

Kandida Türlerinin Tanımlanmasında Corn Meal Agar, Candida ID2 Kromojenik Besiyeri ve API 32 IDC Performansının Değerlendirilmesi

The Evaluation of Performance of Corn Meal Agar, Chromogenic Medium and API in Identification of Candida Species

Bahadır Feyzioğlu, Metin Doğan, Mehmet Özdemir, Mahmut Baykan, Bülent Baysal

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Özet

Kandida türleri insanlarda en sık enfeksiyona yol açan mantar türleridir. Candida cinsi içindeki türler morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik benzerliklerinden dolayı sıklıkla karıştırılabilir. Bu çalışmanın amacı Candida türlerinin tanımlanmasında Corn Meal Agar, API ID 32C sistem ve kromojenik besiyerinin performansının değerlendirilmesidir. Çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 129 Candida suşunun tanımlaması yapıldı. 10 farklı Candida türü belirlendi ve C.albicans en yaygın tür olarak tespit edildi. C. dubliniensis oranları dikkat çekici şekilde yüksekti. API sistemi ile 10 farklı türün tanımlaması yapılırken, Corn Meal Agar ile C.colliculosa dışındaki diğer 9 türün tanımlaması yapıldı. Diğer taraftan, kromojenik agar besiyeri ile sadece C. albicans, C. tropicalis, C. dubliniensis ve C. krusei tanımlaması yapılabilirdi. Corn Meal Agar gibi konvansiyonel yöntemler ve API gibi yarı otomatize sistemler, rutin tanı laboratuvarlarında tanı yöntemi olarak kullanılabilir, kromojenik besiyerleri ise değerlendirme belirsizlikleri ve değişken performanslarıyla ancak ek tanı metodu olarak düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Candida, corn meal agar, kromojenik besiyeri, API

Abstract

The Candida species causing the common infection in human. This species can often be confused owing to similarities of their morphological, biochemical and physiological properties. The purpose of this study was to evaluate the performance of Corn Meal Agar, Chromogenic Medium and API ID 32C in identification of Candida Species. 129 Candida strains were isolated from various clinical specimens. Candida species were identified a total of 10 and, C. albicans was determined as the most common species. C.dubliniensis rates were strikingly higher. While identification of all species was done with the API system, 9 species other than C.colliculosa were determined by Corn Meal Agar. However, only C. albicans, C.tropicalis, C.dubliniensis and C.krusei were identified by chromogenic agar medium. Conventional methods, such as Corn Meal Agar and semi-automated systems, such as API, can be used as a identification method in basement laboratory. But, the chromogenic media may be only an additional diagnostic method, because it has uncertainties and variable performance

Key words: Candida, corn meal agar, chromogenic media, API

GİRİŞ

Kandida türleri insanlarda en sık enfeksiyona yol açan mantar etkenleridir. Oluşturdukları enfeksiyonlar genellikle endojen kaynaklı olup, çoğunluğu nozokomiyaldir. Genellikle fırsatçı enfeksiyon oluşturan Candida cinsi içindeki türler, onikomikoz, oral kandidiyaz, deri kandidiyazı, vajinit gibi lokal enfeksiyonların yanı sıra, fungemi geliştirerek endokardit, menenjit, beyin apsesi, piyelonefrit ve sistit gibi daha ciddi sağlık problemlerine yol açabilmektedirler. C.albicans en önemli tür olarak karşımıza çıkarken son yıllarda non-albicans türlerin oluşturduğu enfeksiyonlarda ciddi artış yaşanmaktadır. Bu epidemiyolojik değişiklik için gerekçe olarak özellikle azol grubu antifungallerin yaygın kullanımı gösterilmektedir (1,2). Candida türlerinin klinik örneklerden tanımlanması, numuneden hazırlanan direkt preparat ile maya hücresinin gösterilmesi, etkenin kültür ortamında üretilmesi veya moleküler yöntemlerin kullanılması gibi bir dizi metodun ihtiyaca ve duruma göre kompoze edilmesi esasına dayanır. Biyokimyasal testler, blastospor veya yalancı hif yapısının incelenmesi ve germ tüp gösterilmesi gibi konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra, yarı/tam otomatize identifikasyon

sistemleri ve moleküler bazlı yöntemler hızla rutin tanı algoritmasının bir parçası olmuştur (3-5). Son yıllarda Özellikle hızlı tanı amacının güdüldüğü durumlar için kromojenik besiyerleri geliştirilmiştir. Özellikle maliyet unsurunun ağır bastığı ve laboratuvar olanaklarının sınırlı olduğu birimlerde rutin tanı algoritmasında konvansiyonel yöntemler ve kromojenik agar gibi pratik yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Sunulan bu çalışmada, Corn Meal Agar, API ID 32C sistem ve ticari olarak hazırlanmış hazır kromojenik agar besiyeri seçeneklerinin çeşitli klinik izolatlardan elde edilen Candida türlerinin identifikasyonundaki etkinliklerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ağustos 2012– Mayıs 2013 hastanesi Merkez Mikrobiyoloji laboratuvarına enfeksiyon varlığı düşüncesiyle kültür için gönderilen, 67'si kadın 62'si erkek hastaya ait toplam 129 klinik örnek çalışmaya dahil edildi. Gerek bakteriyolojik kültür için uygulamaya alınan ve sonrasında maya mantarı ürettiği gözlemlenen örnekler, gerekse direkt mikolojik kültür uygulamasına tabi tutulan örneklerden elde edilen

koloniler değerlendirmeye alındı. İdrar kültürleri için mililitrede 104 CFU (Colony Forming Unit)/ml üreme, diğer kültürler için ise saf veya baskın üreme gözlenen koloniler dikkate alındı. Araştırmamızda kontrol suşu olarak *C.albicans* ATCC 90028 kullanıldı. Gram boyama ile maya morfolojisi gösteren kolonilerden, morfolojik tayin için Corn Meal Agara ve kromojenik üreme özellikleri için Candida ID2 (BioMrieux, Fransa) agara daha önce tanımlandığı gibi ekim yapıldı (6). Corn Meal Agar ekimleri $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de 7 güne kadar inkübe edildi ve her gün morfogenez kontrolü yapıldı. Spesifik morfolojik görüntüler kaydedildi. Kromojen agar $35 \pm 2^\circ\text{C}$ ve aerop Őartlarda inkübe edildi ve belirgin koloni oluşununun gerçekleşmesiyle birlikte oluşan koloni renkleri kaydedildi. API ID 32C (BioMrieux, Fransa) ile identifikasyon için ise Saboraud dekstrozu agara pasaj yapıldı ve aerop Őartlarda $35 \pm 2^\circ\text{C}$ ve inkübe edildi, sonrasında oluşan kolonilerden üreticinin talimatları doğrultusunda identifikasyon stripleri çalışıldı ve bu stripler $35 \pm 2^\circ\text{C}$ ve aerop Őartlarda maksimum 5 gün inkübe edildi. Pozitif kontrolünde yeterli üreme gözlenen stripler mini API® cihazında tanımlama için okutuldu.

BULGULAR

Maya tanımlaması, 57 idrar, 44 kan, 12 dışkı, 5 boğaz (tonsillofarengeal sürüntü) ve 11 diğer vücut örneklerinden elde edilen toplam 129 hastaya ait klinik örnekten üç farklı yöntemle yapıldı (Tablo 1). Belirlenen 10 farklı Kandida türü içinde, *C.albicans* en yaygın tür olarak tespit edildi. Corn Meal Agar ile 102, kromojenik agar ile 70 ve API ile 112 suşun tanımlaması yapıldı (Tablo 2).

TARTIşMA

Kandida türlerinin yol açtığı enfeksiyonlar yaygındır ve fırsatçı niteliktedir. Bugün hastane enfeksiyonlarının en önemli etkenlerinden olan Kandida cinsi içindeki türler endojen kaynaklı olmaları nedeniyle de her bireyde kolaylıkla enfeksiyon oluşturabilme potansiyeline sahiptirler. Ağırlıklı olarak *C.albicans* enfeksiyonları görülmesine rağmen non-*albicans* türlerin giderek artan sıklıkla enfeksiyon oluşturması ve Kandida cinsi içindeki türlerin tedaviye daha dirençli tabiatla olmaları önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (7). Bu nedenle bu organizmaların rutin tanımlamalarının mümkün olduğunca hızlı ve güvenilir bir Şekilde gerçekleştirilmesi elzemdir. Farklı lek ve nitelikte sağlık hizmeti sunan birimlerde laboratuvar hizmetleri farklı stratejilere göre hareket etmek durumundadır. Küçük ve orta ölçekli laboratuvar birimleri, tetkik sonucu denklemde maliyet etkinliğini de göz önüne almak durumundadır. Bu bağlamda Kandida türlerinin identifikasyonunda özellikle bu ölçekteki

laboratuvarlarda basit, pratik ve bir o kadar da güvenilir testlere ihtiyaç vardır. Konvansiyonel yöntemler öteden beri bilinen ve kullanılan metotlardır ancak zaman dezavantajına sahiptirler. Son yıllarda geliştirilen kromojenik besiyerleri pratik ve güvenilir sonuç hedefiyle yola çıkmıştır (3,8). Diğer taraftan API gibi tanımlama sistemleri uzun zamandır yarı otomatize mantıkla rutin tanı algoritmasındaki yerini korumaktadır. Bir taraftan moleküler bazlı yöntemlerin gündelik hayatımıza daha fazla giriyor olmasıyla tanı algoritmasında yeni disiplinler oluşmaya başlarken, öte yandan düşük ölçekli laboratuvarlarda ucuz ve pratik yöntemlerin hala kullanılmak zorunda oluşu bu yöntemlerin performanslarının objektif olarak ortaya konulmasını gerektirmektedir. Bu araştırma, Corn Meal Agar, API ID 32C ve ticari olarak hazırlanmış hazır kromojenik agar besiyeri seçeneklerinin çeşitli klinik izolatlardan elde edilen Kandida türlerinin identifikasyonundaki performanslarının irdelenmesini amaçlamıştır. Çalışmamızda 57 idrar, 44 kan, 12 dışkı, 5 boğaz ve 11 diğer klinik örneklerden 129 maya kolonisi tanımlama için değerlendirmeye alındı. Kandida türleri, kontaminasyon, kolonizasyon veya enfeksiyon nedeniyle en sık idrar kültürlerinden izole edilmektedir (9). Kan kültürlerinden Kandida izolasyonu ise ikinci sıklıkla karşılaşılan bir durumdur (10). *C.albicans* yıllar içerisinde non-*albicans* türlerin oranındaki artışa rağmen hala majör türdür ve bizim çalışmamızda en sık belirlenen tür oldu.

Çalışmamızda yer verilen 129 izolatın 125 (% 96,10)'nin tanımlaması en az bir yöntemle belirlendi. *C.albicans* en sık belirlenen tür olurken (% 47,29), onu *C.tropicalis* (% 17,05) ve *C.dublinskiensis* (% 7,75) izledi. *C.dublinskiensis*'in bariz Şekilde literatür ortalamasının üstünde bir oranda belirlenmesi dikkat çekici bir durum olarak değerlendirildi (11). *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.dublinskiensis*, *C.krusei*, *C.kefyr*, *C.guilliermondii*, *C.parapsilosis*, *C.glabrata*, *C.lusitaniae* ve *C.colliculosa* olmak üzere 10 farklı türün tanımlaması API sistemi ile yapılırken, Corn Meal Agar ile *C.colliculosa* dışındaki diğer 9 türün tanımlaması yapıldı. Oysa kromojenik agar besiyeri ile sadece *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.dublinskiensis* ve *C.krusei* tanımlaması yapılabilirdi. Kromojenik besiyerleri ile yapılan çeşitli çalışmalarda çok sayıda türün tanımlamasının yapıldığı görülürken, tür tespiti açısından farklılıklar göze çarpmaktadır (6,12). Bizim tespitlerimize göre ise kromojenik değerlendirme renk değişikliği açısından bazı risklere sahiptir (yetersiz renk oluşumu, farklı türlerde benzer görünüm vb) ve değerlendirmelerde subjektif yanılığlara yol açmaktadır. Araştırmamızda tür tanımlaması yapılırken bu tarz zorluklar nedeniyle yeterince ayırım yapılamamıştır. Kandida türleri en sık idrar kültürlerinden izole edildi. *C.albicans* en sık belirlenen etken olurken,

Tablo 1. rnelere göre türlerin dağılımı

	İdrar	Kan	Dışkı	Boğaz	Diğer	Toplam
<i>C. albicans</i>	31	21	3	1	5	61
<i>C. tropicalis</i>	14	2	3	2	1	22
<i>C. dublinskiensis</i>	4	5	-	-	1	10
<i>C. krusei</i>	1	5	-	1	-	7
<i>C. kefyr</i>	-	1	4	1	1	7
<i>C. guilliermondii</i>	-	4	-	-	1	5
<i>C.parapsilosis</i>	3	1	-	-	-	4
<i>C. glabrata</i>	3	-	1	-	-	4
<i>C. lusitaniae</i>	-	3	-	-	-	3
<i>C. colliculosa</i>	-	1	-	-	1	2
Tanımlanamayan	1	1	1	-	1	4
Toplam	57	44	12	5	11	129

Tablo 2. Tanımlama yöntemleri ve Candida türleri

Tanımlaması yapılan tür	Corn Meal Agar	Kromojenik Agar	API ID 32 C	Üç yöntemden en az biri tarafından belirlenen n=129	% (100)
<i>C. albicans</i>	59	45	56	61	47.29
<i>C. tropicalis</i>	17	12	20	22	17.05
<i>C. dubliniensis</i>	4	7	7	10	7.75
<i>C. krusei</i>	7	6	7	7	5.43
<i>C. kefir</i>	3	-	6	7	5.43
<i>C. guilliermondii</i>	4	-	3	5	3.88
<i>C. parapsilosis</i>	4	-	4	4	3.10
<i>C. glabrata</i>	2	-	4	4	3.10
<i>C. lusitanae</i>	2	-	3	3	2.33
<i>C. colliculosa</i>	-	-	2	2	1.55
Toplam	102	70	112	125	96,90

C. dubliniensis oranları dikkat çekici şekilde yüksekti. Corn Meal Agar ve API tanımlama sistemi ile paralel olarak tanımlanabilen çoğu türün kromojenik agar ile belirsizlik gösterdiği tespit edildi. Rutin tanı algoritmasında Corn Meal Agar gibi kovansiyonel yöntemlerin hala çoğu laboratuvarında bir alternatif olarak kullanılabileceği kanaatine varıldı. API gibi yarı otomatize sistemler özellikle iş yükünün fazla olduğu birimlerde tam otomatize sistemler veya moleküle bazlı sistemlere göre maliyet avantajına sahip olsa da artık yerini yeni nesil tam otomatize tiplendirme sistemlerine bırakmaktadır. Kromojenik besiyerleri ise değerlendirme belirsizlikleri ve değişken performanslarıyla yardımcı tanı metodu olarak kurgulanabilirler. Sonuçlarımızın özellikle düşük ve orta ölçekli tanı laboratuvarları için Candida tanımlamasında asgari olanakların değerlendirilmesi konusunda ışık tutucu bilgiler içerdiği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Giri S, Kindo AJ. A review of Candida species causing blood stream infection. Indian J Med Microbiol 2012;30(3):270-8.
- Zaoutis TE, Argon J, Chu J, et al. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. Clin Infect Dis 2005;1;41(9):1232-9.
- Estrada-Barraza D, Dávalos Martínez A, Flores-Padilla L, et al. [Comparison between conventional methods, ChromAgar Candida® and PCR method for the identification of Candida species in clinical isolates]. Rev Iberoam Micol 2011;28(1):36-42.
- İnci M, Atalay MA, Koç AN, ve ark. Candida albicans dışı mayaların tanımlanmasında VITEK 2 YST kart ile API 20C AUX sisteminin karşılaştırılması. Dicle Med J 2012; 39(1):80-2.
- Nadeem SG, Hakim ST, Kazmi SU. Use of CHROMagar Candida for the presumptive identification of Candida species directly from clinical specimens in resource-limited settings. Libyan J Med 2010;9:5.
- Chanteperdrix V, Lebeau B, Pelloux H, et al. Evaluation Of The Performance Of Candida Id2, A New Chromogenic Agar Medium For Detection And Differentiation Of Clinically Important Yeasts. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Prague / Czech Republic, May 1-4, 2004.
- Almeida AA, Mesquita CS, Svidzinski TI, et al. Antifungal susceptibility and distribution of Candida spp. isolates from the University Hospital in the municipality of Dourados, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2013;46(3):335-9.
- Quindós G, Alonso-Vargas R, Helou S, et al. [Evaluation of a new chromogenic medium (Candida ID) for the isolation and presumptive identification of Candida albicans and other medically important yeasts]. Rev Iberoam Micol. 2001 Mar;18(1):23-8.
- Yüksekaya S, Fındık D, Arslan U. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of Candida species isolated from urine samples of patients in intensive care unit. Mikrobiyol Bul 2011;45(1):137-49.
- Gültekin A, Koç AN, Atalay MA. The Evaluation of Chromogenic Medium in Identification of Candida Species. J Health Sci 2013; 22(1):24-30
- Ekşi F, Bayram A, Karlıgil T, ve ark. Distribution of Candida species isolated from various clinical specimens. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007;37 (1): 26-30.
- Jain N, Mathur P, Misra MC, et al. Rapid identification of yeast isolates from clinical specimens in critically ill trauma ICU patients. J Lab Physicians. 2012;4(1):30-4.