

Kandidemi Olgularında Etken Mayaların Hızlı Tanısında CHROMagar Candida'nın Yeri (*)

Nurver ÜLGER TOPRAK(**), Seda ERDOĞAN(***), Cennet ÇELİK(**),
Candan JOHANSSON(****)

(*) 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi'nde (19-21 Haziran 2001, Ankara) sunulmuştur

(**) Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

(***) Biyofarma İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., Samandra, İstanbul

(****) Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Bu çalışmada, kan kültürlerinden soyutlanan mayaları tanımlamak ve karışık maya infeksiyonunu tespit etmek amacıyla ayırt edici bir besiyeri CHROMagar Candida kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar bildirilmiş ve tartışılmıştır. Mayıs 1999- Kasım 2000 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında 60 hastadan izole edilen maya suşları çalışmaya alınmıştır. Örneklerin tümü eşzamanlı olarak CHROMagar Candida ve Sabouraud dekstroz ağara (SAD)' ekilmiş, 37 °C de 48 saat inkübe edilmiştir. CHROMagar Candida'da oluşan koloniler renklerine göre tanımlanmışlar, her iki besiyerinden izole edilen mayalar standart mikolojik yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanmıştır. Kökenlerin çoğunluğunu C.albicans (%40) oluştururken bunu C.parapsilosis (%35) izlemiştir. Üç kan örneğinde karışık maya türleri üretilmiş, ikisinde C.albicans ve C.parapsilosis, diğerinde ise C.parapsilosis ve Trichosporon asahii izole edilmiştir. Candida albicans, C.parapsilosis, C.tropicalis, C.krusei türlerini tanımlamada CHROMagar Candida'nın duyarlılığı %100 bulunmuştur. Sonuç olarak kandidemi olgularında, CHROMagar Candida'nın karışık mayaları ayırt etmede son derece yararlı bir besiyeri olduğu ve Candida türlerini klasik yöntemlere göre daha hızlı tanımladığı belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: CHROMagar Candida, kandidemi, Candida

SUMMARY

Evaluation of CHROMagar Candida for the Rapid Diagnosis of Causative Yeasts in Candidemia Cases

In this study the results of the blood cultures obtained on CHROMagar Candida used us for the determination of yeast isolates and for the differentiation of mix yeast infections were reported and discussed. Fungal strains isolated in 60 patients' blood cultures in Clinical Microbiology Laboratory of Marmara University Hospital within a period of May 1999 and November 2000 were included in the study. All specimens were inoculated in parallel onto CHROMagar Candida and Sabouraud's dextrose agar (SDA) and incubated at 37 °C for 48 hours. The colonies on the CHROMagar Candida were identified on the basis of morphology and pigmentation and yeast isolates from both CHROMagar Candida and SDA were identified to the species level by standard mycological methods. Candida albicans the most common species (%40), followed by C.parapsilosis. Three blood specimens were found to contain yeast a mixture; two of them contained C.albicans and C.parapsilosis, the other formed with C.parapsilosis and Trichosporon asahii. The sensitivity of CHROMagar for C.albicans, C.parapsilosis, C.tropicalis and C.krusei was found to be 100%. As a result, the CHROMagar Candida was an extremely successful differential detector of mixed yeast population at candidemia cases and it also allowed diagnosis of Candida species more rapidly than classical methods.

Key words: CHROMagar Candida, Candidemia, Candida

GİRİŞ

Yaşamı tehdit eden kandidemilerin etkin şekilde tedavi edilebilmeleri için, etken mayanın kısa sürede tanımlanması gerekmektedir. Candida infeksiyonlarının çoğunda Candida albicans izole edilmekle beraber, tedavi veya profilaksida daha az yan etkilere sahip azollerin yaygın şekilde kullanılmasıyla son

yıllarda diğer Candida türlerine bağlı infeksiyonlarda belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu türlerin C.albicans'a göre flukonazole karşı 4-32 misli daha az duyarlı, Candida krusei'nin doğal dirençli, Candida glabrata'nın ise yüksek MIK değerine sahip olmaları konunun önemini daha da arttırmaktadır. Candida türünün belirlenmesinin tedavi şeklini de belirlediği göz önüne alınırsa, etkenin kısa sürede ve tür düze-

yinde tanımlanması tedavinin başarı şansını yükseltmektedir(1,2).

Pek çok patojen mantarı üretmek amacıyla Sabouraud dekstroza agar (SDA) kullanılmaktadır. SDA'nın klinik örneklerden Candida ve diğer mayaların izolasyonunda da iyi sonuçlar verdiği bilinmektedir (3) Ancak ayırt edici özelliğe sahip olmayan bu besiyerinde oluşan Candida türlerini koloni morfolojilerine göre farklılandırmak pek mümkün olmamaktadır. Son yıllarda seçici ve ayırt edici özelliğe sahip, farklı Candida türlerine özel bir renk veren, kromojen karışımdan oluşan CHROMagar Candida kullanılmaya başlanmıştır(4)

Çalışmamızda, kandidemi olgularında etken maya türünün kısa sürede tanımlanmasında CHROMagar Candida'nın (Paris-Fransa) yeri araştırılmıştır. Bu amaçla üreme saptanan ve mikroskopik incelemede maya görülen kan örnekleri SDA'nın yanı sıra CHROMagar Candida'ya da eşzamanlı ekilmiştir. CHROMagar Candida' da oluşan koloniler renklerine ve morfolojilerine göre tanımlanmaya çalışılmış, ardından hem CHROMagar Candida hem de SDA' da oluşan koloniler klasik identifikasyon yöntemleriyle isimlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mayıs 1999-Kasım 2000 tarihleri arasında, M.Ü Hastanesinin çeşitli kliniklerinde izlenen hastaların, kültür amacıyla merkez laboratuvarına gönderilen kanları BACTEC (Becton Dickinson) sisteminde tutulmuştur. Üreme sinyali alınan ve Gram boyamasında maya görülen örnekler çalışma kapsamına alınmıştır. Altmış hastadan farklı günlerde gelen 152 kültürden maya üretilmiştir. Aynı gün gönderilen örnekler tek örnek kabul edilmiştir. Örnekler SDA ve CHROMagar Candida'ya aynı zamanda ekilerek 37°C de 48 saat inkübe edilmiştir. İzole edilen mayalar çimlenme borusu ve klamidiospor oluşturabilme, 42°C'de üreyebilme özelliklerine ve API 20 C AUX' deki reaksiyonlarına göre tanımlanmıştır.

CHROMagar Candida'da oluşan koloniler ise renk ve koloni morfolojilerine göre farklı üç kişi tarafından tanımlanmaya çalışılmış ve klasik yöntem sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

Kontrol amacıyla referans Candida kökenleri olarak

ATCC 90028 C.albicans, ATCC 90018 C.parapsilosis, ATCC 1021 C.tropicalis, ATCC 1012 C.pseudotropicalis, ATCC 1018 C.stelloidea, Kween 1071 C.krusei, Kween 1031 C.utilis kullanılmıştır.

BULGULAR

Altmış hastanın 57'sinde tek tip, üçünde ise karışık maya türleri izole edilmiştir. Karışık kültürlü hasta kanlarının ikisinde C.parapsilosis ile C.albicans, birinde ise C.parapsilosis ile Trichosporon asahii beraber soyutlanmıştır.

C.albicans %40 ile birinci sırada yer alırken bunu %35'lik oranla C.parapsilosis, %13 ile C.tropicalis, %3 ile C.krusei izlemiş ve birer hastada ise C.pelluculosa, C.guilliermondii, C.famata, C.lusitaniae ve Trichosporon asahii üretilmiştir.

CHROMagar Candida'ya yapılan ekimler 24, 48 ve 72 saat sonunda değerlendirilmeye alınmıştır. Bir günlük inkübasyonun ardından kolonilerin belirginleştiği ve renk farklılığının olduğu saptanmıştır. Ancak 48 saatin sonunda kolonilerin daha belirgin şekil ve renk aldığı gözlenmiştir. C.albicans kökenlerinden hepsinin yeşil düzgün, C.krusei'nin ise pembe tırtıklı koloniler oluşturduğu ve klasik yöntemlerle tanımlanan sonuçlar ile %100 uyum gösterdiği saptanmıştır. Pembe renkli düzgün kolonilerden C.parapsilosis olarak değerlendirilen kökenlerden birisi API 20 C AUX ile C.guilliermondii sonucunu vermiştir. İstatistiksel hesaplara göre CHROMagar Candida'nın C.parapsilosis'i ayırt etmede duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %98 bulunmuştur. On hastadan elde edilen mor halkayla çevrili koyu mavi merkezli kolonilere C.tropicalis adı verilmiş, ancak klasik yöntemlerle bunlardan birisi C.lusitaniae bir diğeri de Trichosporon asahii şeklinde tanımlanmıştır. Diğer "non-albicans" maya türlerinde ise belirgin morfoloji ve renk farklılığı olmadığından ayırımları yapılamamış dolayısıyla tanımlamaya gidilememiştir.

Karışık maya üremesi gerçekleşen örneklerde, SDA kültürlerinde koloniler arasında bir farklılık gözlenmemiş, bunun yanı sıra CHROMagar Candida'da oluşan farklı koloniler rahatlıkla seçilebilmiştir. Her bir farklı koloniden pasajlar yapıp klasik yöntemlerle tanıya gidilmiş, elde edilen sonuçlarla %100 uyumluluk bulunmuştur.

TARTIŞMA

Maya infeksiyonlarında genellikle birtakım virülans özelliklere sahip *C.albicans* türleri izole edilmektedir. Son yıllarda flukonazol ve diğer azol grubu ilaçların yaygın kullanılması nedeniyle daha az virülans, ancak bu ilaçlara dirençli *C.krusei*, *C.glabrata* ve *C.lusitaniae* gibi "non-albicans" türlere bağlı infeksiyonlarda önemli bir artış gözlenmektedir. Yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olan invaziv *Candida* infeksiyonlarının etkin şekilde tedavi edilebilmesi için etken *Candida* türünün kısa sürede tanımlanması ve uygun antifungalin seçilmesi gerekmektedir. Konvan-siyonel yöntemlerle *Candida* türlerinin tanımlanması yaklaşık bir haftayı bulmaktadır. Tanımlama süresini kısaltabilecek seçici ve ayırt edici özelliğe sahip CHROMagar *Candida* bazı laboratuvarlarda kullanılmaktadır.(5)

Yapılan birçok retrospektif çalışma sonucuna göre *C.albicans* infeksiyonlarının yaklaşık %10'unda başka bir maya türünün de infeksiyona eşlik ettiği görülmüştür. Prospektif çalışmalarda bu oranın daha da artabileceği öne sürülmektedir. Karışık infeksiyonlarda uygulanan antifungal tedavinin etken maya türlerine etkili olması hayati önem taşımaktadır. Bu nedenle karışık kültürlerin kısa sürede belirlenmesi ve türlerin tanımlanması gerekmektedir. CHROMagar *Candida* ile yararlı sonuçlar alındığı bildirilmiştir. Bir günlük inkübasyonun ardından veya 48 saat sonunda karışık infeksiyon varlığını veya flukonazole daha az duyarlı *Candida* türlerini belirlemek amacıyla tarama testi şeklinde kullanımı kabul görmüştür (6-10).

Birçok araştırmada *C.albicans*, *C.tropicalis* ve *C.krusei*'nin tanımlanmasında CHROMagar *Candida*'nın duyarlılığı %94-100, özgüllüğü ise %99-100 bulunmuştur.(4,6,9). Pfaller ve arkadaşları (7) *C.glabrata*'yı tanımlamada güvenilir sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ancak pek çok araştırmacı, daha az izole edilen diğer türlerin ayırımında güçlükler yaşandığı konusunda ortak düşünce dile getirmişlerdir. (4,6-9,11). Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla *C.albicans* ve *C.krusei* için %100, *C.tropicalis* için %100-%96, *C.parapsilosis* için %100-98'dir. Diğer türlerin kolonilerinde morfoloji ve renk açısından belirgin bir özellik görülemediği ve tanımlamaya gi-

dilememiştir.

Konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırıldığında, CHROMagar *Candida* ile yapılan tanımlamanın daha ucuz, kolay uygulanabilir ve kısa zaman aldığı görüşüne varılmıştır (12).

Verilerimiz göz önüne alındığında, kandidemi olgularında etken maya türlerini belirlemede CHROMagar *Candida*'nın, *C.albicans*, *C.krusei*, *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis* türlerini yaklaşık klasik yöntemler kadar doğru tanımlayabildiği saptanmıştır. Sonuç olarak, karışık infeksiyonları belirlemede ve etken türleri kısa sürede tanımlamada dolayısıyla tedaviyi yönlendirmede CHROMagar *Candida*'nın kullanımı yararlı bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Pfaller MA : Nosocomial candidiasis: Emerging species, reservoirs, and modes of transmission. Clin Infect Dis22(Suppl 2): 89 (1996).
2. Denning DW, Baily GG, Hood SV: Azole resistance in candida. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 16:261 (1997).
3. Walsh TJ, Pizzo PA: Laboratory diagnosis of candidiasis. "G.P. Bodey(ed): Candidiasis: Pathogenesis, Diagnosis", p109Raven Press, New York (1993).
4. Odds F, Bernaerts R: CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important candida species. J Clin Microbiol 42: 1923 (1994).
5. Wright WL, Wenzel RP: Nosocomial candida, epidemiology, transmission, and prevention. Infect Dis Clin North America 11:411 (1997).
6. Louwagie B, Surmont I, Verhagen J, Odds F: Differential and enrichment media for selective culture and recognition of yeast species from clinical material. Eur J Clin Microbiol Infect Dis14:406 (1995).
7. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S: Application of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* and *Candida (torulopsis) glabrata*. J Clin Microbiol 34:58 (1996).
8. Willinger B, Manafi M: Evaluation of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida* species. Mycoses 42:61(1999).
9. Powell HL, Sand CA, Rennie RP: Evaluation of CHROMagar *Candida* for presumptive identification of

clinically important candida species. *Diagn Microbiol Infect Dis* 32:201 (1998).

10. Beighton D, Ludford R, Clark DT, Brailsford SR, Pankhurst CL, Tinsley GF, Fiske J, Lewis D, Daly B, Khalifa N, Marren V, Lynch E: Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeasts from dental samples. *J Clin Microbiol* 33:3025 (1995).

11. San-Millan R, Ribacoba L, Ponton J, Quindos G: Evaluation of a commercial medium for identification of candida species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 15:153 (1996).

12. Koehler AP, Chu KC, Houang ETS, Cheng AFB: Simple , reliable and cost effective yeast identification schema for the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 37: 422 (1999).