönlü korelasyon gösterilmiştir (Şekil-9B ve 9C). *Possible* İA grubunda ise testler arasında orta şiddette pozitif yönlü korelasyon olduğu görülmüştür ($\rho = 0.433$ $P = 0.01$) (Şekil-9D). Kontrol grubunda iki testin korelasyonuna bakıldığında ise anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ($\rho = 0.104$ $P = 0.33$).



Şekil 9. Serum numunelerinde çalışılan GM-LFA ve GM-EIA testlerinin GM indeksleri arasındaki doğrusal korelasyon

(A) Vaka + kontrol grupları (B) *Proven, probable, possible* İA grupları (C) *Proven* ve *probable* İA grupları (D) *Possible* İA grubu.

4.2. Serum Örneklerinde Alt Grup Analizleri

4.2.1. Çalışmaya alındığı gün nötropenik olan ve olmayan hastalarda GM-LFA etkinliğinin değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen hastaların 70'i (%40.9) serum örneklerinin alındığı 0.gün nötropenik idi ($\leq 500/\mu\text{l}$). *Proven/probable* İA grubunda nötropenik olan ve olmayan hastaların GM-LFA optik yoğunluk indekslerine bakıldığında ortalanca değerleri sırasıyla 1.52 ve 1.73 iken, GM-EIA için ortalanca değerleri 1.80 ve 2.73 idi. Nötropenik olan ve olmayan *proven/probable* İA hastalarının LFA ortalamaları kıyaslandığında anlamlı fark bulunmamıştır (2.99 ± 1.06 vs 1.81 ± 0.46 , Mann-Whitney U testi, $P=0.96$). Aynı şekilde EIA ortalamaları arasında da anlamlı fark saptanmamıştır (3.13 ± 1.20 vs 4.34 ± 1.85 , Mann-Whitney U testi, $P=0.44$). *Possible* İA grubunda nötropenik olan ve olmayan hastaların GM-LFA optik yoğunluk indekslerine bakıldığında ortalanca değerleri sırasıyla 0.28 ve 0.27 iken, GM-EIA için ortalanca değerleri 0.20 ve 0.11 idi. *Possible* İA grubunda nötropeni durumuna göre hastaların

GM-LFA ODI'leri karşılaştırıldığında anlamlı fark yok iken (PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ vs PMNL $> 500/\mu\text{l}$; 0.30 ± 0.037 vs 0.17 ± 0.03 , Mann-Whitney U testi, $P=0.95$); nötropenik olmayan hastaların GM-EIA ODI ortalamaları anlamlı daha düşük bulunmuştur (PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ vs PMNL $> 500/\mu\text{l}$; 0.25 ± 0.03 vs 0.17 ± 0.03 , Mann-Whitney U testi, $P=0.012$). Kontrol grubunda nötropenik olan ve olmayan hastaların GM-LFA optik yoğunluk indekslerine bakıldığında ortanca değerleri sırasıyla 0.29 ve 0.24 iken, GM-EIA için ortanca değerleri 0.113 ve 0.115 idi. Nötropenik olan ve olmayan kontrol grubundaki hastalarının LFA ortalamaları karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi (0.28 ± 0.13 vs 0.23 ± 0.12 , Bağımsız gruplarda T test $P=0.095$). GM-EIA ortalamaları arasında da fark saptanmadı (0.12 ± 0.009 vs 0.12 ± 0.008 , Mann-Whitney U testi, $P=0.85$). GM-LFA ve GM-EIA ortanca, minimum, maksimum, çeyrekler arası aralık ve 25. ve 75. çeyreklerdeki indeks değerleri 0.gündeki nötrofil sayısına göre Tablo-11(A, B)'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Vaka ve kontrol gruplarında 0. gündeki nötrofil sayılarına göre serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri

A) GM-LFA	Proven/Probable İA		Possible İA		Kontrol	
	PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ (n=18)	PMNL $> 500/\mu\text{l}$ (n=10)	PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ (n=28)	PMNL $> 500/\mu\text{l}$ (n=27)	PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ (n=24)	PMNL $> 500/\mu\text{l}$ (n=64)
Min. GMI	0.10	0.0	0.04	0.0	0.0	0.0
25. yüzdeler GMI	0.78	0.28	0.17	0.16	0.19	0.13
Ortanca GMI	1.52	1.73	0.28	0.27	0.29	0.24
75. yüzdeler GMI	2.52	3.11	0.38	0.46	0.38	0.33
Max. GMI	15.2	4.37	1.06	1.14	0.49	0.48
IQR	1.7	2.83	0.209	0.3	0.185	0.198

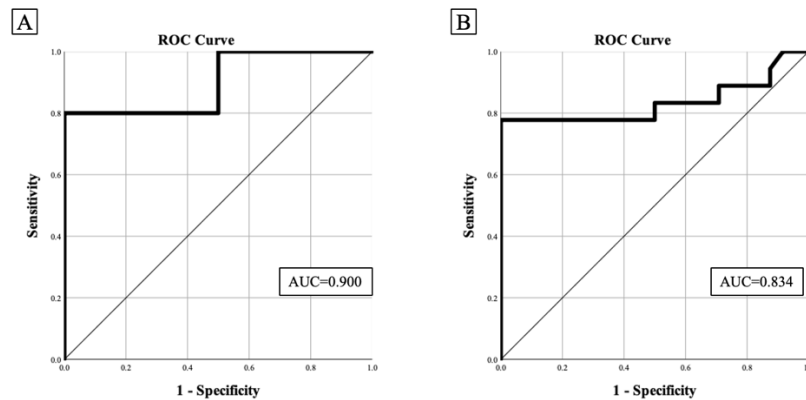
B) GM-EIA	Proven/Probable İA		Possible İA		Kontrol	
	PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ (n=18)	PMNL $> 500/\mu\text{l}$ (n=10)	PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ (n=28)	PMNL $> 500/\mu\text{l}$ (n=27)	PMNL $\leq 500/\mu\text{l}$ (n=24)	PMNL $> 500/\mu\text{l}$ (n=64)
Min. GMI	0.03	0.039	0.06	0.03	0.042	0.033
25. yüzdeler GMI	0.63	0.13	0.12	0.05	0.08	0.08
Ortanca GMI	1.80	2.73	0.20	0.11	0.113	0.115
75. yüzdeler GMI	3.08	5.25	0.34	0.21	0.16	0.14
Max. GMI	22.4	20.0	0.76	0.71	0.202	0.407
IQR	2.42	5.1	0.22	0.16	0.075	0.066

EIA: Enzim immünoassay, GMI: Galaktomannan optik yoğunluk indeksi, IQR: Çeyrekler arası aralık, İA: İnvaziv aspergilloz, LFA: Lateral akış testi, Max: En yüksek değer, Min: En düşük değer, PMNL: Polimorfonükleer lökosit

Nötropenik hastalar için LFA tanısal performansı değerlendirildiğinde, *proven* İA grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında duyarlılık %80, özgüllük ve PPV %100 ve NPV %96 bulunmuştur. ROC analizinde AUC 0.9 (%95CI 0.717-1000) ($P=0.006$), Youden indeksinde ($J = 0.8$) elde edilen en yüksek doğruluk veren kesim noktası 0.81 olup duyarlılık %80 ve özgüllük %100 saptanmıştır. Kesim noktası 0.49'a (Youden indeks=0.76) çekildiğinde de duyarlılık değişmemekte, özgüllük ise %96'ya düşmektedir. *Proven/probable* İA ile kontrol grupları karşılaştırıldığında 0.5 ve 1.0 ODI'de duyarlılık, özgüllük sırasıyla %77.8, %100 ve %72.2, %100 bulunmuştur. ROC analizinde AUC 0.834 (%95CI, 0.684-0.985) ($P<0.001$), kesim noktası 0.725 (Youden indeks=0.778) iken duyarlılık %77.8 ve özgüllük %100 bulunmuştur. Kesim noktası 0.485 (Youden indeks=0.736) alındığında duyarlılık değişmemekte, özgüllük %95,8'e gerilemektedir. Nötropenik hastalar için LFA'nın tanısal performansı Tablo-12'de, ROC eğrileri Şekil-10'da özetlenmiştir.

Tablo 12. Nötropenik vakalarda 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında GM-LFA'nın performansı

PMNL ≤ 500 µl	ODI	Duyarlılık	Özgüllük	PPV	NPV
Proven İA (n=5) VS Kontrol İA (n=24)					
	0.5 ODI	% 80	% 100	% 100	% 96
	1.0 ODI	% 80	% 100	% 100	% 96
Proven İA (n=5) + Probable İA (n=13) VS Kontrol (n=24)					
	0.5 ODI	% 77.8	% 100	% 100	% 85.7
	1.0 ODI	% 72.2	% 100	% 100	% 82.8

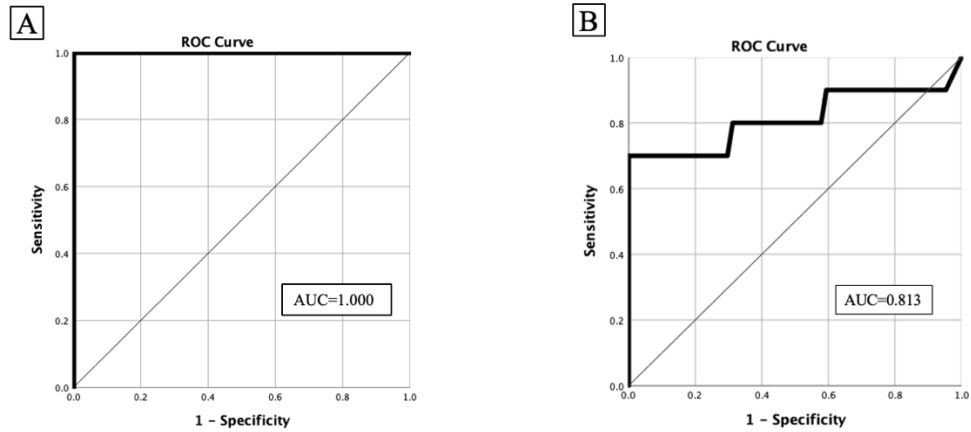


Şekil 10. Nötropenik hastaların serum GM-LFA ROC eğrileri (A) *Proven* İA vs kontrol grubu, (B) *Proven* ve *probable* İA vs kontrol grubu.

Nötropenik olmayan hastalar için LFA tanısal performansı değerlendirildiğinde, *proven/probable* İA ile kontrol grupları karşılaştırıldığında 0.5 ve 1.0 ODI’de duyarlılık, özgüllük sırasıyla %70.0, %100 ve %70.0, %100 bulunmuştur. ROC analizinde AUC 0.813 (%95CI, 0.612-1.000) ($P=0.002$), en yüksek doğruluk veren kesim noktası 0.89 (Youden indeksi=0.7) olup bu kesim noktasında duyarlılık %70.0 ve özgüllük %100 saptanmıştır. Duyarlılık %80’e yükseltildiğinde, bu duyarlılıktaki en yüksek özgüllüğe (%68.7) 0.305 kesim noktasında (Youden indeksi=0.487) ulaşılabilmektedir. Nötropenik olmayan hastalar için LFA’nın tanısal performansı Tablo-13’de, ROC eğrileri Şekil-11’de gösterilmiştir.

Tablo 13. Nötropenik olmayan vakalarda 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında GM-LFA’nın performansı

PMNL >500 μ l	ODI	Duyarlılık	Özgüllük	PPV	NPV
Proven İA (n=1) VS Kontrol (n=64)					
	0.5 ODI	% 100	% 100	% 100	% 100
	1.0 ODI	% 100	% 100	% 100	% 100
Proven İA (n=1) + Probable İA (n=9) VS Kontrol (n=64)					
	0.5 ODI	% 70.0	% 100	% 100	% 95.5
	1.0 ODI	% 70.0	% 100	% 100	% 95.5

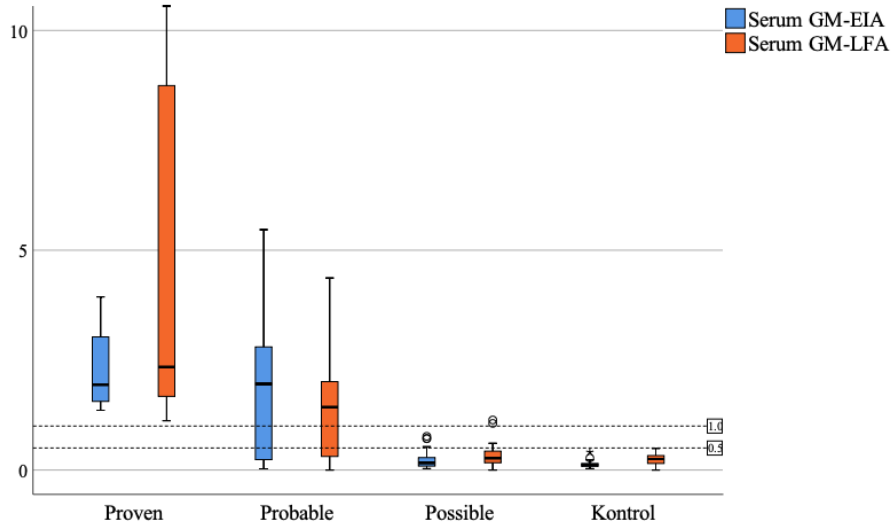


Şekil 11. Nötropenik olmayan hastaların serum GM-LFA ROC eğrileri (A) *Proven* İA vs kontrol grubu, (B) *Proven* ve *probable* İA vs kontrol grubu.

4.2.2. Çalışmaya dahil edildikleri gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların GM-LFA etkinliklerinin değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edildikleri gün *Aspergillus* spp.'ye etkili antifungal tedavi alan hastalar, antifungal tedavinin galaktomannanın duyarlılığına etki edebileceği düşünülerek çıkarılarak kalan hastalar alt grup analizinde değerlendirildi. On beş küf etkili tedavi alan hasta çıkarıldığında kalan 156 hastanın 4'ü *proven* İA, 18'i *probable* İA, 47'si *possible* İA ve 87'si kontrol grubundaydı. Hastaların %53.8'i (N=84) profilaktik antifungal almaktaydı; profilaksilerin %67.8'i (N=57) küf etkisiz iken %32.1'i (N=27) küf etkili antifungalı. Küf etkili antifungal profilaksi alan hastaların 18'i posakonazol, 8'i mikafungin ve biri vorikonazol almaktaydı. Küf etkili profilaksi alanların biri *probable* İA grubunda, 9'u *possible* İA ve 17'si kontrol İA grubundaydı.

Proven, probable İA vakalarında serumdan çalışılan GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri hem *possible* İA hem de kontrol vakalarına göre anlamlı daha yüksek bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, $P<0.001$). *Possible* İA vakalarının GM-LFA optik yoğunluk indekslerinin ortalamaları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlenmezken (Mann-Whitney U testi, $P=0.117$).; GM-EIA ODI'leri arasında anlamlı fark bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, $P=0.004$) (Şekil-12). *Proven, probable, possible* İA ve kontrol gruplarında GM-LFA ortalama ODI değerleri sırasıyla 2.34, 1.43, 0.27, 0.25 iken; GM-EIA ortalama değerleri 1.94, 1.95, 0.16, 0.115 bulunmuştur. GM-LFA ve GM-EIA ortalama, minimum, maksimum, çeyrekler arası aralık ve 25. ve 75. çeyreklerdeki indeks değerleri Tablo-14'de gösterilmiştir.



Şekil 12. Küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerlerinin kümelenmiş kutu grafiği ile gösterimi

Tablo 14. Vaka ve kontrol gruplarında serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri

GM ODI	Proven İA		Probable İA		Possible İA		Kontrol	
	LFA	EIA	LFA	EIA	LFA	EIA	LFA	EIA
Min.	1.12	1.36	0.0	0.03	0.0	0.033	0.0	0.033
25. yüzdelerik	1.39	1.46	0.28	0.219	0.16	0.086	0.15	0.082
Ortanca	2.34	1.94	1.43	1.95	0.27	0.16	0.25	0.115
75. yüzdelerik	11.88	3.48	2.015	3.08	0.46	0.3	0.33	0.15
Max.	15.03	3.94	4.37	20.0	1.14	0.76	0.49	0.407
IQR	10.49	2.02	1.72	2.86	0.3	0.214	0.18	0.069

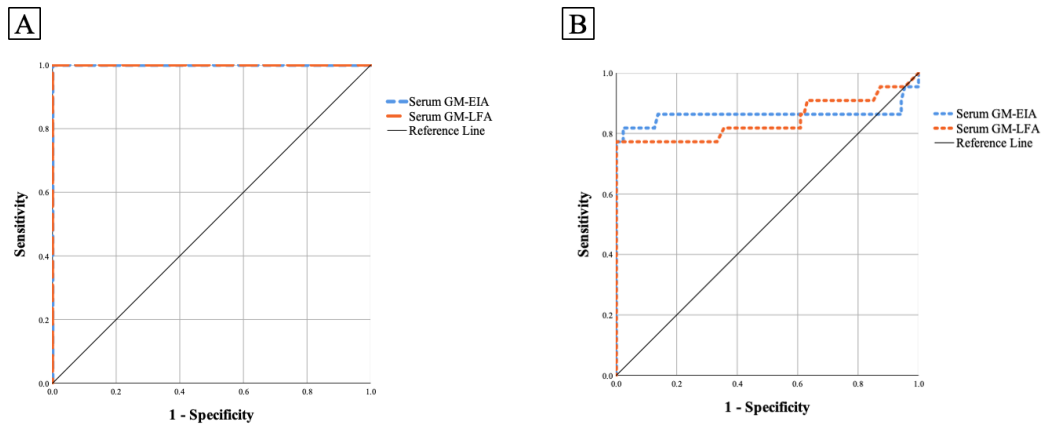
EIA: Enzim immünoassay, GMI: Galaktomannan optik yoğunluk indeksi, IQR: Çeyrekler arası aralık, İA: İnvaziv aspergilloz, LFA: Lateral akış testi, Max: En yüksek değer, Min: En düşük değer

Proven İA ve kontrol grupları karşılaştırıldığında 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında LFA-GM'nin duyarlılığı, özgüllüğü, PPV ve NPV'si %100 olarak bulunmuştur (%95 CI). *Proven/probable* vs kontrol vakaların kıyaslanmasında ise yine 2 kesim noktasında da özgüllük ve PPV %100 iken, duyarlılık, NPV 0.5 ve 1.0 ODI'de sırasıyla %77.3, %94.6 ve %72.7, %93.5 olarak bulunmuştur (Tablo-9). GM-LFA testinin tanısal doğruluk (*diagnostic accuracy*) değerleri 0.5 ODI kesim noktasında *proven* İA grubunda %100, *proven/probable* İA gruplarında %95.4 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 15. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastalarda GM-LFA testinin performansı

%95 CI	ODI	Duyarlılık	Özgüllük	PPV	NPV
Proven İA (n=4) VS Kontrol (n=87)					
	0.5 ODI	% 100	% 100	% 100	% 100
	1.0 ODI	% 100	% 100	% 100	% 100
Proven İA (n=4) + Probable İA (n=18) VS Kontrol (n=87)					
	0.5 ODI	% 77.3	% 100	% 100	% 94.6
	1.0 ODI	% 72.7	% 100	% 100	% 93.5

Vaka ve kontrol gruplarının serum LFA değerleriyle elde edilen ROC analizinde testin İA ayırım gücünün oldukça yüksek olduğu görülmüştür. *Proven* vs kontrol grubu karşılaştırıldığında AUC 1.000 (%95CI 1.000-1.000) ve *proven/probable* vs kontrol grubunda ise AUC 0.845 (%95CI 0.716-0.973) olarak bulunmuştur ($P<0.001$). GM-EIA sonuçlarının ROC analizinde *proven* vs kontrol grubu karşılaştırıldığında AUC 1.000 (%95CI 1.000-1.000) ve *proven/probable* vs kontrol grubunda ise AUC 0.862 (%95CI 0.724-0.999) olarak bulunmuştur ($P<0.001$) (Şekil-13). GM-LFA için *proven/probable* İA vs kontrol gruplarında Youden indeksten ($J = 0.773$) elde edilen en yüksek doğruluk veren kesim noktası 0.725 iken duyarlılık %77.3, özgüllük %100 ve kesim değeri 0.485 alındığında ($J = 0.762$) duyarlılık değişmezken özgüllük %98.9 olarak bulunmuştur. ROC analizinde *proven/probable* İA vs kontrol grupları kıyaslandığında Youden indeksten ($J = 0.80$) elde edilen en yüksek doğruluk veren kesim noktası GM-EIA için 0.233 olup bu noktada duyarlılık %81.8 ve özgüllük %98 bulunmuştur.



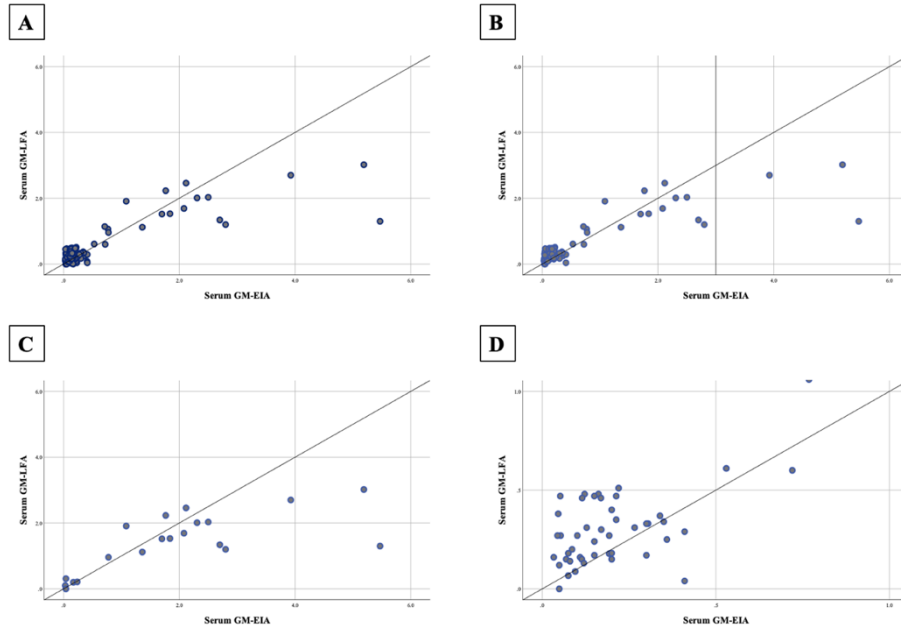
Şekil 13. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA ROC eğrileri (A) *Proven* İA vs kontrol grubu, (B) *Proven* ve *probable* İA vs kontrol grubu.

GM-LFA ile GM-EIA arasındaki 0.5 optik yoğunluk indeksinde gözlenen nitel uyuma bakıldığında; tüm vakalar için uyum oranı %99.3 olup Cohen'in kappa katsayısı 0.973 (%95CI, SE $\pm$ 0.027, $P < 0.001$), *proven/probable* İA vakaları için uyum oranı %100 (%95 CI, $\kappa = 1.0 \pm 0.0$, $P < 0.001$), *possible* vakalar için %97.8 (%95 CI, $\kappa = 0.877 \pm 0.120$, $P < 0.001$) ve *proven/probable/possible* İA vakaları için %98.5 (%95 CI, $\kappa = 0.966 \pm 0.034$, $P < 0.001$) bulunmuştur. ODI 1.0'de gözlenen uyuma bakıldığında ise tüm vakalar için %98.7 (%95CI $\kappa = 0.934 \pm 0.046$, $P < 0.001$), *proven/probable* İA vakaları için %100 (%95 CI, $\kappa = 1.0 \pm 0.0$, $P < 0.001$) ve *proven/probable/possible* İA vakaları için %97.1 (%95 CI, $\kappa = 0.922 \pm 0.054$, $P < 0.001$) saptanmıştır. Her iki kesim noktası değerinde de tüm vakalar arasında testlerin 'çok iyi düzeyde uyumu' saptandı. Vaka ve kontrol gruplarında GM-LFA ve GM-EIA arasındaki uyum oranları Tablo-16 (A, B)'da özetlenmiştir.

GM-LFA ile GM-EIA arasındaki nicel korelasyona bakıldığında, tüm hastalar için orta şiddette pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır (Spearman $\rho = 0.483$ $P = 0.01$) (Şekil-14A). Vaka grubunda (*proven/probable/possible* İA) ($\rho = 0.770$ $P = 0.01$) ve *proven/probable* İA grubunda ($\rho = 0.767$ $P = 0.01$) iki test arasında yüksek pozitif yönlü korelasyon gösterilmiştir (Şekil-14B ve 14C). *Possible* İA grubunda ise testler arasında orta şiddette pozitif yönlü korelasyon olduğu görülmüştür ($\rho = 0.465$ $P = 0.01$) (Şekil-14D). Kontrol grubunda iki testin korelasyonuna bakıldığında ise anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ($\rho = 0.08$ $P = 0.46$).

Tablo 16. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA testleri arasındaki uyum

A		GM LFA ≥ 0.5 ODI							
		Toplam Vaka N=156 (%)		Proven/Probable İA N=22 (%)		Possible İA N=47(%)		Kontrol N=87 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
GM-EIA ≥ 0.5 ODI	Pozitif	21/22 (%95.4)	0/134 (%0)	17/17 (%100)	0/5 (%0)	4/5 (%80)	0/42 (%0)	0/0 (%0)	0/87 (%0)
	Negatif	1/22 (%4.5)	134/134 (%100)	0/17 (%0)	5/5 (%100)	1/5 (%20)	42/42 (%100)	0/0 (%0)	87/87 (%100)
	Toplam	22	134	17	5	5	42	0	87
B		GM LFA ≥ 1.0 ODI							
		Toplam Vaka N=156 (%)		Proven/Probable İA N=22 (%)		Possible İA N=47(%)		Kontrol N=87 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
GM-EIA ≥ 1.0 ODI	Pozitif	16/18 (%88.8)	0/138 (%0)	16/16 (%100)	0/6 (%0)	0/2 (%0)	0/45 (%0)	0/0 (%0)	0/87 (%0)
	Negatif	2/18 (%11.1)	138/138 (%100)	0/16 (%0)	6/6 (%100)	2/2 (%100)	45/45 (%100)	0/0 (%0)	87/87 (%100)
	Toplam	18	138	16	6	2	45	0	87

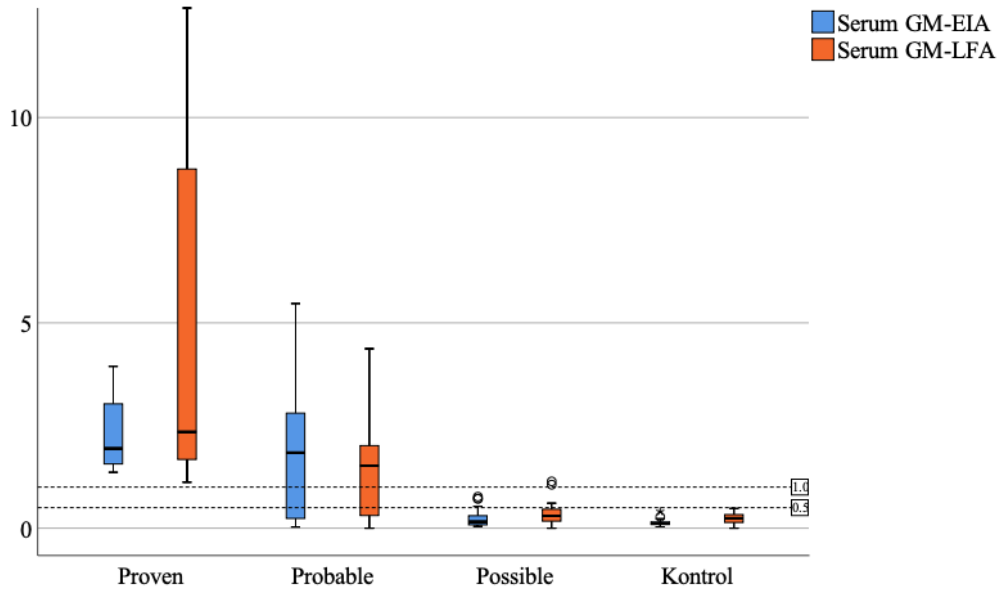


Şekil 14. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastaların serum numunelerinden çalışılan GM-LFA ve GM-EIA testlerinin GM indeksleri arasındaki doğrusal korelasyon (A) Vaka + kontrol grupları (B) *Proven, probable, possible* İA grupları (C) *Proven* ve *probable* İA grupları (D) *Possible* İA grubu.

4.2.3. Çalışmaya alındıkları gün küf etkili antifungal ajan almayan hastaların GM-LFA etkinliklerinin değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edildikleri gün küf mantarlarına etkili antifungal tedavi alan 15 hasta ve küf etkili antifungal profilaksi alan 27 hasta çıkarılarak kalan hastalar alt grup analizinde değerlendirildi. Kalan hastalar EORTC/MSG-2019 kriterine göre sınıflandırıldığında 4 hasta *proven* İA, 17'si *probable* İA, 38'i *possible* İA ve 70'i kontrol grubundaydı.

Proven, *probable* İA vakalarında serumdan çalışılan GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri hem *possible* İA hem de kontrol vakalarına göre anlamlı daha yüksek bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, $P<0.001$). *Possible* İA vakalarının GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indekslerinin ortalamaları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, LFA vs EIA; $P=0.028$ vs $P=0.009$) (Şekil-15). *Proven*, *probable*, *possible* İA ve kontrol gruplarında GM-LFA ortalanca ODI değerleri sırasıyla 2.34, 1.52, 0.3, 0.24 iken; GM-EIA ortalanca değerleri 1.94, 1.83, 0.15, 0.11 bulunmuştur. GM-LFA ve GM-EIA ortalanca, minimum, maksimum, çeyrekler arası aralık ve 25. ve 75. çeyreklerdeki indeks değerleri Tablo-17'de gösterilmiştir.



Şekil 15. Küf etkili antifungal kullanımı olmayan hastaların serum GM-LFA ve GM-EIA indeks değerlerinin kümelenmiş kutu grafiği ile gösterimi

Tablo 17. Küf etkili antifungal kullanımı olmayan hastaların serum GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri

GM ODI	Proven İA		Probable İA		Possible İA		Kontrol	
	LFA	EIA	LFA	EIA	LFA	EIA	LFA	EIA
Min.	1.12	1.36	0.0	0.03	0.0	0.04	0.0	0.03
25. yüzdelerik	1.39	1.46	0.26	0.20	0.16	0.07	0.13	0.086
Ortanca	2.34	1.94	1.52	1.83	0.3	0.15	0.24	0.11
75. yüzdelerik	11.88	3.48	2.02	3.36	0.46	0.31	0.33	0.15
Max.	15.03	3.94	4.37	20.0	1.14	0.76	0.48	0.4
IQR	10.4	2.02	1.75	3.16	0.29	0.23	0.19	0.06

EIA: Enzim immünoassay, GMI: Galaktomannan optik yoğunluk indeksi, IQR: Çeyrekler arası aralık, İA: İnvaziv aspergilloz, LFA: Lateral akış testi, Max: En yüksek değer, Min: En düşük değer

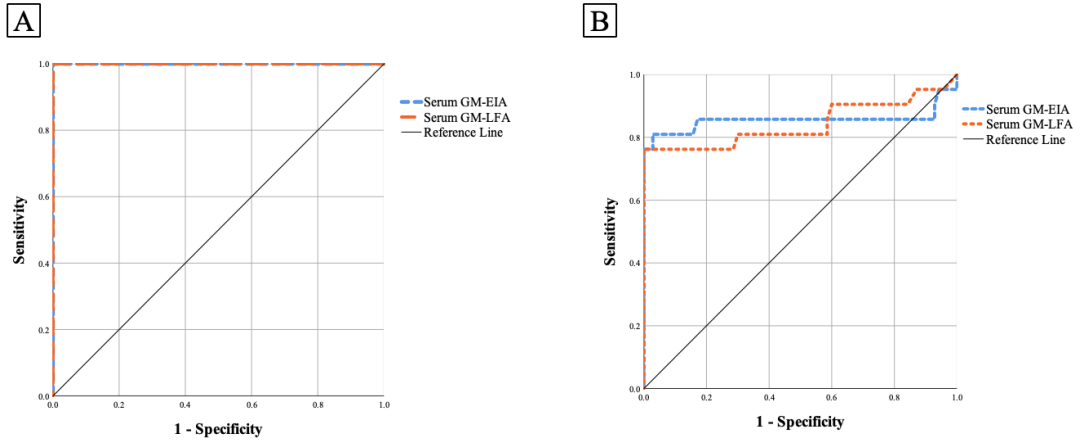
Proven İA ve kontrol grupları karşılaştırıldığında 0.5 ve 1.0 kesim noktalarında LFA-GM'nin duyarlılığı, özgüllüğü, PPV ve NPV'si %100 olarak bulunmuştur (%95 CI). *Proven/probable* vs kontrol vakaların kıyaslanmasında ise yine 2 kesim noktasında da özgüllük ve PPV %100 iken, duyarlılık, NPV 0.5 ve 1.0 ODI'de sırasıyla %76.2, %93.3 ve %71.4, %92.1 olarak bulunmuştur (Tablo-18). GM-LFA testinin tanısal doğruluk (*diagnostic accuracy*) değerleri 0.5 ODI kesim noktasında *proven* İA grubunda %100, *proven/probable* İA gruplarında %94.5 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 18. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal tedavi almayan hastalarda GM-LFA testinin performansı

%95 CI	ODI	Duyarlılık	Özgüllük	PPV	NPV
Proven İA (n=4) VS Kontrol (n=70)					
	0.5 ODI	% 100	% 100	% 100	% 100
	1.0 ODI	% 100	% 100	% 100	% 100
Proven İA (n=4) + Probable İA (n=17) VS Kontrol (n=70)					
	0.5 ODI	% 76.2	% 100	% 100	% 93.3
	1.0 ODI	% 71.4	% 100	% 100	% 92.1

Proven vs kontrol grubu karşılaştırıldığında GM-LFA için AUC 1.000 (%95CI 1.000-1.000) ve *proven/probable* vs kontrol grubunda ise AUC 0.843 (%95CI 0.711-0.974) olarak bulunmuştur ($P<0.001$). GM-EIA sonuçlarının ROC analizinde *proven*

vs kontrol grubu karşılaştırıldığında AUC 1.000 (%95CI 1.000-1.000) ve *proven/probable* vs kontrol grubunda ise AUC 0.854 (%95CI 0.712-0.997) olarak bulunmuştur ($P<0.001$) (Şekil-16). GM-LFA için *proven/probable* İA vs kontrol gruplarında Youden indeksten ($J = 0.762$) elde edilen en yüksek doğruluk veren kesim noktası 0.72 iken duyarlılık %76.2 özgüllük %100 ve kesim değeri 0.475 alındığında ($J = 0.733$) duyarlılık değişmezken özgüllük %97.1 olarak bulunmuştur. ROC analizinde *proven/probable* İA vs kontrol grupları kıyaslandığında Youden indeksten ($J = 0.78$) elde edilen en yüksek doğruluk veren kesim noktası GM-EIA için 0.233 olup bu noktada duyarlılık %81 ve özgüllük %97.1 bulunmuştur.



Şekil 16. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal ajan almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA ROC eğrileri (A) *Proven* İA vs kontrol grubu, (B) *Proven* ve *probable* İA vs kontrol grubu.

GM-LFA ile GM-EIA arasındaki 0.5 optik yoğunluk indeksinde gözlenen nitel uyuma bakıldığında; tüm vakalar için uyum oranı %99.2 olup Cohen'in kappa katsayısı 0.971 (%95CI, SE ± 0.029 , $P<0.001$), *proven/probable* İA vakaları için uyum oranı %100 (%95 CI, $\kappa = 1.0 \pm 0.0$, $P<0.001$), *possible* vakalar için %97.3 (%95 CI, $\kappa = 0.874 \pm 0.123$, $P<0.001$) ve *proven/probable/possible* İA vakaları için %98.3 (%95 CI, $\kappa = 0.963 \pm 0.037$, $P<0.001$) bulunmuştur. ODI 1.0'de gözlenen uyuma bakıldığında ise tüm vakalar için %98.4 (%95CI $\kappa = 0.929 \pm 0.05$, $P<0.001$), *proven/probable* İA vakaları için %100 (%95 CI, $\kappa = 1.0 \pm 0.0$, $P<0.001$) ve *proven/probable/possible* İA vakaları için %96.6 (%95 CI, $\kappa = 0.914 \pm 0.059$, $P<0.001$) saptanmıştır. Her iki kesim noktası değerinde de tüm vakalar arasında testlerin 'çok

iyi düzeyde uyumu' saptandı. Vaka ve kontrol gruplarında GM-LFA ve GM-EIA arasındaki uyum oranları Tablo-19 (A, B)'da özetlenmiştir.

GM-LFA ile GM-EIA arasındaki nicel korelasyona bakıldığında, tüm hastalar için orta şiddette pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır (Spearman $\rho = 0.514$ $P=0.01$). Vaka grubunda (*proven/probable/possible* İA) ($\rho = 0.809$ $P=0.01$) ve *proven/probable* İA grubunda ($\rho = 0.809$ $P=0.01$) iki test arasında yüksek pozitif yönlü korelasyon gösterilmiştir. *Possible* İA grubunda ise testler arasında orta şiddette pozitif yönlü korelasyon olduğu görülmüştür ($\rho = 0.508$ $P=0.01$). Kontrol grubunda iki testin korelasyonuna bakıldığında ise anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ($\rho = 0.015$ $P=0.9$).

Tablo 19. Çalışmaya alındığı gün küf etkili antifungal ajan almayan hastaların GM-LFA ve GM-EIA testleri arasındaki uyum

A		GM LFA ≥ 0.5 ODI							
GM-EIA ≥ 0.5 ODI		Toplam Vaka N=129 (%)		Proven/Probable İA N=21 (%)		Possible İA N=38 (%)		Kontrol N=70 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	Pozitif	20/21 (%95.2)	0/108 (%0)	16/16 (%100)	0/5 (%0)	4/5 (%80)	0/33 (%0)	0/0 (%0)	0/70 (%0)
	Negatif	1/21 (%4.8)	108/108 (%100)	0/16 (%0)	5/5 (%100)	1/5 (%20)	33/33 (%100)	0/0 (%0)	70/70 (%100)
Toplam		21	108	16	5	5	33	0	70
B		GM LFA ≥ 1.0 ODI							
GM-EIA ≥ 1.0 ODI		Toplam Vaka N=129 (%)		Proven/Probable İA N=21 (%)		Possible İA N=38 (%)		Kontrol N=70 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	Pozitif	15/17 (%88.2)	0/112 (%0)	15/15 (%100)	0/6 (%0)	0/2 (%0)	0/36 (%0)	0/0 (%0)	0/70 (%0)
	Negatif	2/17 (%11.8)	112/112 (%100)	0/15 (%0)	6/6 (%100)	2/2 (%100)	36/36 (%100)	0/0 (%0)	70/70 (%100)
Toplam		17	112	15	6	2	36	0	70

4.3. Bronkoalveolar Lavaj Örneklerinde GM-LFA ile GM-EIA Uyumunun Değerlendirilmesi

Bronkoskopi yapılarak bronkoalveolar lavaj örneği alınan 28 hematolojik malignite tanılı hastanın BAL örneklerinde GM-EIA ve GM-LFA testleri karşılaştırılmıştır. Hastaların EORTC/MSG 2019 kriterlerine göre 2'si (%7.1) *proven* İA, 9'u (%32.1) *probable* İA ve 17'si (%60.7) *possible* İA grubunda yer almıştır. *Proven* hastalardan biri sinonazal biyopsi, diğeri akciğer biyopsisi patolojisinde küf gösterilen, kültürde *Aspergillus* spp. üreyen hastalar idi. *Probable* hastalardan 3'ünde solunum örneklerinde *Aspergillus* spp. üredi. Bronkoskopi yapılan hastalardan 11'inin BAL sıvısından (7 *probable* İA ve 4 *possible* İA) *Aspergillus* PCR çalışıldı. *Probable* İA grubundaki 5 hastanın BAL sıvısında (%71.4) *Aspergillus* DNA saptanırken, *possible* İA vakalarının hiçbirinde (%0) saptanmadı. Hastaların %32.1'i (N=9) antifungal profilaksi kullanırken, *possible* İA grubundan 2 hasta (%7.1) küf etkili antifungal profilaksisi kullanmaktaydı, *probable* İA grubunda küf etkili profilaksi alan yoktu.

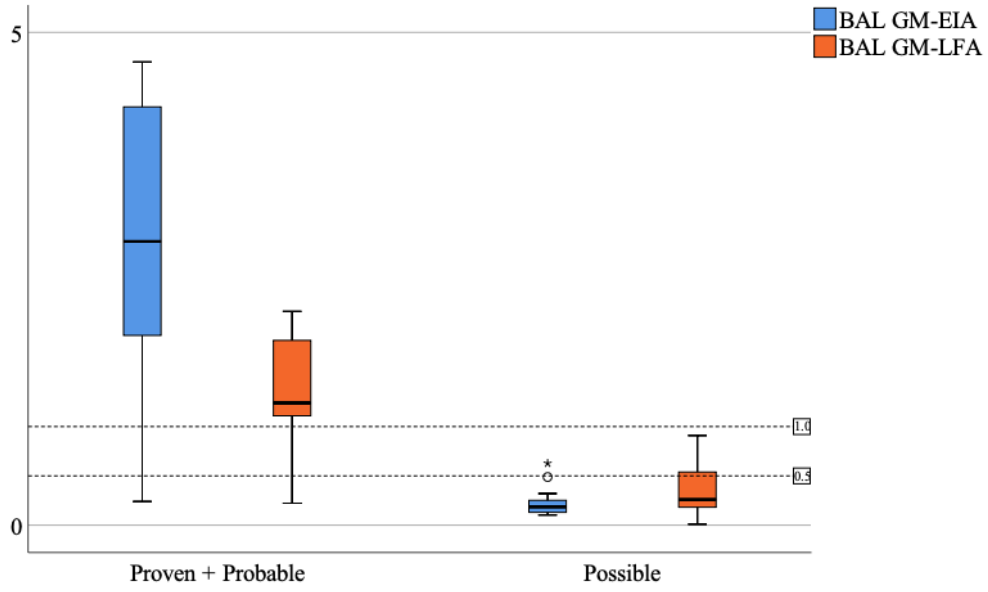
Çalışmaya dahil edildikleri gün 7 hasta tedavi amaçlı antifungal kullanmaktaydı. Bir hasta oral kandidiyaz için flukonazol, 3 hasta ampirik ve 3 hasta *possible* IFI için başlanan küf etkili antifungal tedavi almaktaydı. Küf etkili antifungal tedavi alan hastaların birinde *proven* İA, birinde *probable* İA tespit edildi. Hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo-20'de özetlenmiştir.

Tablo 20. Bronkoalveolar lavaj örneklerinde GM-LFA ve GM-EIA çalışılan hastalıkların demografik ve klinik özellikleri

		Toplam		Proven+ Probable İA		Possible İA	
Yaş [Ortalama (±SD)]		48.8 ± 13.1		50.6 ± 11.3		47.7 ± 14.4	
		N=28	%	N=11	%	N=17	%
Cinsiyet	Erkek	17	60.7	7	63.6	10	58.8
	Kadın	11	39.3	4	36.4	7	41.2
Hematolojik Malignite	Akut Lösemi	14	50.0	4	36.4	10	58.8
	Lenfoma	8	28.6	4	36.4	4	23.5
	MM	4	14.3	2	18.2	2	11.8
	AA	1	3.6	0	0.0	1	5.9
	KLL	1	3.6	0	0.0	1	5.9
	KML	1	3.6	1	9.1	0	0.0
KİT	HSCT	7	25.0	1	9.1	6	35.3
	Otolog	5	17.9	1	9.1	4	23.5
	Allojenik	2	7.1	0	0.0	2	11.7
Çalışmaya Alındığı Günde;							
Profilaktik AF Kullanımı		9	32.1	1	9.1	8	47.1
Küf Etkili		2	7.1	0	0.0	2	11.7
Küf Etkisiz		7	25.0	1	9.1	6	35.3
Terapötik AF Kullanımı		7	25.0	3	27.3	4	23.5
Nötropeni Süresi [Ortanca (min-max, IQR)]		6.5 (0-163, 22)		5 (0-163, 55)		8 (0-38, 15)	
Mutlak Nötrofil Sayısı (x10 ³ /µL) [Ortanca (min-max, IQR)]		0.8 (0-22, 3.3)		0.3 (0-11.8, 2.6)		1.9 (0-22, 4.9)	

AA: Aplastik anemi, AF: Antifungal, HSCT: Hematopoietik kök hücre nakli, İA: İnvaziv aspergilloz, KLL: Kronik lenfositik lösemi, KML: Kronik myeloid lösemi, Max: En yüksek değer, Min: En düşük değer, MM: Multipl miyelom, SD: Standart sapma

Proven ve probable İA vakalarında bronkoalveolar lavaj sıvısından çalışılan GM-LFA ve GM-EIA optik yoğunluk indeksleri *possible* İA vakalarına göre anlamlı yüksek tespit edildi (Mann-Whitney U testi, $P<0.001$) (Şekil-17). *Proven/probable* ve *possible* İA gruplarında GM-LFA ortalanca ODI değerleri sırasıyla 1.24 ve 0.26 iken; GM-EIA ortalanca değerleri 2.88 ve 0.185 idi. GM-LFA ve GM-EIA ortalanca, minimum, maksimum, 25. ve 75. çeyreklerdeki indeks değerleri Tablo-21’de özetlenmiştir.



Şekil 17. İA vaka gruplarında BAL GM-LFA ve GM-EIA indeks değerlerinin kümelenmiş kutu grafiği ile gösterimi

Tablo 21. *Proven/probable* İA ve *possible* İA gruplarında BAL GM-LFA ve GM-EIA indeks değerleri

GM ODI	Proven + Probable İA		Possible İA	
	LFA	EIA	LFA	EIA
Min.	0.223	0.241	0.01	0.103
25. yüzdelerik	1.09	1.195	0.17	0.126
Ortanca	1.24	2.88	0.26	0.185
75. yüzdelerik	2.05	4.45	0.57	0.25
Max.	21.13	20.0	0.91	0.628
IQR	0.96	3.25	0.4	0.127

EIA: Enzim immünoassay, GMI: Galaktomannan optik yoğunluk indeksi, IQR: Çeyrekler arası aralık, İA: İnvaziv aspergilloz, LFA: Lateral akış testi, Max: En yüksek değer, Min: En düşük değer

BAL GM-LFA ile GM-EIA arasındaki 0.5 optik yoğunluk indeksinde gözlenen nitel uyuma bakıldığında; vaka grubu (*proven/probable/possible*) için Cohen'in kappa katsayısı 0.653 (%95CI, SE $\pm$ 0.132, $P < 0.001$) olup 'iyi düzeyde uyum' saptanmıştır. *Proven* ve *probable* vakaların %90.9'unda (10/11) 0.5 ODI'de hem EIA hem LFA pozitifdir, bir vakada iki test de negatiftir. ODI 1.0'de gözlenen uyuma bakıldığında ise vaka grubu için kappa katsayısı 0.836 (%95CI, SE $\pm$ 0.111, $P < 0.001$) olup 'çok iyi

düzeyde uyum' saptanmıştır. Vaka ve kontrol gruplarında GM-LFA ve GM-EIA arasındaki gözlenen uyum Tablo-22 (A, B)'de özetlenmiştir. BAL örneklerinde GM-LFA ve GM-EIA arasındaki nicel korelasyona bakıldığında, *proven/probable/possible* İA ve *proven/probable* İA gruplarında yüksek pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır (Spearman sırasıyla $\rho = 0.777$ $P=0.01$ ve $\rho = 0.700$ $P=0.016$). *Possible* İA grubunda testler arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (Spearman $\rho=0.26$ $P=0.31$).

Tablo 22. BAL GM-LFA ve GM-EIA arasındaki uyum

A		GM LFA ≥ 0.5 ODI					
GM-EIA ≥ 0.5 ODI		Toplam Vaka n=28 (%)		Proven + Probable İA n=11 (%)		Possible İA n=17 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	Pozitif	11/16 (%68.8)	0/12 (%0)	10/10 (%100)	0/1 (%0)	1/6 (%16.7)	0/11 (%0)
	Negatif	5/16 (%31.3)	12/12 (%100)	0/10 (%0)	1/1 (%100)	5/6 (%83.3)	11/11 (%100)
Toplam		16	12	10	1	6	11
B		GM LFA ≥ 1.0 ODI					
GM-EIA ≥ 1.0 ODI		Toplam Vaka n=28 (%)		Proven + Probable İA n=11 (%)		Possible İA n=17 (%)	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	Pozitif	8/9 (%88.9)	1/19 (%5.3)	8/9 (%88.9)	1/2 (%50)	0/0 (%0)	0/17 (%0)
	Negatif	1/9 (%11.1)	18/19 (%94.7)	1/9 (%11.1)	1/2 (%50)	0/0 (%0)	17/17 (%100)
Toplam		9	19	9	2	0	17

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Prospektif, çok merkezli yürütülen bu çalışmada hematolojik malignite tanılı hastalarda IMMY sona GM-LFA'nın İA tanısındaki etkinliği değerlendirildi ve EIA-GM testi ile korelasyonuna bakıldı. EORTC/MSG kriterlerine göre *proven* İA olarak sınıflandırılan vakalarda 0.5 kesim noktasında serum GM-LFA duyarlılığı %83.3, özgüllüğü ve PPV'si %100 ve NPV'si %98.9; *proven* ve *probable* İA vakalarında duyarlılık %75, özgüllük ve PPV %100, NPV %92.6 bulunmuştur. Testin 0.5 ODI'de *proven* İA grubunda tanısallığı %98.9, *proven/probable* İA gruplarında %93.9 olarak tespit edilmiştir, bu bulgulara göre testin yüksek etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubundan alınan serum örneklerinin hepsinde GM-EIA ve GM-LFA testleri negatif olduğundan özgüllük %100 bulunmuştur. Ayrıca serum *proven/probable* İA vakalarının ROC analizinde LFA'nın İA ayırım gücünün yüksek olduğu görülmüştür (AUC=0.832±0.116). GM-LFA ile GM-EIA arasındaki 0.5 ODI kesim noktasındaki kategorik korelasyona bakıldığında 'çok iyi düzeyde uyum' (0.977 %95CI, SE ± 0.023, P<0.001); nicel korelasyon değerlendirildiğinde ise orta şiddette pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır (Spearman ρ = 0.511 P=0.01).

İnvaziv aspergilloz, hematolojik malignite tanılı hastalarda %2.6 ila %3.1 arasında değişen oranlarda görülmekte iken malignitelerin alt tiplerine göre oranlar değişmekte ve akut myeloid lösemili hastalarında bu oran %8'e çıkmaktadır (28, 104, 106). Küf enfeksiyonları için yüksek riskli kabul edilen hasta grupları kontrolsüz hematolojik malignite hastaları (akut lösemi nüksü) ve remisyon-indüksiyon kemoterapisi alan AML ve MDS hastalarıdır (235). ALL ve lenfoma tanılı hastaların tedavisinde monoklonal antikörler, tirozin kinaz inhibitörleri, immünsupresif nükleozid analogları ve yüksek doz steroid kullanımının artması ile bu hasta gruplarında da İA gelişim riski artmaktadır. İA klinik epidemiyolojisinin araştırıldığı PATH çalışmasında hastaların 464'ü (%48.3) hematolojik malignite tanılı iken bu hastaların sırasıyla %31'i AML, %17'si NHL, %17'si MM, %12.1'i ALL şeklinde sıralanmıştır (30). Fransa'da yapılan çok merkezli epidemiyoloji çalışmasında *proven* ve *probable* İA tanılı hastanın %72.6'sı (n=451) hematolojik malignite tanılıdır, malignite tiplerine bakıldığında sıklık sırasına göre %20.9'u AML, %10.1'i ALL,

%8.2'si NHL ve %7.7'si KML'dir (106). Bizim çalışmamızda da İA epidemiyoloji çalışmaları ile uyumlu şekilde *proven* ve *probable* İA tespit edilen hastaların sıklık sırasına göre %35.7'si AML, %21.4'ü NHL, %14.3'ü ALL idi.

Hematolojik malignite tipi dışında; monoklonal antikor veya 3 haftanın üstünde 0.3 mg/kg/gün dozunda prednizolon kullanan hastalar, allojenik kemik iliği nakli sonrası GVHD gelişen ve kortikosteroid tedavisi alan hastalar ve geçmişte *proven* ya da *probable* İA geçiren hastalar da küf enfeksiyonu için yüksek risk taşımaktadırlar (235). Çalışmamızda *proven* ve *probable* İA grubunda yer alan hastaların %14.3'ünün monoklonal antikor (n=3) ya da tirozin kinaz inhibitörü (n=1) ve %39.3'ünün son 2 ayda 3 haftanın üstünde kortikosteroid kullanımı tespit edilmiştir. *Proven/probable* İA grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı şekilde daha fazla oranda steroid kullanımı tespit edilmiştir ($P=0.002$). Vaka ve kontrol gruplarında son 6 ayda *proven/probable* İA öyküsü yokken 4 hastada fungemi ve 10 hastada *possible* invaziv fungal enfeksiyon olmak üzere 14 hastada son 6 ayda IFI öyküsü tespit edilmiştir. *Proven/probable* İA ve *possible* İA gruplarında, kontrol grubuna göre daha fazla sayıda IFI öyküsü tespit edilmiştir (sırasıyla %17.9 vs %12.7 vs %2.3).

IDSa 2016 ve ESCMID 2017 rehberlerinde IFI için yüksek risk taşıyan hastalara posakonazol profilaksisi AI tavsiye düzeyinde önerilmektedir (124, 229). Cornely ve ark.'nın IFI için yüksek risk taşıyan nötropenik hastalarda posakonazol vs flukonazol/itakonazol profilaksilerini karşılaştırdıkları randomize, çok merkezli çalışmalarında, posakonazol alan grupta *proven* ya da *probable* IFI gelişme oranı diğer gruba göre anlamlı daha düşük bulunmuştur (%2 vs %8, $P=0.001$) (232). Çalışmamızda *proven* ve *probable* İA grubundaki hastaların %32.1'i küf etkisiz antifungal profilaksi alırken sadece 1 hasta (%3.5) küf etkili profilaksi almaktaydı, %49.7'si herhangi bir antifungal profilaksi almıyordu. Küf etkili antifungal profilaksi başlanmasından 12 gün sonra *probable* İA tespit edilen hastanın (*breakthrough* küf enfeksiyonu) serum GM-EIA (2.7 ODI) ve GM-LFA (1.34 ODI)'sı pozitifliği.

Hematolojik maligniteli hastalarda İA tanısında serum GM-LFA performansını değerlendiren literatürde sınırlı sayıda çalışma vardır. White ve ark.'nın yaptığı retrospektif vaka-kontrol çalışmasında, %82.2'si hematolojik malignite tanılı hastalardan oluşan hasta grubunda serum LFA'nın İA tanısındaki performansı değerlendirilmiş ve 0.5 ODI'de duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %96.9 ve %98 bulunmuş, PPV %93.9 ve NPV ise %99 bulunmuştur. ROC eğrisi altında kalan alan 0.9919 ve LFA ve GM-EIA arasındaki kalitatif uyum %89 olup çoğu uyumsuz vaka LFA pozitif olup, GM-EIA yanlış negatif olan vaka olarak belirtilmiştir (24). Tek merkezli, prospektif, hematolojik malignite tanılı hastalarda serum LFA performansını değerlendiren başka bir çalışmada; *proven/probable* İA grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında GM-LFA duyarlılığı %49, özgüllüğü %95, NPV'si %90 ve PPV'si %69 bulunmuştur (25). Türkiye'de yapılan bir çalışmada hematolojik malignite tanılı hastalardan serum örneğinde LFA ve EIA çalışılmış ve 0.5 ODI'de LFA duyarlılığı %90.9, özgüllüğü %90.8 bulunmuş; 11 *proven* İA vakasının yer aldığı bu çalışmada LFA'nın İA tanısal performansının EIA'dan daha üstün olduğu gösterilmiştir (AUC LFA vs ELISA = 0.934 vs 0.545 $P<0.001$) (253). Bizim çalışmamızda 6 *proven* İA vakasının 5'inde serum LFA ve EIA testleri 1.0 ODI üstünde pozitif olup duyarlılık %83.3 bulunmuştur. *Proven* İA grubundan refrakter AML nedeni ile takipli bir hastanın BAL LFA ve EIA testleri 1.0 ODI üstünde pozitif iken serum LFA ve EIA'sı negatifti, hastanın akciğer biyopsi kültüründe *Aspergillus flavus* üremesi olmuştu. Hasta çalışmaya alındığı gün bir haftadan uzun süredir ampirik L-AmB kullanmaktaydı. *Proven* ve *probable* vakalar birlikte değerlendirildiğinde duyarlılık %75'e düşmektedir (PPV=%100, NPV=%92.6). Bunun nedeni ise serum GM-LFA'sı negatif bir *proven* hasta yanında *probable* vakaların 6'sının da LFA'sının 0.5 ODI altında olmasıydı ve bu hastaların aynı zamanda serum EIA'ları da 0.5 ODI altındaydı. Bu hastalar solunum örneklerindeki mikrobiyolojik bulgular ile *probable* İA tanısı almışlardır. Altı hastanın 3'ünün yapılan bronkoskopik incelemesinde BAL LFA ve EIA pozitif iken diğer 3 hastanın ise solunum örneklerinde *Aspergillus* spp. üremesi olmuştur. *Proven/probable* İA grubunun ROC analizinde LFA testinin İA ayırım gücünün yüksek olduğu görülmüştür AUC 0.832 (%95CI 0.716-0.949). *Possible* İA hasta grubunda 5 hastanın GM-LFA testi 0.5 ODI üstünde iken (0.51-1.14), hastaların 4'ünde GM-EIA testi de 0.53-0.76 ODI arasındadır. Bu dört hastanın *probable* İA

olmasını desteleyecek başka mikrobiyolojik data olmadığından EORTC/MSG kriterlerine göre *possible* İA vakası olarak kabul edilmişlerdir. Sadece 1 hastada serum LFA 0.51 ODI iken EIA 0.2 ODI bulunmuştur.

Galaktomannan, *Aspergillus* hücre duvarında bulunan bir heteropolisakkarittir ve *Aspergillus*'un logaritmik büyüme dönemi sırasında salınır(193). İA'da GM tespitini etkileyen hastaya ait faktörler; enfeksiyon bölgesi, mikro çevre (oksijen seviyesi, pH gibi), etken olan *Aspergillus* türü, renal klirens, hastanın immün durumu ve altta yatan hastalığı olarak tanımlanmıştır (197). Antifungal ilaç kullanımının da GM duyarlılığını etkileyeceği düşünülmektedir. Marr ve ark.'nın itrakonazol profilaksisi veya küf etkili antifungal tedavi alan hastalarda İA tanısında GM-EIA etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında, tanı haftasında küf etkili antifungal alan hastaların test duyarlılığı %52 iken küf etkili antifungal almayan hastaların test duyarlılığı %89 olarak bulunmuştur ($P=0.02$) (18). Fakat bu çalışmada 2 grup arasındaki fark sadece 0 ve 1.haftalarda bulunmuş, -2 ve -1. haftalarda 2 grup arasında GM etkinliği açısından fark saptanmamıştır. Küf etkili antifungal profilaksi veya ampirik antifungal tedavi almakta olan hematolojik maligniteli hastalarda *breakthrough* İA enfeksiyonunun tanısında GM-EIA etkinliğini değerlendiren retrospektif bir çalışmada *proven/probable* İA vakalarında -1 ve 0. haftada GM-EIA duyarlılığı sırasıyla %77 ve %79 bulunmuştur ve küf etkili tedavi ya da profilaksi alan hastalarda *breakthrough* İA tanısında GM testinin yararlı olabileceği belirtilmiştir (254). Bizim çalışmamızda çalışmaya alındığı gün en az 1 haftadır küf etkili antifungal tedavi alan 6 hastanın 2'sinde *proven*, 4'ünde *probable* İA tespit edildi. *Proven* hastalardan ikisi de ampirik olarak başlanan L-AmB almaktaydı. Hastalardan birinin serum EIA ve LFA'sı pozitif (sırasıyla 2.9 ve 1.45 ODI) bulunmuştur. Diğer hastanın serumda her iki testi negatif ve BAL'da her iki testi pozitif saptanmıştır (EIA vs LFA; serum 0.286 vs 0.273, BAL 2.88 vs 2.05). *Probable* İA hastalarından biri fungemi nedeni ile ekinokandin, 2'si ampirik küf etkili ajan ve biri *possible* IFI nedeniyle L-AmB almaktaydı. Bu vakalardan üçünün serum LFA ve EIA testleri 1.0 ODI üstünde pozitif, sadece ampirik L-AmB başlanan bir vakanın LFA ve EIA testleri serum ve BAL'da negatifti; hastanın balgam kültüründe *Aspergillus* üremesi olması nedeni ile hasta *probable* İA grubuna dahil edilmişti. *Possible* İA grubunda çalışmaya alındığı

gün antifungal tedavi alan 4 hastanın hepsinde serum ve BAL örneklerindeki LFA ve EIA testleri 0.5 ODI altındaydı. Küf etkili antifungal tedavinin ve profilaksinin GM-LFA duyarlılığına etkisini değerlendirmek için alt grup analizi yapıldı. Küf etkili antifungal tedavi alan hastaların çıkarılmasıyla yapılan analizde GM-LFA duyarlılık ve NPV'si sırasıyla %77.3 ve %94.6 bulunmuştur. Hem küf etkili tedavi hem de profilaksi alan hastaların çıkarılmasıyla yapılan analizde ise GM-LFA duyarlılık ve NPV'si sırasıyla %76.2 ve %93.3 bulunmuştur.

Üretici talimatlarında LFA kesim noktası ≥ 0.5 ODI alınması önerilmiştir (249). White ve ark.'nın çalışmasında GM kesim noktası 0.33, 0.5 ve 0.6 alındığında serum GM-LFA'nın duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %100, %96.9, %90.6 ve %87, %98, %100 bulunmuştur; ROC analizi ile 0.5 ODI kesim noktasının optimal olduğu düşünülmüştür (24). Serin ve arkadaşlarının çalışmasında 0.5 ODI kesim noktasında tanısal doğruluk %90.8 bulunmuştur (253). Bu çalışmada, *proven* ve *probable* İA vakaları beraber değerlendirildiğinde Youden indeksine göre en yüksek doğruluğa sahip kesim noktası 0.725 olmasına rağmen kesim noktası 0.5 alındığında da duyarlılık ve özgüllük değişmemektedir. Kesim noktası 0.485 iken duyarlılık aynı kalmakta, özgüllük %100'den %98.9'a düşmektedir.

EIA yöntemi ile galaktomannan antijen tespitinde, sitotoksik kemoterapiye bağlı mukozal bariyer hasarı olan hastalarda kontamine yiyeceklerden mantar galaktomannanın ve *Bifidobacterium bifidum*'un gastrointestinal sistemden translokasyonu, piperasilin tazobaktamın eski jenerikleri ve *Fusarium*, *Alternaria*, *Histoplasma*, *Penicillium* spp. ve *Geotrichum capitatum* gibi mantarların neden olduğu enfeksiyonlarda yanlış pozitif sonuçlar görülebilir (193, 197-199, 249). GM-LFA immünokromatografik yöntemle galaktomannan tespiti yapmaktadır. Lateral akış testi, *Aspergillus* spp. gibi galaktofuranoz üreten diğer mantarlarla çapraz reaksiyon sonucu yanlış pozitif sonuçlar verebilir. *Histoplasma* spp., *Candida* spp. ve *Coccidioides* spp. ile çapraz reaksiyon bildirilmiştir (249). GM-EIA, GM antijenini saptamak için bir fare monoklonal antikoru olan EB-A2'yi kullanırken, GM-LFA iki monoklonal antikor karışımı kullanır (23, 24). Çalışmamızda GM-LFA ile GM-EIA arasında nicel korelasyona bakıldığında, tüm hastalar için orta şiddette pozitif yönlü

korelasyon (Spearman $\rho = 0.511$ $P=0.01$) varken *proven/probable* İA grubu için yüksek pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur (Spearman $\rho = 0.834$ $P=0.01$). Testler arasında 0.5 ODI'de gözlenen nitel uyuma bakıldığında ise tüm vaka grupları için Cohen'in kappa katsayısı 0.977 (%95CI, SE ± 0.023 , $P<0.001$), *proven/probable* İA vakaları için 1.0 (%95 CI, SE ± 0.0 , $P<0.001$) bulunmuştur. Vaka grubunda serum EIA ve LFA arasında çok iyi düzeyde uyum gözlenmiştir. Mercier ve ark.'nın çalışmasında serum LFA ve EIA arasında zayıf korelasyon tespit edilmişken (*adjusted* R² 0.446, $P<0.001$), White ve ark.'nın çalışmasında orta şiddette korelasyon gözlenmiştir (Spearman $\rho = 0.64$ $P<0.0001$) (24, 25).

Hematolojik maligniteli hastalarda nötropenik ateş varlığında ampirik antibiyoterapiden 96 saat geçmesine rağmen ateş yanıtı alınamadığında toraks ince kesitli BT çekilmesinin tanının erken koyulmasına katkıda bulunacağı ve artmış sağ kalımla ilişkili olduğu bildirilmiştir (172, 173, 179, 180). Toraks BT görüntülemesinde İPA'nın tipik özellikleri nodül, hava-hilal işareti, kama şeklinde konsolidasyon ve kavitedir. Çoğunluğunu hematolojik malignite tanılı hastaların oluşturduğu, invaziv pulmoner aspergillozun toraks BT bulgularının incelendiği bir çalışmada, hastalık belirti verdiğinde çekilen BT'lerin %94'ünde makronodül, %61'inde halo işareti, %30'unda konsolidasyon, %20'sinde kavite, %10'unda hava-hilal işareti görülmüştür (178). Çalışmamızda *proven/probable* İA vakalarının toraks BT'lerinde en sık nodül (%78.6), buzlu cam (%64.3) ve konsolidasyon (%57.1) görülmüştür. *Possible* İA vakalarının toraks BT'lerinde ise sırasıyla en sık konsolidasyon (%76.4), nodül (%69.1) ve buzlu cam (%60.0) tespit edilmiştir. *Proven/probable* İA vakaları ile *possible* İA vakalarının toraks BT bulguları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Toraks BT erken tanı imkanı sağlaması ve lezyonunun tipi, sayısı, lokalizasyonu ve yayılımı ile ilgili bilgiler vermesi açısından önemli bir modalite olsa da tek başına İA tanısı için spesifik olmadığından hastalardan bronkoalveolar lavaj kültürü alınması önerilmektedir (124).

BAL EIA-GM'nin invaziv aspergilloz tanısındaki etkinliği, küf etkili antifungal tedavi alan veya nötropenik olmayan hastalarda serumla göre daha üstündür (255). Çok merkezli retrospektif bir çalışmada hastaların solunum örnekleri kültür ve

mikroskopi pozitifliğine göre ayrılmış ve tüm solunum örneklerinde LFA çalışılmıştır. Çalışmada GM-LFA'nın tanısal doğruluğu %92, tanısal tahmini rölatif riski (*odd ratio*) >1 bulunmuştur (214). Çok merkezli, retrospektif bir çalışmada 104'ü hematolojik malignite tanılı olmak üzere 296 hasta çalışmaya alınmış ve hastalardan alınan BAL örneklerinden GM-EIA ve GM-LFA çalışılmıştır. Hematolojik maligniteli hastaların değerlendirildiği alt grup analizinde (35'i *proven/probable* İA, 28 İA şüphesi olmayan vaka), hastalardan alınan BAL örneklerinde *proven/probable* ve kontrol vakaları karşılaştırıldığında AUC 0.917 (%95, 0.847-0.988) olarak bulunmuştur. Hastaların 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ODI kesim noktalarında BAL LFA duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %89, %80, %74, %71 ve %54, %89, %96, %96 olarak bulunmuştur. Tüm hastaların örnekleri değerlendirildiğinde BAL GM-EIA<0.5 ODI olan hastaların LFA ODI ortancası 0.47 (IQR 0.33-0.71), EIA≥0.5 ODI olan hastaların LFA ortancası ODI 3.29 (IQR 1.72-7.52) olarak tespit edilmiştir (26). Bizim çalışmamızda 28 hastadan BAL örneği alınabildi ve bu hastaların EORTC/MSG kriterlerine göre 2'si (%7.1) *proven* İA, 9'u (%32.1) *probable* İA ve 17'si (%60.7) *possible* İA grubundaydı. Bronkoskopi yapılan hastalardan *possible* İA grubunda olan 17 hastadan sadece birinde BAL GM-EIA 0.5 ODI'nin üstündeydi (GM-EIA=0.628). Bu hastanın serum GM-EIA (0.72 ODI) ile serum ve BAL GM-LFA (0.6 ve 0.91 ODI) değerleri de 0.5-1.0 ODI arasındaydı. *Possible* İA grubunda bu hasta dışında 5 hastanın daha BAL GM-LFA değerleri 0.5-0.7 ODI arasındaydı. BAL örneği alınan 2 *proven* hastadan birinde serum ve BAL'da her iki testte 1.0 ODI üstünde pozitifken; diğer hastanın BAL örneğinde LFA ve EIA pozitif fakat serum testleri 0.5 ODI altında negatifti. *Probable* İA tespit edilen 9 hastadan birinde BAL LFA ve EIA 0.5 altında negatifti. Diğer hastaların LFA ve EIA değerleri 0.5 ODI üstündeydi. Bronkoskopi yapılan *probable* İA grubundaki 4 hastanın serum LFA ve EIA 0.5 altında negatif bulunmuştur. Bronkoskopi yapılan hastalar arasında kontrol grubundan hasta olmadığı için duyarlılık/özgüllük analizi BAL için yapılmadı. BAL GM-LFA ile GM-EIA arasında uyuma bakıldığında yüksek pozitif yönlü korelasyon saptandı (Spearman $\rho = 0.777$ $P=0.01$).

Proven/probable İA ve hematolojik malignite tanılı hastalarda nötrofil sayısı ile serum GM antijen seviyesinin korelasyonunu araştıran bir çalışmada hastalar

nötrofil sayılarına göre 3 gruba ayrılmıştır: (i) $<100/\text{mm}^3$ PMNL, (ii) $100-500/\text{mm}^3$ PMNL, (iii) $>500/\text{mm}^3$ PMNL. Nötrofil sayısı 100 altında olan grubun diğer gruplara göre GM indeksi anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (205). Yapılan diğer bir çalışmada, 128 İPA şüphesi olup nötropenik olmayan hastada BAL ve serumda GM-EIA bakılmış, *proven/probable* İPA vakaları ($n=37$) ile İPA dışı akciğer enfeksiyonu olan ($n=83$) hastanın GM değerleri karşılaştırılmıştır. Optik yoğunluk indeksi 0.5 alındığında BAL GM ve serum GM duyarlılıkları %75.6 ve %37.8 ($p<0.001$); özgüllükleri ise sırasıyla %80.7 ve %87.1 bulunmuştur ($p<0.28$). ODI ≥ 1.0 alındığında BAL GM ve serum GM duyarlılık ve özgüllükleri, %64.8 vs %24.3 ve %90.3 vs %95.7 olarak bulunmuştur. ROC analizinde BAL GM kesim noktası 0.7'dir ve bu indekste duyarlılık %72.9, özgüllük %89.1 bulunmuştur (256). Nötropenik ya da nötrofil fonksiyonu baskılanmış hastaların dahil edildiği sistemik derlemede İA tanısında serum GM duyarlılığı ve özgüllüğü ODI 0.5, 1, 1.5 iken sırasıyla %78, %71, %63 ve %85, %90, %93 tespit edilmiştir (17). Bizim çalışmamızda hastaların 70'i (%40.9), *proven* ve *probable* İA tanılı hastaların ise 18'i (%64.3) serum örneklerinin alındığı 0.gün nötropenikti ($\leq 500/\mu\text{l}$). *Proven/probable* İA grubunda nötropenik olan ve olmayan hastaların GM-LFA optik yoğunluk indeksleri kıyaslandığında anlamlı fark bulunmamıştır ($P=0.75$), GM-EIA ortalamaları arasında da fark saptanmamıştır ($P=0.96$). *Possible* İA grubunda nötropeni durumuna göre hastaların GM-LFA ODI'leri karşılaştırıldığında anlamlı fark yok iken ($P=0.95$); nötropenik olmayan hastaların GM-EIA ODI ortalamaları anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P=0.012$). *Proven/probable* İA tanılı hastalardan nötropenik olanların GM-LFA duyarlılığı %77.8 ve özgüllüğü %100; nötropenik olmayan hastaların LFA duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %70.0 ve %100 bulunmuştur. Nötropenik olmayan hastaların GM-LFA duyarlılığının nötropenik hastalara göre düşük olduğu gözlenirken, negatif prediktif değerlerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (%95.5 vs %85.7).

Serum örneği alınan hastaların sadece 28'inden BAL örneği alınabilmesi çalışmamızın kısıtlılıklarından biridir. Çalışmaya katılan her merkezde bronkoskopi yapılamaması, yapılan merkezlerde COVID-19 sürecinde bronkoskopik işlemlerin kısıtlanması, hematolojik maligniteli hastaların trombositopeni gibi konak faktörlerinden dolayı çoğu zaman doku biyopsisi alınamaması ve merkezlerde düzenli

Çalışılan EIA-GM dışında *Aspergillus* PCR olmaması vaka sınıflandırmasının çoğunlukla GM-EIA sonucuna göre yapılmasına neden olmuştur. EORTC/MSG kriterlerine göre bir vakanın *probable* İA olarak sınıflandırılması için EIA-GM ODI ≥ 1 gerektiğinden; 4 vakada EIA-GM 0.5 ile 1 arasında iken başka destekleyici bir mikolojik kanıt olmadığından *probable* İA kabul edilememiştir. Bu vakaların LFA değerleri de 0.6-1.4 ODI arasında olup 0.5 ODI kesim noktasında pozitif kabul edilmiştir. Nötropenik olan ve olmayan kontrol grubundaki hastaların GM-LFA ortalamaları arasında fark olmasa da kontrol grubunda nötropenik hasta sayısının diğer vaka gruplarına göre düşük oranda olması hem GM-EIA hem GM-LFA'nın özėüllük ve negatif prediktif değerlerini olumlu etkilemiş olabilir.

İnvaziv aspergilloz, hematolojik malignite tanılı hastalarda önemli bir mortalite nedenidir fakat çoğu zaman hastaların düşük trombosit sayısı veya diğer tıbbi riskleri nedeniyle kesin tanı için hastalardan doku biyopsisi alınması mümkün olmamaktadır. Ayrıca benzer sendromlara neden olan küfler için farklı aktiviteye sahip ilaçların mevcudiyeti, özellikle mukormikoza karşı vorikonazol aktivitesinin olmaması, spesifik bir mikrobiyolojik tanı ve antimikrobiyal duyarlılık testinin önemini vurgulamaktadır. Biyopsi yapılamayan hastalarda serolojik ve moleküler yöntemler önem kazanmaktadır. İA tanısında, EIA yöntemi ile GM antijeni tespiti en sık kullanılan serolojik yöntemdir, fakat çalışma süresinin uzun olması, kitin tek örneğın çalışılması için dizayn edilmemiş olması (8-96 kuyucuklu plak) ve çoğu merkezde haftada 1-2 kere çalışılabilmesi, testin yüksek maliyeti ve tecrübeli laboratuvar teknisyeni tarafından çalışılması gerekliliği gibi dezavantajları bulunmaktadır. İA tanısında hızlı, güvenilir, düşük maliyetli ve kolay ulaşılır testlere ihtiyaç vardır. GM-LFA, giderek kullanımı artan, immünokromatografik yöntemle GM tespiti yapan ve İA hızlı tanısında umut vadeden bir testtir. Çok merkezli, prospektif alışmamızda GM-LFA'nın, serum örneklerinde yüksek duyarlılık ve özėüllük yanında yüksek NPV, PPV'ye sahip olduğu görölmüştür. Sonuçta, GM-LFA serum örneklerinde hem GM-EIA'ya alternatif olarak hem de anlık hızlı tanı testi olarak kullanılabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Pagano L, Akova M, Dimopoulos G, Herbrecht R, Drgona L, Blijlevens N. Risk assessment and prognostic factors for mould-related diseases in immunocompromised patients. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66 Suppl 1:i5-14.
2. Lass-Flörl C. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. *Mycoses.* 2009;52(3):197-205.
3. Cornely OA, Gachot B, Akan H, Bassetti M, Uzun O, Kibbler C, et al. Epidemiology and outcome of fungemia in a cancer Cohort of the Infectious Diseases Group (IDG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC 65031). *Clin Infect Dis.* 2015;61(3):324-31.
4. Wiederhold NP, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Invasive Aspergillosis in Patients with Hematologic Malignancies. *Pharmacotherapy.* 2003;23(12):1592-610.
5. Girmenia C. New hematologic populations at risk of invasive aspergillosis: focus on new targeted, biological, and cellular therapies. *F1000Research.* 2019;8:1202.
6. Wald A, Leisenring W, van Burik JA, Bowden RA. Epidemiology of Aspergillus infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis.* 1997;175(6):1459-66.
7. Segal BH, Bow EJ, Menichetti F. Fungal infections in nontransplant patients with hematologic malignancies. *Infect Dis Clin North Am.* 2002;16(4):935-64, vii.
8. Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Martino B, Specchia G, et al. Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study. *Haematologica.* 2010;95(4):644-50.
9. Merkel D, Filanovsky K, Gaftor-Gvili A, Vidal L, Aviv A, Gatt ME, et al. Predicting infections in high-risk patients with myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia treated with azacitidine: a retrospective multicenter study. *Am J Hematol.* 2013;88(2):130-4.
10. Ledoux MP, Guffroy B, Nivoix Y, Simand C, Herbrecht R. Invasive Pulmonary Aspergillosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2020;41(1):80-98.
11. Segal BH. Aspergillosis. *N Engl J Med.* 2009;360(18):1870-84.

12. Patterson TF. *Aspergillus* Species. In: John E. Bennett RD, Martin J. Blaser, editor. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p. 2895-908.
13. Chabi ML, Goracci A, Roche N, Paugam A, Lupo A, Revel MP. Pulmonary aspergillosis. *Diagn Interv Imaging*. 2015;96(5):435-42.
14. Denning DW. Invasive Aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases*. 1998;26(4):781-803.
15. Hope W, Walsh T, Denning D. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2005;5(10):609-22.
16. Maertens JA, Klont R, Masson C, Theunissen K, Meersseman W, Lagrou K, et al. Optimization of the cutoff value for the *Aspergillus* double-sandwich enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis*. 2007;44(10):1329-36.
17. Leeftang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Wang J, Visser CE, Scholten RJ, Hooft L, et al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;2015(12):Cd007394.
18. Marr KA, Laverdiere M, Gugel A, Leisenring W. Antifungal Therapy Decreases Sensitivity of the *Aspergillus* Galactomannan Enzyme Immunoassay. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;40(12):1762-9.
19. Miceli MH, Kauffman CA. *Aspergillus* Galactomannan for Diagnosing Invasive Aspergillosis. *Jama*. 2017;318(12):1175-6.
20. Swanink CM, Meis JF, Rijs AJ, Donnelly JP, Verweij PE. Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *Aspergillus* galactomannan. *J Clin Microbiol*. 1997;35(1):257-60.
21. Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, et al. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(6):1367-76.
22. Thornton CR. Development of an immunochromatographic lateral-flow device for rapid serodiagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2008;15(7):1095-105.

23. Linder KA, Kauffman CA, Miceli MH. Performance of Aspergillus Galactomannan Lateral Flow Assay on Bronchoalveolar Lavage Fluid for the Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis. *Journal of Fungi*. 2020;6(4):297.
24. White PL, Price JS, Posso R, Cutlan-Vaughan M, Vale L, Backx M. Evaluation of the Performance of the IMMY sona Aspergillus Galactomannan Lateral Flow Assay When Testing Serum To Aid in Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020;58(6).
25. Mercier T, Guldentops E, Lagrou K, Maertens J. Prospective Evaluation of the Turbidimetric β -D-Glucan Assay and 2 Lateral Flow Assays on Serum in Invasive Aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2021;72(9):1577-84.
26. Jenks JD, Prattes J, Frank J, Spiess B, Mehta SR, Boch T, et al. Performance of the Bronchoalveolar Lavage Fluid Aspergillus Galactomannan Lateral Flow Assay With Cube Reader for Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis: A Multicenter Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2021;73(7):e1737-e44.
27. Yeghen T, Kibbler CC, Prentice HG, Berger LA, Wallesby RK, McWhinney PH, et al. Management of invasive pulmonary aspergillosis in hematology patients: a review of 87 consecutive cases at a single institution. *Clin Infect Dis*. 2000;31(4):859-68.
28. Nicolle MC, Benet T, Thiebaut A, Bienvenu AL, Voirin N, Duclos A, et al. Invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies: incidence and description of 127 cases enrolled in a single institution prospective survey from 2004 to 2009. *Haematologica*. 2011;96(11):1685-91.
29. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis*. 2001;32(3):358-66.
30. Steinbach WJ, Marr KA, Anaissie EJ, Azie N, Quan SP, Meier-Kriesche HU, et al. Clinical epidemiology of 960 patients with invasive aspergillosis from the PATH Alliance registry. *J Infect*. 2012;65(5):453-64.
31. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2008;46(3):327-60.
32. Machida M, Gomi K. *Aspergillus: molecular biology and genomics*: Horizon Scientific Press; 2010.

33. Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CHW, et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*. 2014;78:141-73.
34. Virchow R. Beiträge zur Lehre von den beim Menschen vorkommenden pflanzlichen Parasiten. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin*. 1856;9(4):557-93.
35. Schmidt A. Georg Fresenius und die Spezies *Aspergillus fumigatus*: Georg Fresenius and the species *Aspergillus fumigatus*. *Mycoses*. 1998;41:89-91.
36. Mackenzie JJ: Preliminary report on aspergillus mycosis of the antrum maxillare. *Johns Hopkins Hospital Bulletin* 4:9-10.
37. Rankin NE. Disseminated Aspergillosis and Moniliasis Associated with Agranulocytosis and Antibiotic Therapy. *BMJ*. 1953;1(4816):918-9.
38. Chander J. Aspergillosis. *Textbook of Medical Mycology*, 4th edition. Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Limited; 2017. p.524-551.
39. Balajee SA, Houbraken J, Verweij PE, Hong SB, Yaghuchi T, Varga J, et al. *Aspergillus* species identification in the clinical setting. *Stud Mycol*. 2007;59:39-46.
40. Gams W, Christensen M, Onions AH, Pitt JI, Samson RA. Infrageneric Taxa of *Aspergillus*. In: Samson RA, Pitt JI, editors. *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics*. Boston, MA: Springer US; 1986. p. 55-62.
41. Peterson SW. Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. *Mycologia*. 2008;100(2):205-26.
42. Geiser DM. Sexual structures in *Aspergillus*: morphology, importance and genomics. *Med Mycol*. 2009;47 Suppl 1:S21-6.
43. Bignell E. *Aspergillus: Molecular Biology and Genomics*. By Masayuki Machida and Katsuya Gomi (Eds.). *Biotechnology Journal*. 2010;5(3):336-7.
44. Horan-Saullo JL, Alexander BD. Opportunistic Mycoses. In: Broaddus VC, Mason RJ, Ernst JD, King TE, Lazarus SC, Murray JF, et al., editors. *Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine (Sixth Edition)*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2016. p. 661-81.e16.
45. Krijghsheld P, Bleichrodt R, van Veluw GJ, Wang F, Müller WH, Dijksterhuis J, et al. Development in *Aspergillus*. *Studies in Mycology*. 2013;74:1-29.

46. Park H-S, Yu J-H. Developmental regulators in *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Microbiology*. 2016;54(3):223-31.
47. Dyer PS, O'Gorman CM. A fungal sexual revolution: *Aspergillus* and *Penicillium* show the way. *Curr Opin Microbiol*. 2011;14(6):649-54.
48. Dyer PS, Paoletti M. Reproduction in *Aspergillus fumigatus*: sexuality in a supposedly asexual species? *Medical Mycology*. 2005;43(s1):7-14.
49. Dyer PS, O'Gorman CM. Sexual development and cryptic sexuality in fungi: insights from *Aspergillus* species. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(1):165-92.
50. Troppens DM, Köhler AM, Schlüter R, Hoppert M, Gerke J, Braus GH. Hülle Cells of *Aspergillus nidulans* with Nuclear Storage and Developmental Backup Functions Are Reminiscent of Multipotent Stem Cells. *mBio*. 2020;11(4).
51. Sugui JA, Kwon-Chung KJ, Juvvadi PR, Latge JP, Steinbach WJ. *Aspergillus fumigatus* and Related Species. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2015;5(2):a019786-a.
52. Samson RA, Hong S, Peterson SW, Frisvad JC, Varga J. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph *Neosartorya*. *Stud Mycol*. 2007;59:147-203.
53. Tsai HF, Wheeler MH, Chang YC, Kwon-Chung KJ. A developmentally regulated gene cluster involved in conidial pigment biosynthesis in *Aspergillus fumigatus*. *J Bacteriol*. 1999;181(20):6469-77.
54. McClenny N. Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by microscopic observation and culture: the traditional approach. *Medical Mycology*. 2005;43(s1):125-8.
55. Guignani HC. Ecology and taxonomy of pathogenic aspergilli. *Front Biosci*. 2003;8:s346-57.
56. Latgé JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(2):310-50.
57. Balajee SA, Nickle D, Varga J, Marr KA. Molecular Studies Reveal Frequent Misidentification of *Aspergillus fumigatus* by Morphotyping. *Eukaryotic Cell*. 2006;5(10):1705-12.
58. Bhabhra R, Askew DS. Thermotolerance and virulence of *Aspergillus fumigatus*: role of the fungal nucleolus. *Medical Mycology*. 2005;43(s1):87-93.

59. Jensen H. The fungus flora of the soil. *Soil Science*. 1931;31(2):123.
60. Kozakiewicz Z, Smith D. Physiology of *Aspergillus*. In: Smith JE, editor. *Biotechnology handbooks - 7: Aspergillus*. New York: Plenum Press. pp. 23–40.
61. Kwon-Chung KJ, Sugui JA. *Aspergillus fumigatus*-What Makes the Species a Ubiquitous Human Fungal Pathogen? *PLoS Pathogens*. 2013;9(12):e1003743.
62. Tekaia F, Latgé JP. *Aspergillus fumigatus*: saprophyte or pathogen? *Curr Opin Microbiol*. 2005;8(4):385-92.
63. Walsh TJ. Primary cutaneous aspergillosis--an emerging infection among immunocompromised patients. *Clin Infect Dis*. 1998;27(3):453-7.
64. Wong SSW, and Latgé, J.P. 2017. When *Aspergillus fumigatus* meets the man. In *Current progress in medical mycology*. Edited by H. Mora-Montes and L. Lopes-Bezerra. Springer International Publishing. pp.119–137.
65. Paris S, Boisvieux-Ulrich E, Crestani B, Houcine O, Taramelli D, Lombardi L, et al. Internalization of *Aspergillus fumigatus* conidia by epithelial and endothelial cells. *Infect Immun*. 1997;65(4):1510-4.
66. Ben-Ami R, Lewis RE, Leventakos K, Kontoyiannis DP. *Aspergillus fumigatus* inhibits angiogenesis through the production of gliotoxin and other secondary metabolites. *Blood*. 2009;114(26):5393-9.
67. Lopes Bezerra LM, Filler SG. Interactions of *Aspergillus fumigatus* with endothelial cells: internalization, injury, and stimulation of tissue factor activity. *Blood*. 2004;103(6):2143-9.
68. Filler SG, Sheppard DC. Fungal invasion of normally non-phagocytic host cells. *PLoS Pathog*. 2006;2(12):e129.
69. Blatzer M, Barker BM, Willger SD, Beckmann N, Blosser SJ, Cornish EJ, et al. SREBP Coordinates Iron and Ergosterol Homeostasis to Mediate Triazole Drug and Hypoxia Responses in the Human Fungal Pathogen *Aspergillus fumigatus*. *PLoS Genetics*. 2011;7(12):e1002374.
70. Shepardson KM, Ngo LY, Aimaganianda V, Latgé JP, Barker BM, Blosser SJ, et al. Hypoxia enhances innate immune activation to *Aspergillus fumigatus* through cell wall modulation. *Microbes Infect*. 2013;15(4):259-69.
71. Bertuzzi M, Schrettl M, Alcazar-Fuoli L, Cairns TC, Muñoz A, Walker LA, et al. The pH-Responsive PacC Transcription Factor of *Aspergillus fumigatus* Governs

Epithelial Entry and Tissue Invasion during Pulmonary Aspergillosis. *PLoS Pathogens*. 2014;10(10):e1004413.

72. Latgé J-P, Chamilos G. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. *Clinical Microbiology Reviews*. 2019;33(1).

73. Latgé JP, Beauvais A, Chamilos G. The Cell Wall of the Human Fungal Pathogen *Aspergillus fumigatus*: Biosynthesis, Organization, Immune Response, and Virulence. *Annu Rev Microbiol*. 2017;71:99-116.

74. Fontaine T, Delangle A, Simenel C, Coddeville B, Van Vliet SJ, Van Kooyk Y, et al. Galactosaminogalactan, a New Immunosuppressive Polysaccharide of *Aspergillus fumigatus*. *PLoS Pathogens*. 2011;7(11):e1002372.

75. Beaussart A, El-Kirat-Chatel S, Fontaine T, Latgé JP, Dufrêne YF. Nanoscale biophysical properties of the cell surface galactosaminogalactan from the fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Nanoscale*. 2015;7(36):14996-5004.

76. Rambach G, Blum G, Latgé JP, Fontaine T, Heinekamp T, Hagleitner M, et al. Identification of *Aspergillus fumigatus* Surface Components That Mediate Interaction of Conidia and Hyphae With Human Platelets. *J Infect Dis*. 2015;212(7):1140-9.

77. Robinet P, Baychelier F, Fontaine T, Picard C, Debré P, Vieillard V, et al. A polysaccharide virulence factor of a human fungal pathogen induces neutrophil apoptosis via NK cells. *J Immunol*. 2014;192(11):5332-42.

78. Yoshimi A, Miyazawa K, Abe K. Cell wall structure and biogenesis in *Aspergillus* species. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2016;80(9):1700-11.

79. Perrone G, Gallo A. *Aspergillus* Species and Their Associated Mycotoxins. Springer New York; 2017. p. 33-49.

80. Liu H, Lee MJ, Solis NV, Phan QT, Swidergall M, Ralph B, et al. *Aspergillus fumigatus* CalA binds to integrin $\alpha 5\beta 1$ and mediates host cell invasion. *Nature Microbiology*. 2017;2(2):16211.

81. Kerr SC, Fischer GJ, Sinha M, McCabe O, Palmer JM, Choera T, et al. FleA Expression in *Aspergillus fumigatus* Is Recognized by Fucosylated Structures on Mucins and Macrophages to Prevent Lung Infection. *PLoS Pathog*. 2016;12(4):e1005555.

82. Jepsen CS, Dubey LK, Colmorton KB, Moeller JB, Hammond MA, Nielsen O, et al. FIBCD1 Binds *Aspergillus fumigatus* and Regulates Lung Epithelial Response to Cell Wall Components. *Front Immunol*. 2018;9:1967.
83. Bellocchio S, Moretti S, Perruccio K, Fallarino F, Bozza S, Montagnoli C, et al. TLRs govern neutrophil activity in aspergillosis. *J Immunol*. 2004;173(12):7406-15.
84. Herre J, Willment JA, Gordon S, Brown GD. The role of Dectin-1 in antifungal immunity. *Crit Rev Immunol*. 2004;24(3):193-203.
85. Madan T, Reid KB, Clark H, Singh M, Nayak A, Sarma PU, et al. Susceptibility of mice genetically deficient in SP-A or SP-D gene to invasive pulmonary aspergillosis. *Mol Immunol*. 2010;47(10):1923-30.
86. Reiss E SH, Lyon GM III. *Fundamental Medical Mycology*. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2012:201-215, 357-430.
87. Segal BH, DeCarlo ES, Kwon-Chung KJ, Malech HL, Gallin JI, Holland SM. *Aspergillus nidulans* infection in chronic granulomatous disease. *Medicine (Baltimore)*. 1998;77(5):345-54.
88. Park SJ, Hughes MA, Burdick M, Strieter RM, Mehrad B. Early NK Cell-Derived IFN- γ Is Essential to Host Defense in Neutropenic Invasive Aspergillosis. *The Journal of Immunology*. 2009;182(7):4306-12.
89. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol*. 2004;75(2):163-89.
90. Segal BH, Kwon-Chung J, Walsh TJ, Klein BS, Battiwalla M, Almyroudis NG, et al. Immunotherapy for fungal infections. *Clin Infect Dis*. 2006;42(4):507-15.
91. Greenberger PA. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(5):685-92.
92. Stevens DA, Moss RB, Kurup VP, Knutsen AP, Greenberger P, Judson MA, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis--state of the art: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference. *Clin Infect Dis*. 2003;37 Suppl 3:S225-64.
93. Zelante T, De Luca A, Bonifazi P, Montagnoli C, Bozza S, Moretti S, et al. IL-23 and the Th17 pathway promote inflammation and impair antifungal immune resistance. *Eur J Immunol*. 2007;37(10):2695-706.

94. Montagnoli C, Fallarino F, Gaziano R, Bozza S, Bellocchio S, Zelante T, et al. Immunity and tolerance to *Aspergillus* involve functionally distinct regulatory T cells and tryptophan catabolism. *J Immunol*. 2006;176(3):1712-23.
95. Romani L, Fallarino F, De Luca A, Montagnoli C, D'Angelo C, Zelante T, et al. Defective tryptophan catabolism underlies inflammation in mouse chronic granulomatous disease. *Nature*. 2008;451(7175):211-5.
96. Panackal AA, Li H, Kontoyiannis DP, Mori M, Perego CA, Boeckh M, et al. Geoclimatic influences on invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2010;50(12):1588-97.
97. Oliver MR, Van Voorhis WC, Boeckh M, Mattson D, Bowden RA. Hepatic mucormycosis in a bone marrow transplant recipient who ingested naturopathic medicine. *Clin Infect Dis*. 1996;22(3):521-4.
98. Wéry N. Bioaerosols from composting facilities--a review. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014;4:42.
99. Mullins J, Seaton A. Fungal spores in lung and sputum. *Clin Allergy*. 1978;8(5):525-33.
100. Lass-Flörl C, Salzer GM, Schmid T, Rabl W, Ulmer H, Dierichi MP. Pulmonary *Aspergillus* colonization in humans and its impact on management of critically ill patients. *Br J Haematol*. 1999;104(4):745-7.
101. Denning DW, Park S, Lass-Flörl C, Fraczek MG, Kirwan M, Gore R, et al. High-frequency triazole resistance found in nonculturable *Aspergillus fumigatus* from lungs of patients with chronic fungal disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;52(9):1123-9.
102. Warris A, Bercusson A, Armstrong-James D. *Aspergillus* colonization and antifungal immunity in cystic fibrosis patients. *Medical Mycology*. 2019;57(Supplement_2):S118-S26.
103. McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan MA, Conn LA, Plikaytis BD, et al. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis*. 2001;33(5):641-7.

104. Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Fianchi L, Martino B, et al. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica*. 2006;91(8):1068-75.
105. Pagano L, Girmenia C, Mele L, Ricci P, Tosti ME, Nosari A, et al. Infections caused by filamentous fungi in patients with hematologic malignancies. A report of 391 cases by GIMEMA Infection Program. *Haematologica*. 2001;86(8):862-70.
106. Cornet M, Fleury L, Maslo C, Bernard JF, Brücker G. Epidemiology of invasive aspergillosis in France: a six-year multicentric survey in the Greater Paris area. *J Hosp Infect*. 2002;51(4):288-96.
107. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2002;34(7):909-17.
108. Pagano L, Caira M, Nosari A, Van Lint MT, Candoni A, Offidani M, et al. Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study--Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clin Infect Dis*. 2007;45(9):1161-70.
109. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ, et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis*. 2010;50(8):1091-100.
110. Choi JK, Cho SY, Yoon SS, Moon JH, Kim SH, Lee JH, et al. Epidemiology and Risk Factors for Invasive Fungal Diseases among Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients in Korea: Results of "RISK" Study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(10):1773-9.
111. Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood*. 2002;100(13):4358-66.
112. Harrison N, Mitterbauer M, Tobudic S, Kalhs P, Rabitsch W, Greinix H, et al. Incidence and characteristics of invasive fungal diseases in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis*. 2015;15:584.

113. John, David, Kieren, Dimitrios, Barbara, Carol, et al. Factors Associated with Mortality in Transplant Patients with Invasive Aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2010;50(12):1559-67.
114. Singh N, Paterson DL. Aspergillus Infections in Transplant Recipients. *Clinical Microbiology Reviews*. 2005;18(1):44-69.
115. Singh N, Husain S. Aspergillus infections after lung transplantation: clinical differences in type of transplant and implications for management. *J Heart Lung Transplant*. 2003;22(3):258-66.
116. Neofytos D, Fishman JA, Horn D, Anaissie E, Chang CH, Olyaei A, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2010;12(3):220-9.
117. Gavalda J, Len O, San Juan R, Aguado JM, Fortun J, Lumbreras C, et al. Risk factors for invasive aspergillosis in solid-organ transplant recipients: a case-control study. *Clin Infect Dis*. 2005;41(1):52-9.
118. Schauwvlieghe A, Rijnders BJA, Philips N, Verwijs R, Vanderbeke L, Van Tienen C, et al. Invasive aspergillosis in patients admitted to the intensive care unit with severe influenza: a retrospective cohort study. *Lancet Respir Med*. 2018;6(10):782-92.
119. Tsiodras S, Samonis G, Boumpas DT, Kontoyiannis DP. Fungal infections complicating tumor necrosis factor alpha blockade therapy. *Mayo Clin Proc*. 2008;83(2):181-94.
120. Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A, Chen SCA, Colombo AL, Hoenigl M, et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *The Lancet Infectious diseases*. 2021;21(6):e149-e62.
121. Lai C-C, Yu W-L. COVID-19 associated with pulmonary aspergillosis: A literature review. *J Microbiol Immunol Infect*. 2021;54(1):46-53.
122. Bartoletti M, Pascale R, Cricca M, Rinaldi M, Maccaro A, Bussini L, et al. Epidemiology of Invasive Pulmonary Aspergillosis Among Intubated Patients With COVID-19: A Prospective Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2021;73(11):e3606-e14.

123. Yokoe D, Casper C, Dubberke E, Lee G, Muñoz P, Palmore T, et al. Infection prevention and control in health-care facilities in which hematopoietic cell transplant recipients are treated. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44(8):495-507.
124. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;63(4):e1-e60.
125. Thio CL, Smith D, Merz WG, Streifel AJ, Bova G, Gay L, et al. Refinements of environmental assessment during an outbreak investigation of invasive aspergillosis in a leukemia and bone marrow transplant unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21(1):18-23.
126. El-Baba F, Gao Y, Soubani AO. Pulmonary Aspergillosis: What the Generalist Needs to Know. *Am J Med*. 2020;133(6):668-74.
127. Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S, et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *Eur Respir J*. 2016;47(1):45-68.
128. Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, Gupta D, Meis JF, Guleria R, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin Exp Allergy*. 2013;43(8):850-73.
129. Moss RB. Pathophysiology and immunology of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Med Mycol*. 2005;43 Suppl 1:S203-6.
130. Patterson R, Greenberger PA, Radin RC, Roberts M. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: staging as an aid to management. *Ann Intern Med*. 1982;96(3):286-91.
131. Agarwal R, Maskey D, Aggarwal AN, Saikia B, Garg M, Gupta D, et al. Diagnostic Performance of Various Tests and Criteria Employed in Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis: A Latent Class Analysis. *PLoS ONE*. 2013;8(4):e61105.
132. Agarwal R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Chest*. 2009;135(3):805-26.

133. Agarwal R, Dhoooria S, Singh Sehgal I, Aggarwal AN, Garg M, Saikia B, et al. A Randomized Trial of Itraconazole vs Prednisolone in Acute-Stage Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis Complicating Asthma. *Chest*. 2018;153(3):656-64.
134. Stevens DA, Schwartz HJ, Lee JY, Moskovitz BL, Jerome DC, Catanzaro A, et al. A Randomized Trial of Itraconazole in Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. *New England Journal of Medicine*. 2000;342(11):756-62.
135. Mylonakis E, Barlam TF, Flanigan T, Rich JD. Pulmonary aspergillosis and invasive disease in AIDS: review of 342 cases. *Chest*. 1998;114(1):251-62.
136. Smith NL, Denning DW. Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. *Eur Respir J*. 2011;37(4):865-72.
137. Davda S, Kowa XY, Aziz Z, Ellis S, Cheasty E, Cappocci S, et al. The development of pulmonary aspergillosis and its histologic, clinical, and radiologic manifestations. *Clin Radiol*. 2018;73(11):913-21.
138. Kousha M, Tadi R, Soubani AO. Pulmonary aspergillosis: a clinical review. *Eur Respir Rev*. 2011;20(121):156-74.
139. Jewkes J, Kay PH, Paneth M, Citron KM. Pulmonary aspergilloma: analysis of prognosis in relation to haemoptysis and survey of treatment. *Thorax*. 1983;38(8):572-8.
140. Kauffman CA. Quandary about treatment of aspergillomas persists. *Lancet*. 1996;347(9016):1640.
141. Geftter WB. The spectrum of pulmonary aspergillosis. *J Thorac Imaging*. 1992;7(4):56-74.
142. Lejay A, Falcoz PE, Santelmo N, Helms O, Kochetkova E, Jeung M, et al. Surgery for aspergilloma: time trend towards improved results? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011;13(4):392-5.
143. Chen QK, Chen C, Chen XF, Jiang GN. Video-assisted thoracic surgery for pulmonary aspergilloma: a safe and effective procedure. *Ann Thorac Surg*. 2014;97(1):218-23.
144. Farid S, Mohamed S, Devbhandari M, Kneale M, Richardson M, Soon SY, et al. Results of surgery for chronic pulmonary Aspergillosis, optimal antifungal therapy and proposed high risk factors for recurrence - a National Centre's experience. *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2013;8(1):180.

145. Sagan D, Goździuk K. Surgery for pulmonary aspergilloma in immunocompetent patients: no benefit from adjuvant antifungal pharmacotherapy. *Ann Thorac Surg*. 2010;89(5):1603-10.
146. Schweer KE, Bangard C, Hekmat K, Cornely OA. Chronic pulmonary aspergillosis. *Mycoses*. 2014;57(5):257-70.
147. Kim DH, Lee JH, Kim BH, Choi EK, Park JS, Kim KY, et al. Chronic Necrotizing Bronchopulmonary Aspergillosis With Elements of Bronchocentric Granulomatosis. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2002;17(2):138-42.
148. Cadranet J, Philippe B, Hennequin C, Bergeron A, Bergot E, Bourdin A, et al. Voriconazole for chronic pulmonary aspergillosis: a prospective multicenter trial. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(11):3231-9.
149. Agarwal R, Vishwanath G, Aggarwal AN, Garg M, Gupta D, Chakrabarti A. Itraconazole in chronic cavitary pulmonary aspergillosis: a randomised controlled trial and systematic review of literature. *Mycoses*. 2013;56(5):559-70.
150. Felton TW, Baxter C, Moore CB, Roberts SA, Hope WW, Denning DW. Efficacy and safety of posaconazole for chronic pulmonary aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2010;51(12):1383-91.
151. Reischies F, Hoenigl M. The role of surgical debridement in different clinical manifestations of invasive aspergillosis. *Mycoses*. 2014;57:1-14.
152. Bénet T, Voirin N, Nicolle M-C, Picot S, Michallet M, Vanhems P. Estimation of the incubation period of invasive aspergillosis by survival models in acute myeloid leukemia patients. *Medical Mycology*. 2013;51(2):214-8.
153. Krenke R, Grabczak EM. Tracheobronchial Manifestations of *Aspergillus* Infections. *The Scientific World Journal*. 2011;11:2310-29.
154. Mohan A, Guleria R, Mukhopadhyaya S, Das C, Nayak A, Sharma SK. Invasive tracheobronchial aspergillosis in an immunocompetent person. *Am J Med Sci*. 2005;329(2):107-9.
155. Franco J, Muñoz C, Vila B, Marín J. Pseudomembranous invasive tracheobronchial aspergillosis. *Thorax*. 2004;59(5):452.
156. Wu N, Huang Y, Li Q, Bai C, Huang HD, Yao XP. Isolated invasive *Aspergillus* tracheobronchitis: a clinical study of 19 cases. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(6):689-95.

157. Denning DW. Commentary: unusual manifestations of aspergillosis. *Thorax*. 1995;50(7):812-3.
158. Tasci S, Glasmacher A, Lentini S, Tschubel K, Ewig S, Molitor E, et al. Pseudomembranous and obstructive *Aspergillus* tracheobronchitis - optimal diagnostic strategy and outcome. *Mycoses*. 2006;49(1):37-42.
159. De Rosa FG, Terragni P, Pasero D, Trompeo AC, Urbino R, Barbui A, et al. Combination antifungal treatment of pseudomembranous tracheobronchial invasive aspergillosis: a case report. *Intensive Care Med*. 2009;35(9):1641-3.
160. Thompson GR, 3rd, Patterson TF. Fungal disease of the nose and paranasal sinuses. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(2):321-6.
161. DeShazo RD, Chapin K, Swain RE. Fungal sinusitis. *N Engl J Med*. 1997;337(4):254-9.
162. DelGaudio JM, Swain RE, Jr., Kingdom TT, Muller S, Hudgins PA. Computed tomographic findings in patients with invasive fungal sinusitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;129(2):236-40.
163. Schwartz S. Improved outcome in central nervous system aspergillosis, using voriconazole treatment. *Blood*. 2005;106(8):2641-5.
164. Hagensee ME, Bauwens JE, Kjos B, Bowden RA. Brain abscess following marrow transplantation: experience at the Fred Hutchinson Cancer Research Center, 1984-1992. *Clin Infect Dis*. 1994;19(3):402-8.
165. Pagano L, Ricci P, Montillo M, Cenacchi A, Nosari A, Tonso A, et al. Localization of aspergillosis to the central nervous system among patients with acute leukemia: report of 14 cases. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto Infection Program. *Clin Infect Dis*. 1996;23(3):628-30.
166. Schwartz S, Ruhnke M, Ribaud P, Reed E, Troke P, Thiel E. Poor efficacy of amphotericin B-based therapy in CNS aspergillosis. *Mycoses*. 2007;50(3):196-200.
167. Ashdown BC, Tien RD, Felsberg GJ. Aspergillosis of the brain and paranasal sinuses in immunocompromised patients: CT and MR imaging findings. *AJR Am J Roentgenol*. 1994;162(1):155-9.
168. Viscoli C, Machetti M, Gazzola P, De Maria A, Paola D, Van Lint MT, et al. *Aspergillus* galactomannan antigen in the cerebrospinal fluid of bone marrow

- transplant recipients with probable cerebral aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2002;40(4):1496-9.
169. Mikulska M, Furfaro E, Del Bono V, Raiola AM, Di Grazia C, Bacigalupo A, et al. (1-3)- β -D-glucan in cerebrospinal fluid is useful for the diagnosis of central nervous system fungal infections. *Clin Infect Dis.* 2013;56(10):1511-2.
 170. Van Burik JA, Colven R, Spach DH. Cutaneous aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 1998;36(11):3115-21.
 171. Kontoyiannis DP, Sumoza D, Tarrand J, Bodey GP, Storey R, Raad II. Significance of Aspergillemia in Patients with Cancer: A 10-Year Study. *Clinical Infectious Diseases.* 2000;31(1):188-9.
 172. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, et al. Clinical Practice Guideline for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases.* 2011;52(4):e56-e93.
 173. Heussel CP, Kauczor HU, Heussel G, Fischer B, Mildenerberger P, Thelen M. Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients: use of thin-section CT. *AJR Am J Roentgenol.* 1997;169(5):1347-53.
 174. Sharma P, Mukherjee A, Karunanithi S, Bal C, Kumar R. Potential Role of ^{18}F -FDG PET/CT in Patients With Fungal Infections. *American Journal of Roentgenology.* 2014;203(1):180-9.
 175. Kim JY, Yoo JW, Oh M, Park SH, Shim TS, Choi YY, et al. (18)F-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography/computed tomography findings are different between invasive and noninvasive pulmonary aspergillosis. *J Comput Assist Tomogr.* 2013;37(4):596-601.
 176. Franzius C, Biermann M, Hülkamp G, Frosch M, Roth J, Sciuk J, et al. Therapy monitoring in aspergillosis using F-18 FDG positron emission tomography. *Clin Nucl Med.* 2001;26(3):232-3.
 177. Wilkinson MD, Fulham MJ, McCaughan BC, Constable CJ. Invasive aspergillosis mimicking stage IIIA non-small-cell lung cancer on FDG positron emission tomography. *Clin Nucl Med.* 2003;28(3):234-5.

178. Greene RE, Schlamm HT, Oestmann JW, Stark P, Durand C, Lortholary O, et al. Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis*. 2007;44(3):373-9.
179. Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, Couaillier JF, Durand C, Cuisenier B, et al. Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. *J Clin Oncol*. 1997;15(1):139-47.
180. Busca A, Locatelli F, Barbui A, Limerutti G, Serra R, Libertucci D, 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):1610-3.
181. Caillot D, Couaillier JF, Bernard A, Casasnovas O, Denning DW, Mannone L, 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):253-9.
182. Franquet T, Müller NL, Giménez A, Guembe P, de La Torre J, Bagué S. Spectrum of pulmonary aspergillosis: histologic, clinical, and radiologic findings. *Radiographics*. 2001;21(4):825-37.
183. Georgiadou SP, Sipsas NV, Marom EM, Kontoyiannis DP. The Diagnostic Value of Halo and Reversed Halo Signs for Invasive Mold Infections in Compromised Hosts. *Clinical Infectious Diseases*. 2011;52(9):1144-55.
184. Wahba H, Truong MT, Lei X, Kontoyiannis DP, Marom EM. Reversed halo sign in invasive pulmonary fungal infections. *Clin Infect Dis*. 2008;46(11):1733-7.
185. Marchiori E, Zanetti G, Hochhegger B, Irion KL, Carvalho ACP, Godoy MCB. Reversed Halo Sign on Computed Tomography: State-of-the-Art Review. *Lung*. 2012;190(4):389-94.
186. Denning DW, Kibbler CC, Barnes RA. British Society for Medical Mycology proposed standards of care for patients with invasive fungal infections. *Lancet Infect Dis*. 2003;3(4):230-40.

187. Rüchel R, Schaffrinski M. Versatile fluorescent staining of fungi in clinical specimens by using the optical brightener Blankophor. *J Clin Microbiol.* 1999;37(8):2694-6.
188. Sutton DA. Specimen collection, transport, and processing: mycology. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC, eds. *Manual of clinical microbiology*, 8th edn. Washington DC: ASM Press, 2003: 1659–67.
189. Kahn FW, Jones JM, England DM. The role of bronchoalveolar lavage in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Clin Pathol.* 1986;86(4):518-23.
190. Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Med.* 1996;100(2):171-8.
191. Pasqualotto AC, Xavier MO, Sánchez LB, de Oliveira Costa CD, Schio SM, Camargo SM, et al. Diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients by detection of galactomannan in the bronchoalveolar lavage fluid. *Transplantation.* 2010;90(3):306-11.
192. Perfect JR, Cox, G. M., Lee, J. Y., Kauffman, C. A., de Repentigny, L., Chapman, S. W., Morrison, V. A., Pappas, P., Hiemenz, J. W., Stevens, D. A., & Mycoses Study Group The Impact of Culture Isolation of *Aspergillus* Species: A Hospital-Based Survey of Aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases.* 2001;33(11):1824-33.
193. Barton RC. Laboratory Diagnosis of Invasive Aspergillosis: From Diagnosis to Prediction of Outcome. *Scientifica.* 2013;2013:1-29.
194. Stynen D, Sarfati J, Goris A, Prévost MC, Lesourd M, Kamphuis H, et al. Rat monoclonal antibodies against *Aspergillus* galactomannan. *Infect Immun.* 1992;60(6):2237-45.
195. Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latgé JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 1995;33(2):497-500.
196. Verweij PE, Weemaes CM, Curfs JH, Bretagne S, Meis JF. Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2000;38(10):3900-1.

197. Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis.* 2004;4(6):349-57.
198. Mennink-Kersten MA, Klont RR, Warris A, Op den Camp HJ, Verweij PE. Bifidobacterium lipoteichoic acid and false ELISA reactivity in aspergillus antigen detection. *Lancet.* 2004;363(9405):325-7.
199. Adam O, Aupérin A, Wilquin F, Bourhis JH, Gachot B, Chachaty E. Treatment with piperacillin-tazobactam and false-positive *Aspergillus* galactomannan antigen test results for patients with hematological malignancies. *Clin Infect Dis.* 2004;38(6):917-20.
200. Mikulska M, Furfaro E, Del Bono V, Raiola AM, Ratto S, Bacigalupo A, et al. Piperacillin/tazobactam (Tazocin™) seems to be no longer responsible for false-positive results of the galactomannan assay. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2012;67(7):1746-8.
201. Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transpl Infect Dis.* 2003;5(4):158-66.
202. The package insert of The Platelia™ *Aspergillus* Ag (BioRad F, 2003. ([https://commerce.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/62794_881115_EN.pdf](https://commerce.bioprad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/62794_881115_EN.pdf))
203. Wheat LJ, Walsh TJ. Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* 2008;27(4):245-51.
204. Duarte RF, Sánchez-Ortega I, Cuesta I, Arnan M, Patiño B, Fernández de Sevilla A, et al. Serum galactomannan-based early detection of invasive aspergillosis in hematology patients receiving effective antimold prophylaxis. *Clin Infect Dis.* 2014;59(12):1696-702.
205. Cordonnier C, Botterel F, Ben Amor R, Pautas C, Maury S, Kuentz M, et al. Correlation between galactomannan antigen levels in serum and neutrophil counts in haematological patients with invasive aspergillosis. *Clinical Microbiology and Infection.* 2009;15(1):81-6.

206. Bassetti M, Peghin M, Vena A. Challenges and Solution of Invasive Aspergillosis in Non-neutropenic Patients: A Review. *Infectious Diseases and Therapy*. 2018;7(1):17-27.
207. Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using a Galactomannan Assay: A Meta-Analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 2006;42(10):1417-727.
208. Zou M, Tang L, Zhao S, Zhao Z, Chen L, Chen P, et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Detecting Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosing Invasive Aspergillosis. *PLoS ONE*. 2012;7(8):e43347.
209. Guo YL, Chen YQ, Wang K, Qin SM, Wu C, Kong JL. Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review. *Chest*. 2010;138(4):817-24.
210. Cao X-J, Li Y-P, Xie L-M, Zhang H-L, Qin Y-S, Guo X-G. Diagnostic Accuracy of Bronchoalveolar Lavage Fluid Galactomannan for Invasive Aspergillosis. *BioMed Research International*. 2020;2020:1-12.
211. Pan Z, Fu M, Zhang J, Zhou H, Fu Y, Zhou J. Diagnostic accuracy of a novel lateral-flow device in invasive aspergillosis: a meta-analysis. *Journal of Medical Microbiology*. 2015;64(7):702-7.
212. Freeman Weiss Z, Leon A, Koo S. The Evolving Landscape of Fungal Diagnostics, Current and Emerging Microbiological Approaches. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(2).
213. Mercier T, Dunbar A, De Kort E, Schauwvlieghe A, Reynders M, Guldentops E, et al. Lateral flow assays for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in adult hematology patients: A comparative multicenter study. *Medical Mycology*. 2020;58(4):444-52.
214. Lass-Flörl C, Lo Cascio G, Nucci M, Camargo Dos Santos M, Colombo AL, Vossen M, et al. Respiratory specimens and the diagnostic accuracy of Aspergillus lateral flow assays (LFA-IMMY™): real-life data from a multicentre study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;25(12):1563.e1-e3.
215. Scharmann U, Verhasselt HL, Kirchhoff L, Buer J, Rath PM, Steinmann J, et al. Evaluation of two lateral flow assays in BAL fluids for the detection of invasive

- pulmonary aspergillosis: A retrospective two-centre study. *Mycoses*. 2020;63(12):1362-7.
216. Wright WF, Overman SB, Ribes JA. (1–3)- β -D-Glucan Assay: A Review of its Laboratory and Clinical Application. *Laboratory Medicine*. 2011;42(11):679-85.
 217. Cuenca-Estrella M, Bassetti M, Lass-Flörl C, Racil Z, Richardson M, Rogers TR. Detection and investigation of invasive mould disease. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011;66(Supplement 1):i15-i24.
 218. Lamoth F. Galactomannan and 1,3- β -d-Glucan Testing for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Journal of Fungi*. 2016;2(3):22.
 219. White SK, Schmidt RL, Walker BS, Hanson KE. (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucan testing for the detection of invasive fungal infections in immunocompromised or critically ill people. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;7(7):Cd009833.
 220. Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, Aoki K, Kurokawa M, Chiba S, et al. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1 $\rightarrow$ 3)-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol*. 2004;42(6):2733-41.
 221. Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, et al. Diagnostic Accuracy of Serum 1,3- β -d-Glucan for *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia, Invasive Candidiasis, and Invasive Aspergillosis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2012;50(1):7-15.
 222. Dichtl K, Forster J, Ormanns S, Horns H, Suerbaum S, Seybold U, et al. Comparison of β -D-Glucan and Galactomannan in Serum for Detection of Invasive Aspergillosis: Retrospective Analysis with Focus on Early Diagnosis. *Journal of Fungi*. 2020;6(4):253.
 223. Metan G, Keklik M, Dinç G, Pala Ç, Yıldırım A, Saraymen B, et al. Performance of Galactomannan Antigen, Beta-d-Glucan, and Aspergillus-Lateral-Flow Device for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*. 2017;33(1):87-92.
 224. Sarwar M, Gardezi SAH, Zaman G, Ikram A, Satti L, Khadim MT. Evaluation of galactomannan and beta-d-glucan assays for the diagnosis of invasive aspergillosis in clinically suspected cases. *J Pak Med Assoc*. 2020;70(3):442-6.

225. White PL, Bretagne SP, Klingspor L, Melchers WJG, McCulloch E, Schulz B, et al. Aspergillus PCR: One Step Closer to Standardization. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010;48(4):1231-40.
226. Kami M, Fukui T, Ogawa S, Kazuyama Y, Machida U, Tanaka Y, et al. Use of Real-Time PCR on Blood Samples for Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2001;33(9):1504-12.
227. Reinwald M, Spiess B, Heinz WJ, Vehreschild JJ, Lass-Flörl C, Kiehl 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):120-7.
228. Hoenigl M, Prattes J, Spiess B, Wagner J, Pruellner F, Raggam RB, et al. Performance of galactomannan, beta-d-glucan, Aspergillus lateral-flow device, conventional culture, and PCR tests with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2014;52(6):2039-45.
229. Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdogan S, Denning DW, Groll AH, Lagrou K, et al. Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clinical Microbiology and Infection*. 2018;24:e1-e38.
230. Caira M, Candoni A, Verga L, Busca A, Delia M, Nosari A, et al. Pre-chemotherapy risk factors for invasive fungal diseases: prospective analysis of 1,192 patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (SEIFEM 2010-a multicenter study). *Haematologica*. 2015;100(2):284-92.
231. Maertens JA, Girmenia C, Brüggemann RJ, Duarte RF, Kibbler CC, Ljungman P, et al. European guidelines for primary antifungal prophylaxis in adult haematology patients: summary of the updated recommendations from the European Conference on Infections in Leukaemia. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(12):3221-30.
232. Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, Perfect J, Ullmann AJ, Walsh TJ, et al. Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med*. 2007;356(4):348-59.
233. Duarte RF, López-Jiménez J, Cornely OA, Laverdiere M, Helfgott D, Haider S, et al. Phase 1b Study of New Posaconazole Tablet for Prevention of Invasive Fungal

Infections in High-Risk Patients with Neutropenia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014;58(10):5758-65.

234. Wingard JR, Carter SL, Walsh TJ, Kurtzberg J, Small TN, Baden LR, et al. Randomized, double-blind trial of fluconazole versus voriconazole for prevention of invasive fungal infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2010;116(24):5111-8.

235. Agrawal S, Hope W, Sinkó J, Kibbler C. Optimizing management of invasive mould diseases. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66 Suppl 1:i45-53.

236. Donnelly JP CC, Cuenca-Estrella Metal. A European prospective invasive mould disease adult. In: Twenty-fourth European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 10–13 May 2014, Barcelona, Spain. Abstract P0028a.

237. Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, Chandrasekar P, Langston A, Tarantolo SR, et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2007;356(4):335-47.

238. Rijnders BJ, Cornelissen JJ, Slobbe L, Becker MJ, Doorduijn JK, Hop WC, et al. Aerosolized liposomal amphotericin B for the prevention of invasive pulmonary aspergillosis during prolonged neutropenia: a randomized, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2008;46(9):1401-8.

239. Walsh TJ, Teppler H, Donowitz GR, Maertens JA, Baden LR, Dmoszynska A, et al. Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N Engl J Med*. 2004;351(14):1391-402.

240. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, Lazarus HM, Petersen F, Raffalli J, et al. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N Engl J Med*. 2002;346(4):225-34.

241. Tissot F, Agrawal S, Pagano L, Petrikos G, Groll AH, Skiada A, et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica*. 2017;102(3):433-44.

242. Marr KA, Schlamm HT, Herbrecht R, Rottinghaus ST, Bow EJ, Cornely OA, et al. Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2015;162(2):81-9.
243. Jenks J, Hoenigl M. Treatment of Aspergillosis. *Journal of Fungi.* 2018;4(3):98.
244. Hachem RY, Boktour MR, Hanna HA, Husni R, Hanna EY, Keutgen X, et al. Sinus surgery combined with antifungal therapy is effective in the treatment of invasive *Aspergillus* sinusitis in neutropenic patients with cancer. *Infection.* 2008;36(6):539-42.
245. Caillot D, Mannone L, Cuisenier B, Couaillier JF. Role of early diagnosis and aggressive surgery in the management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients. *Clin Microbiol Infect.* 2001;7 Suppl 2:54-61.
246. Matt P, Bernet F, Habicht J, Gambazzi F, Gratwohl A, Zerkowski HR, et al. Predicting outcome after lung resection for invasive pulmonary aspergillosis in patients with neutropenia. *Chest.* 2004;126(6):1783-8.
247. Hoenigl M, Zollner-Schwetz I, Sill H, Linkesch W, Lass-Flörl C, Schnedl WJ, et al. Epidemiology of invasive fungal infections and rationale for antifungal therapy in patients with haematological malignancies. *Mycoses.* 2011;54(5):454-9.
248. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, 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):1813-21.
249. The package insert of sōna *Aspergillus* Galactomannan LFA (IMMY N, Oklahoma, USA) for the detection of *Aspergillus* Galactomannan, 2021. (<https://www.immy.com/asp>).
250. The package insert of sōna LFA Cube Reader compatible with sōna *Aspergillus* GM Lateral Flow Assay (IMMY N, Oklahoma, USA), 2020. (https://www.immy.com/package_inserts/asp/LFARDR%20IFU%20-%20English.pdf).
251. Schober P, Boer C, Schwarte LA. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesth Analg.* 2018;126(5):1763-8.

252. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159-74.
253. Serin I, Dogu MH. Serum *Aspergillus* galactomannan lateral flow assay for the diagnosis of invasive aspergillosis: A single-centre study. *Mycoses*. 2021;64(6):678-83.
254. Hoenigl M, Seeber K, Koidl C, Buzina W, Wölfler A, Duettmann W, et al. Sensitivity of galactomannan enzyme immunoassay for diagnosing breakthrough invasive aspergillosis under antifungal prophylaxis and empirical therapy. *Mycoses*. 2013;56(4):471-6.
255. Heldt S, Prattes J, Eigl S, Spiess B, Flick H, Rabensteiner J, et al. Diagnosis of invasive aspergillosis in hematological malignancy patients: Performance of cytokines, Asp LFD, and *Aspergillus* PCR in same day blood and bronchoalveolar lavage samples. *J Infect*. 2018;77(3):235-41.
256. Zhou W, Li H, Zhang Y, Huang M, He Q, Li P, et al. Diagnostic Value of Galactomannan Antigen Test in Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid Samples from Patients with Nonneutropenic Invasive Pulmonary Aspergillosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2017;55(7):2153-61.

