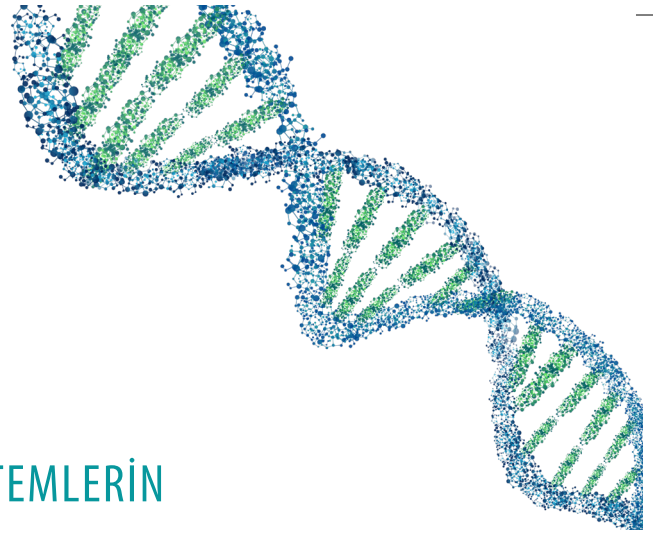


BÖLÜM 46

MANTAR ENFEKSİYONLARININ TANI VE EPİDEMİYOLOJİSİNDE MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KULLANIMI

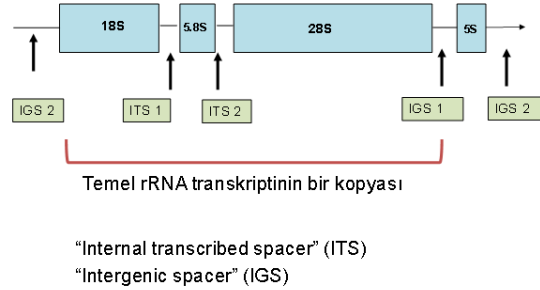


Elif Ayça ŞAHİN¹
Ayşe KALKANCI²

Mantarlar aleminde sınıflandırılan yaklaşık 5 milyon mantar türü arasında 300 kadarı insanlarda enfeksiyon etkeni olarak izole edilmiş ve tıbbi mikolojinin konusu olagelmıştır¹. Bu etkenler yüzeysel enfeksiyonlar oluşturabildikleri gibi hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonlar da oluşturabilmektedir. Yüzeysel veya derin, tüm mantar hastalıklarının yönetiminde etkenin tam ve doğru tanımlanması büyük öneme sahiptir. Mantar enfeksiyonlarının klasik mikolojik tanısı; klinik örneğin direk mikroskopik incelemesinde mantara ait yapıların gösterilmesi ve kültürde etkenin üretilmesini içermektedir. Ancak mantar enfeksiyonlarında kültürün duyarlılığı düşüktür.

Özellikle invaziv enfeksiyonlarda etkenlerin yaklaşık %50'si kültürde üretilmemektedir. Bu nedenle mantar enfeksiyonlarının tanısında serolojik ve moleküler yöntemlerin kullanılması, etkenin tanımlama süresini kısaltmakta ve hedefe yönelik anti-fungal tedavinin başlanmasını sağlamaktadır².

Moleküler tanının temel hedefi olarak mantar hücrenin ribozomal RNA'sı seçilmiştir (Şekil 1).

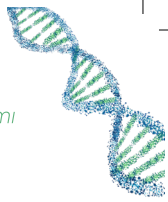


Şekil 1. Mantarların ribozomal RNA bölgesi 18S, 5.8S, 28S rRNA alt ünitelerinden oluşur ve ITS ve IGS dizileri ile birbirinden ayrılır (3 nolu kaynaktan uyarlanmıştır).

Ribozomal RNA üzerinde 5.8S küçük alt ünitenin iki yanında bulunan "Internal transcribed spacer" (ITS) dizileri bilinen bir proteini kodlamadıkları ve bu nedenle mutasyona uğramadıkları için genomda korunmuş bölgeler olarak kalmışlardır. Bu bölgelerin hedeflendiği moleküler yaklaşımlar mantarların tür düzeyinde tanımlanmasına olanak sağlayan genetik şifreleri ortaya çıkarmaktadır. Bu gen bölgeleri "fungal barkod" olarak isimlen-

¹ Dr. Öğr. Gör., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD., elifaycaunal@gmail.com

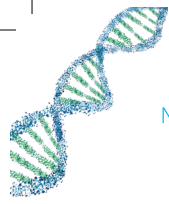
² Prof. Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD., kalkanci@gazi.edu.tr



yomu (tanımlama ve direnç) dizileyerek tanı koyduran yaklaşımlar bundan sonraki en akılcı uygulamalar olacaktır^{39,40}. Amplikon dizileme hedefin tanımlanmasında en çok kullanılan yöntem ise de, son yıllarda metagenomiks ve metatranskriptomiks gibi "omiks" yaklaşımı derin dizilemeden elde edilen "relative abundances" ve taksonomik kompozisyonu çok daha verimli bir şekilde analiz ederek sonuçlandırmaktadır. Metabolik genler dahil tüm topluluğun analizi ile mantarların bir arada bulunduğu prokaryotların da "omiks" yaklaşımda gösterilmesi mümkündür. Mikrobiyom analizlerinin bakteri, mantar ve virüsleri içerecek şekilde genişlemesi gereken günümüzde, "omiks" teknolojisi ile virülans genleri ve metabolitler dahil tüm yaşamsal izlerin bir arada değerlendirilmesi yoluyla mikrobiyomun hastalık ve sağlık durumu ile ilişkilendirilmesi tam ve doğru olarak mümkün olabilir⁴¹. Moleküler mikolojinin geleceği hızla gelişen teknolojiye eşlik edebilmesine bağlı olarak değişip gelsecektir.

Kaynaklar

1. Wiederhold NP. Emerging fungal infections: New species, new names, and antifungal resistance. *Clin Chem* 2021;68(1): 83-90.
2. Sanguinetti M, Posteraro B, Beigelman-Aubry C, Lamoth F, Dunet V, Slavin M, et al. Diagnosis and treatment of invasive fungal infections: looking ahead. *J Antimicrob Chemother* 2019;74(Suppl 2): 27-37.
3. Wickes BL, Wiederhold NP. Molecular diagnostics in medical mycology. *Nat Commun* 2018;9(1): 5135.
4. Gawdzik A, Nowogrodzka K, Hryniewicz-Gwózdź A, Maj J, Szepietowski J, Jankowska-Konsur A. Epidemiology of dermatomycoses in southwest Poland, years 2011-2016. *Postepy Dermatol Alergol* 2019;36(5): 604-608.
5. Kano R, Hirai A, Muramatsu M, Watari T, Hasegawa A. Direct detection of dermatophytes in skin samples based on sequences of the chitin synthase 1 (CHS1) gene. *J Vet Med Sci* 2003;65(2): 267-270.
6. Mirhendi H, Makimura K, de Hoog GS, Rezaei-Matehkolaei A, Najafzadeh MJ, Umeda Y et al. Translation elongation factor 1- α gene as a potential taxonomic and identification marker in dermatophytes. *Med Mycol* 2015;53(3): 215-24.
7. Garg J, Tilak R, Garg A, Prakash P, Gulati AK, Nath G. Rapid detection of dermatophytes from skin and hair. *BMC Res Notes* 2009;2: 60.
8. Salehi Z, Shams-Ghahfarokhi M, Razzaghi-Abyaneh M. Internal Transcribed Spacer rDNA and TEF-1 α gene sequencing of pathogenic dermatophyte species and differentiation of closely related species using PCR-RFLP of the Topoisomerase II. *Cell J* 2020;22(1): 85-91.
9. Bıyık F, Gräser Y, Susever S, Özarmağan G, Yeğenoğlu Y. Dermatofitlerin identifikasyonunda moleküler yöntemlerin yeri ve uygulanabilirliğinin belirlenmesi. *Turkderm* 2013;47(1): 26-32.
10. Tiryaki Y, Gültekin Korkmazgil B, Eyigör M, Aydın N. Dermatofitlerin laboratuvar tanısında polimeraz zincir reaksiyonunun kullanılması. *Mikrobiyol Bul* 2015;49(2): 201-209.
11. Faramarzi S, Motamedi M, Rezaei-Matehkolaei A, Abou Talebian S, Ansari S, Didehdar M, et al. A simple multiplex polymerase chain reaction assay for rapid identification of the common pathogenic dermatophytes: *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, and *Epidermophyton floccosum*. *Curr Med Mycol* 2021;7(2): 1-7.
12. Ndiaye M, Sacheli R, Diongue K, Adjety C, Darfouf R, Seck MC, et al. Evaluation of the Multiplex Real-Time PCR DermaGenius® Assay for the detection of dermatophytes in hair samples from Senegal. *J Fungi (Basel)* 2021;8(1): 11.
13. Gräser Y, Saunte DML. A hundred years of diagnosing superficial fungal infections: where do we come from, where are we now and where would we like to go? *Acta Derm Venereol* 2020;100(9): adv00111.
14. Honnavar P, Dogra S, Handa S, Chakrabarti A, Rudramurthy SM. Molecular identification and quantification of *Malassezia* species isolated from pityriasis versicolor. *Indian Dermatol Online J* 2020;11(2): 167-170.
15. Chebil W, Haouas N, Chaâbane-Banaoues R, Remadi L, Chargui N, M'rad S, et al. Epidemiology of pityriasis versicolor in Tunisia: Clinical features and characterization of *Malassezia* species. *J Mycol Med* 2022;32(2): 101246.
16. Bassetti M, Giacobbe DR, Vena A, Trucchi C, Ansaldi F, Antonelli M, et al. Incidence and outcome of invasive candidiasis in intensive care units (ICUs) in Europe: results of the EUCANDICU project. *Crit Care* 2019;23(1): 219.
17. Martin-Loeches I, Antonelli M, Cuenca-Estrella M, Dimopoulos G, Einav S, De Waele JJ, et al. ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2019;45(6): 789-805.
18. White PL, Price JS, Cordey A, Backx M. Molecular diagnosis of yeast infections. *Curr Fungal Infect Rep* 2021;15(3): 67-80.
19. Zacharioudakis IM, Zervou FN, Mylonakis E. Use of T2MR in invasive candidiasis with or without candidemia. *Future Microbiol* 2018;13: 1165-1173.
20. White PL, Price JS, Cordey A, Backx M. Molecular diagnosis of yeast infections. *Curr Fungal Infect Rep* 2021;15(3): 67-80.
21. Elges S, Arnold R, Liesenfeld O, Kofla G, Mikolajewska A, Schwartz S, et al. Prospective evaluation of the SeptiFAST multiplex real-time PCR assay for surveillance and diagnosis of infections in haematological patients after allogeneic stem cell transplantation compared to routine microbiological assays and an in-house real-time PCR method. *Mycoses* 2017;60(12): 781-788.
22. Sattler J, Noster J, Brunke A, Plum G, Wiegel P, Kurzai O, et al. Comparison of two commercially available qPCR kits for the detection of *Candida auris*. *J Fungi (Basel)* 2021;7(2): 154.
23. Chen J, Hu N, Xu H, Liu Q, Yu X, Zhang Y, et al. Molecular epidemiology, antifungal susceptibility, and virulence evaluation of *Candida* isolates causing invasive infection in a tertiary care teaching hospital. *Front Cell Infect Microbiol*



- 2021;11: 721439.
24. Kalkanci A, Dizbay M, Turan O, Fidan I, Yalçın B, Hirfanoğlu I, et al. Nosocomial transmission of *Candida pelliculosa* fungemia in a pediatric intensive care unit and review of the literature. *Turk J Pediatr* 2010;52(1): 42-49
 25. Dizbay M, Kalkanci A, Sezer BE, Aktas F, Aydoğan S, Fidan I, et al. Molecular investigation of a fungemia outbreak due to *Candida parapsilosis* in an intensive care unit. *Braz J Infect Dis* 2008;12(5): 395-399.
 26. Dizbay M, Fidan I, Kalkanci A, Sari N, Yalçın B, Kustimur S, et al. High incidence of *Candida parapsilosis* candidaemia in non-neutropenic critically ill patients: epidemiology and antifungal susceptibility. *Scand J Infect Dis* 2010;42(2): 114-120.
 27. Kidd SE, Chen SC, Meyer W, Halliday CL. A new age in molecular diagnostics for invasive fungal disease: Are we ready? *Front Microbiol* 2020;10: 2903.
 28. 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. *Clin Infect Dis* 2020;71(6): 1367-1376.
 29. Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, Denning DW, Groll AH, Lagrou K, et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin Microbiol Infect* 2018;24: e1-e38.
 30. Ye F, Zeng P, Li Z, Tang C, Liu W, Su D, Zhan Y, Li S. Detection of *Aspergillus* DNA in BALF by Real-time PCR and galactomannan antigen for the early diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Ann Clin Lab Sci* 2021;51(5): 698-704.
 31. White PL, Perry MD, Loeffler J, Melchers W, Klingspor L, Bretagne S, et al. Critical stages of extracting DNA from *Aspergillus fumigatus* in whole-blood specimens. *J Clin Microbiol* 2010;48(10): 3753-3755.
 32. Kim W-B, Park C, Cho S-Y, Chun H-S, Lee D-G. Development of multiplex real-time PCR for rapid identification and quantitative analysis of *Aspergillus* species. *PLoS ONE* 2020;15(3): e0229561.
 33. White PL, Perry MD, Barnes RA. Polymerase chain reaction diagnosis of fungal disease: Finally coming of age. *Current Fungal Infect Report* 2009;3: 207.
 34. Lackner N, Posch W, Lass-Flörl C. Microbiological and molecular diagnosis of mucormycosis: From old to new. *Microorganisms* 2021;9(7): 1518.
 35. Cornely OA, Cuenca-Estrella M, Meis JF, Ullmann AJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Fungal Infection Study Group (EFISG) and European Confederation of Medical Mycology (ECMM). Joint guidelines on diagnosis and management of rare and emerging fungal diseases. *Clin Microbiol Infect* 2014;20(Suppl 3): 1-4.
 36. Durand-Joly I, Chabé M, Soula F, Delhaes L, Camus D, De-i-Cas E. Molecular diagnosis of *Pneumocystis pneumonia*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005;45(3): 405-410.
 37. Kattner S, Herbstreit F, Schmidt K, Stevens P, Grumaz S, Dubler S, et al. Next-generation sequencing-based decision support for intensivists in difficult-to-diagnose disease states: A case report of invasive cerebral aspergillosis. *A A Pract* 2021;15(5): e01447.
 38. Colabella C, Corte L, Roscini L, Bassetti M, Tascini C, Mellor JC, et al. NGS barcode sequencing in taxonomy and diagnostics, an application in "Candida" pathogenic yeasts with a metagenomic perspective. *IMA Fungus* 2018;9(1): 91-105.
 39. Kalkancı A. Tibbi mikolojide moleküler yöntemler, pp: 583-598. In: Tümbay R. *Tibbi Mikoloji*. 2021, 1.Baskı. Tibbi Mikoloji Derneği Yayını No:2, Meta Basım, İzmir.
 40. Tsang CC, Teng JLL, Lau SKP, Woo PCY. Rapid genomic diagnosis of fungal infections in the age of next-generation sequencing. *J Fungi (Basel)* 2021;7(8): 636.
 41. Nilsson RH, Anslan S, Bahram M, Wurzbacher C, Baldrian P, Tedersoo L. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. *Nat Rev Microbiol* 2019;17(2): 95-109.