

# Candida albicans DNA'sını Saptamaya Yönelik Gerçek Zamanlı PCR Testi ve Testin Maliyet Analizi †

Gülşah BİTER, Sevgi ÖZYEGEN ASLAN, Burçe YALÇIN, Merve AYDIN,  
Israa Ibrahim Khalil JABBAN, Ayşe SEYER, Ali FOUAD, Feyza DEMİR, Ayşe KALKANCI,  
Semra KUŞTİMUR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

## ÖZET

**Amaç:** Moleküler yöntemlerin rutin tanı amaçlı kullanılması son yıllarda tanık olduğumuz bir gelişmedir. Bu testlerin bazıları Sosyal Güvenlik Kurumu tarafından Sağlık Uygulama Tebliğinde listelenmiştir. Bu çalışmada da bu testlerden "Candida PCR" başlığı için geliştirdiğimiz bir yöntemin teknik ayrıntıları ve bu yöntemin maliyet analizi sunulmaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Geliştirdiğimiz yöntem gerçek zamanlı bir polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi olup, tam kan ve diğer klinik örneklerde Candida albicans DNA'sını gösterebilmektedir. Çalışmada 161 klinik, 40 pozitif kontrol örnekte C. albicans DNA'sı aranmıştır. Testin uygulanması sırasında gerekli olan bütün sarf malzemeleri için üç ayrı firmadan fiyat teklifleri alınmış ve alınan fiyat teklifleri karşılaştırılarak maliyet analizi yapılmıştır.

**Bulgular:** Sağlık Uygulama Tebliği fiyatları esas alındığında; klinik örneklerde C. albicans DNA'sı aranmasının test başına 14.80 TL ile 59.52 TL arasında değişen miktarlarda net kâr oluşturduğu bulunmuştur.

**Sonuç:** "Candida PCR" testinin kandidemi şüphesi ile laboratuvara gönderilen klinik örneklerde tanı koydurucu ve maliyeti hesaplandığında mikrobiyoloji laboratuvarı için gelir getirici bir test olduğu anlaşılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Candida albicans PCR, gerçek zamanlı PCR, maliyet

## SUMMARY

**Cost Analysis of Real-Time PCR Assay for the Detection of Candida albicans DNA**

**Objective:** Molecular methods are widely used for routine microbiological diagnosis in recent years. Some of these molecular tests are listed in the Medical Enforcement Declaration proposed by Social Security Institution. In the present study technical details and the cost analysis of "Candida PCR" assay which we have developed was presented.

**Materials and Methods:** The method we have developed was based on real time polymerase chain reaction to demonstrate DNA of Candida albicans in blood and other clinical samples. Clinical samples (n=161) and 40 spiked positive controls were used in the study. Price quotations for the chemicals necessary for real-time PCR assay were obtained from three different commercial companies and a comparative cost analysis was done accordingly.

**Results:** On the basis of the costs mentioned in Medical Enforcement Declaration, net profit calculated ranged between 14.80 TL and 59.52 TL per test.

**Conclusion:** It was concluded that "Candida PCR", a valuable test for the diagnosis of candidemia, was of low cost and might increase the income of routine microbiology laboratory.

**Key words:** Candida albicans PCR, real time PCR, cost

## GİRİŞ

Candida türleri yüzeysel enfeksiyonlardan, yaşamı tehdit eden invazif enfeksiyonlara kadar değişen klinik tablolara neden olan maya mantarlarıdır. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak gram pozitif ve gram nega-

tif bakterilerin ardından üçüncü sırada izole edilmekte ve özellikle kateteri olan hastalarda kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni olarak karşımıza çıkmaktadırlar (1). Candida türleri, Aspergillus türleri ile karşılaştırıldığında kan kültüründe üretilmeleri daha kolay olan mantarlardır. Buna rağmen, kandidemili olgularda

**Alındığı tarih:** 18.10.2010

**Kabul tarihi:** 20.11.2010

**Yazışma adresi:** Ayşe Kalkancı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara

**e-posta:** aysekalkanci@email.com, kalkanci@gazi.edu.tr

† Bu çalışmanın bir bölümü 6. Ulusal Tanısal ve Moleküler Mikrobiyoloji Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur. (15-19 Haziran 2010, Ankara)

kan kültürü pozitifliği %50 sınırını aşamamaktadır. Kandidemi tanısında kültürün yetersiz kalması nedeniyle serolojik ve moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Serolojik olarak *Candida* antijenleri, moleküler olarak da *Candida* DNA'sı klinik örneklerde gösterilebilmektedir. Serolojik yöntemler ticari sistemler olarak sunulmuştur, ancak moleküler yöntemlerin standardizasyonunda sorunlar bulunmaktadır (2,3).

Kandidemi tanısında kullanılan serolojik yöntemlerden mannan antijeni aranmasına yönelik "candida-mannan" testi Sağlık Uygulama Tebliğinde (SUT) "907.100" kodu ile listelenmiş ve fiyatlandırılmıştır. Mannan antijeni aranmasında kullanılabilir "Platelia *Candida* ticari ELISA kiti" (Bio-Rad, Marnes-La-Coquette, Fransa) bulunmaktadır. Klinik örneklerde *Candida* DNA'sı aranması amacıyla uygulanan "*Candida* PCR" testi yine SUT kapsamında "908.120" kodu ile listelenmiş ve fiyatlandırılmıştır. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında sunulmakta olan hizmetlerin kalitesi kadar maliyetleri de önem taşımaktadır. Malzeme alımlarında testin yapılmasının bilimsel gereği ile maliyeti birlikte değerlendirilmektedir. Bu nedenle bu çalışma iki temel amaç ile yürütülmüştür. İlki; *Candida albicans* DNA'sının klinik örneklerde gösterilmesi için bir gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi geliştirilmesi, ikincisi ise geliştirilen bu yöntemin maliyet analizinin yapılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

**Örnekler:** *C. albicans* DNA'sının gösterilmesi için kan ve bronkoalveoler lavaj (BAL) gibi klinik örnekler (100 kan, 61 BAL), koloni süspansiyonları, kandidoz oluşturulan deney hayvanlarının kan ve doku örnekleri ve *C. albicans* ile kontamine edilen hasta kanı örnekleri kullanılmıştır. Koloni süspansiyonları (10 adet), kandidozlu deney hayvanlarının kanı (10 adet) ve doku örnekleri (10 adet) ve *C. albicans* ile kontamine edilen hasta kanı örnekleri (10 adet) olmak üzere toplam olarak 40 adet pozitif kontrol kullanılmıştır. Klinik örnekler, kandidemi şüphesi ile laboratuvarımıza gönderilen kan ve BAL örneklerinden rastgele olarak seçilmiştir.

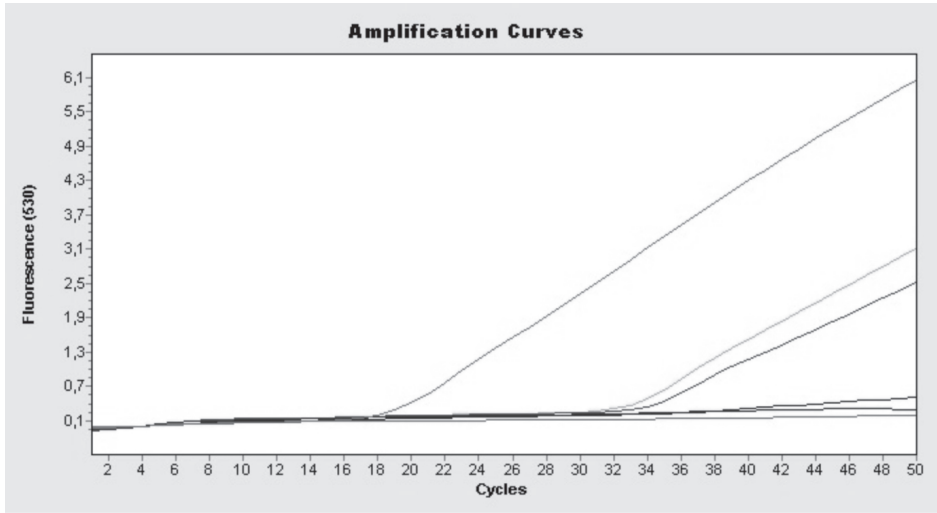
**Kandidoz modeli:** Deney hayvanı olarak, her biri 2.7-3 kg ağırlığında, erkek, Yeni Zelanda ırkı tavşan-

lar kullanılmıştır. Bütün hayvan deneyleri, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul onay ile (G.Ü.ET-09.032) yapılmıştır. Kandidemi oluşturmak üzere tavşanların kulak venine, içinde *C. albicans* ( $10^8$  maya/ml) bulunan süspansiyondan 1 $\mu$ l verilmiştir (4). Kandidemi oluşturulmasından 72 saat sonra deneklerden önce kan örnekleri, ötenazi sonrası dalak, böbrek ve karaciğer örnekleri alınmıştır. Bütün doku örnekleri sıvı azot ile dondurulmuş ve -20°C'de saklanmıştır. Kan örnekleri ön dondurma yapılmadan -20°C'de saklanmıştır. Kandidozun varlığı deney hayvanlarının kan ve doku örneklerinde *C. albicans* kolonisi üretilmesi ile doğrulanmıştır. Kontamine (simule) kan örnekleri, hasta kanları ile *C. albicans* ATCC 10231 kökeninin  $10^8$  maya/ml yoğunlukta karıştırılmasıyla hazırlanmıştır.

Kan ve BAL örneklerinin mikrobiyolojik kültürü: Kan kültürleri için BacT/ALERT®3D (BioMerieux, Fransa) sistemi kullanılmış, üreme olan şişelerden %5 koyun kanlı agar ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) plaklarına pasaj yapılmıştır. BAL örnekleri kanlı ve SDA plaklarına ekilmiştir. Kan kültüründe ve BAL örneklerinde üreyen maya kolonileri germ tüp oluşturma ve karbonhidrat asimilasyon test sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlanmıştır.

**DNA eldesi:** Kan ve doku örneklerindeki eritrositlerin uzaklaştırılması için eritrosit parçalama tamponu (EPT = TRIS 10 mM, magnesium chloride 5 mM, sodium chloride 10 mM) kullanılmıştır. BAL örneklerinde de eritrositlerin bulunabileceği öngörülerek, DNA eldesi, EPT basamağından başlanarak kan örnekleri gibi uygulanmıştır. Her örnekten 300  $\mu$ l temiz ependorflara alınmış ve üzerlerine 900  $\mu$ l EPT eklenmiştir. Ependorflar 15 saniye boyunca vortekslenmiştir. Örnekler, 10.000 g'de beş dakika santrifüj edilmiş, üst sıvı dökülüp, çökeltiye yine 500  $\mu$ l EPT eklenmiştir. Vortekslenen örnekler yine 10 000 g'de beş dakika santrifüj edilmiştir. BAL örnekleri için iki kez EPT basamağı uygulanması yeterli olmuş, kan ve doku örnekleri için temiz beyaz bir çökelti elde edilene kadar işleme devam edilmiştir. Koloni süspansiyonlarından EPT basamağı olmadan DNA eldesi yapılmıştır (5).

DNA izolasyonu için 100 mg/ml proteinaz K içeren parçalama tamponundan (TRIS 10mM, EDTA 10mM, NaCl 50mM, SDS %2) 100 $\mu$ l çökeltilere eklenmiş ve



Şekil 1. *Candida* PCR testine ait bir çalışmanın sonuç ekranı.

65°C’de 2 saat bekletilmiştir. Proteinaz K’nın etkisizleştirilmesi için tüpler 95°C’de beş dakika bekletilmiştir. Tüpler 10.000 g’de beş dakika santrifüj edilmiş, DNA içeren üst sıvı, çökeltiye dokunmadan temiz tüpe alınmıştır. Elde edilen DNA’nın saflaştırılması için ise fenol-kloroform-izoamil alkol (FKİ) yöntemi kullanılmıştır. DNA içeren 100 µl sıvı üzerine, 150 µl FKİ (25:24:1) eklenmiş ve vortekslenmiştir. Tüpler 14.000 g’de beş dakika santrifüj edilmiş ve fenolik faz ile kloroform arasında kalan bölümde oluşan tabakaya dokunulmadan üst faz alınarak temiz tüplere aktarılmıştır. Üzerine 200 µl kloroform-izoamil alkol (Kİ) (24:1) eklenmiş ve vortekslenmiştir. Tüpler 14.000 g’de beş dakika santrifüj edilmiş ve üst sıvı dipteki bulanık çökeltiye dokunmadan, yine temiz tüplere alınmıştır. Bu aşamada alınan her 50 µl üst sıvı için 125 µl (1:2.5) %100’lük etil alkol eklenmiştir. Tüpler DNA’nın çöktürülmesi için 14.000 g’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Bu defa üst sıvı uzaklaştırılmış, çöken DNA üzerine 200 µl %70’lik etil alkol eklenmiştir. Yıkama ikinci defa yinelenmiştir. Tüpler son kez 14.000 g’de beş dakika santrifüj edilmiş ve kurumaya bırakılmıştır. Çökelti kuruduktan sonra üzerine 30 µl Tris ve EDTA (TE) ile hazırlanan örnek çözme tamponu eklenmiştir. DNA +4°C’de bir hafta, -20 veya -80°C’de 6 ay saklanmıştır.

***Candida* DNA’sının çoğaltılması:** Elde edilen DNA’nın çoğaltılması için “panfungal” yani bütün mantarlar için ortak rDNA bölgesinden seçilen 3’-CCT GTT TGA GCG TCR TTT-5’ ve 3’-TCC

TCC GCT TAT TGA TAT-5’ primerleri ile *C. albicans* için özgül FAM-CAT TGC TTG CGG CGG TA-TAMRA probu kullanılmıştır. Toplam 10 µl olan reaksiyon karışımı 2 µl Taqman Universal PCR Mastermix, 1 µl MgCl<sub>2</sub> (25mM), 1 µl her bir primer (25 pmol), 1 µl probe (20 pmol), 2.5 µl distile su ve 2.5 µl DNA’dan oluşturulmuştur. Diğer iki (12.5 ve 25 µl) amplifikasyon karışımındaki kimyasal miktarları 10 µl’lik karışım esas alınarak oranlanmıştır. Amplifikasyon döngüsü 95°C ve 60°C’de 40 kez yinelenmiştir. Amplifikasyon LightCycler 2.0 (Roche, ABD) cihazında gerçekleştirilmiştir<sup>(6)</sup>. DNA çoğaltılması için kullanılan 10, 12.5 ve 25 µl’lik üç farklı amplifikasyon için yeterli olacak kimyasallar, üç ayrı firmadan alınan tekliflere göre maliyetleri hesaplanmış ve birbiri ile karşılaştırılmıştır.

***Candida* PCR testinin maliyet analizi:** Maliyet hesaplanırken, fiyat içine DNA eldesinde kullanılan kimyasallar, gerçek zamanlı PCR cihazında kullanılan kapiller tüpler ve plastik sarf malzemeleri dahil edilmiştir. Fiyat tekliflerinde kurumun yapacağı ödemenin süresinin hesaba katılmaması istenmiştir. Farklı firmalardan alınan kimyasal sarf malzemesi teklifleri ve markaları saklı tutularak, önerilen test protokolleri ve karışım miktarları üzerinde değişiklikler yapılmıştır. Amplifikasyon karışımı için firmalar tarafından önerilen 25 µl miktarı yerine, 10 µl kullanılmasının sonuçları değiştirmediği görülmüştür. Buna göre amplifikasyon karışımının 25, 12.5 ve 10 µl olarak hazırlandığı koşullara ait üç ayrı maliyet hesabı yapılmıştır.

## BULGULAR

Elde edilen bütün DNA örnekleri DNA ölçüm cihazında (NanoDrop, ABD) kontrol edilmiştir. Toplam 40 adet pozitif kontrol örneği kullanılmıştır. Koloni süspansiyonları (10 adet), kandidozlu deney hayvanlarının kanı (10 adet) ve *C. albicans* ile kontamine edilen hasta kanı örneklerinde (10 adet) hem kültür hem PCR ile *C.albicans* varlığı doğrulanmıştır. Kandidozlu deney hayvanlarının doku örneklerinden (10 adet) iki tanesinde (böbrek, karaciğer) amplifikasyon aşamasından kaynaklanan nedenler ile yalnızca negatiflik elde edilmiştir.

Klinik örneklerden 100 kan örneğinin 17 tanesinde (%17), 61 BAL örneğinin 12 tanesinde (%19.6) PCR ile pozitif sonuç alınmıştır. Pozitif örneklerin görüldüğü sonuç ekranı Şekil 1’de sunulmuştur. PCR ile pozitif bulunan kan örneklerinin yalnızca beş tanesi (%29) kan kültürü ile doğrulanmıştır. BAL örneklerinin altı tanesinde (%50) kültürde *C. albicans* kolonileri görülmüştür. Kandidemi varlığının araştırılması amacıyla laboratuvarımıza gönderilen kan örnekleri, febril nötropenik hastalardan alınan tarama kanlarıdır. BAL örnekleri ise radyolojik olarak *Candida* enfeksiyonu ile uyumlu bulguları olan, febril nötropenik hastalardan alınan BAL örnekleridir. Bu nedenle kültür ve PCR sonuçlarının pozitifliği pnömoni lehine kabul edilmiştir. Bu çalışmanın amacı “*Candida* PCR” testinin özgüllük, duyarlılık, negatif prediktif değer, pozitif prediktif değer gibi ölçütlerinin hesaplanması değildir. Öyle olmadığı için, kültür sonuçları ile PCR sonuçlarının karşılaştırılması yapılmamış, yalnızca pozitif ve negatif olan örnek sayıları verilmiştir.

Çalışmanın ikinci temel amacı olan maliyet analizi için üç firmadan alınan teklifler karşılaştırılmıştır. Sarf malzemesi 25 µl amplifikasyon karışımına göre hesaplandığında 14.80 TL ile 24.80 TL arasında değişen test başı net kâr elde edilmiştir. Amplifikasyon karışımı 12.5 µl olarak hesaplandığında 29.60 TL ile 49.60 TL arasında değişen test başı net kâr elde edilmiştir. Amplifikasyon karışımı 10 µl olarak kullanıldığında ise 35.52 TL ile 59.52 TL arasında değişen test başı net kâr elde edilmiştir.

## TARTIŞMA

Gerçek zamanlı PCR teknolojisi sayesinde, zor ve

geç üretilen etkenler ile oluşan enfeksiyon hastalıklarının tanısında önemli gelişmeler sağlanmıştır (7-9). Kandidemi etkeni *Candida* türlerinin kan kültürü ile üretilme olasılıkları istenilen düzeyde değildir (10). Febril nötropenik hasta takibinde ayrıca özellik göstermekle birlikte, kandidemi gelişen yoğun bakım hastaları, çocuk hastalar gibi özellik gösteren diğer hastaların enfeksiyon etkenlerinin tansısında moleküler yöntemlere başvurulmakta ve bu testlerin Sosyal Güvenlik Kurumu tarafından ödemesi yapılmaktadır. Moleküler yöntemler esasen “pahalı” yöntemler değildir. Altyapısı tamamlanmış laboratuvarlarda uygulanmaları halinde, maliyeti düşürebilecek düzenlemelerin yapılabilmesi mümkün olabilmektedir. Bir testin uygulanması sırasında ticari firmaların önerileri kadar, testin uygulayıcısı olan laboratuvar personelinin deneyimi de büyük önem taşımaktadır.

“*Candida* PCR” testi ticari olarak bulunmak ile birlikte, laboratuvarlar tarafından geliştirilen özgün “in house” sistemlerle de yürütülebilmektedir. Bu makalede, daha önce farklı makalelerde konu edilen, ancak tarafımızdan değiştirilerek uygulanan “*Candida* PCR” testinin gereç ve yöntemi, sarf malzemeleri ve maliyet analizi sunulmaktadır. DNA eldesi basamağında kullanılan EPT tamponu ticari bir sistem değildir. DNA çoğaltılması basamağında kullanılan primer ve prob dizileri Schabereiter-Gurtner ve ark.’nın (6) çalışmasından alınmıştır; ancak problemler farklı bir boya olan FAM ve TMR ile işaretlenmiştir. Yine adı geçen makalede SYBR Green kullanılarak “erime eğrisi” analizi yapılmasına karşılık, çalışmamızda TaqMan sistemi kullanılmıştır. Testin doğruluğu pozitif kontrol serileri ile değerlendirilmiş, ancak test ile ilgili karşılaştırmalı istatistik hesaplamalar yapılmamıştır. Çalışmanın amacı testin yapılması için gerekli yöntem basamaklarının sıralanması ve maliyet analizinin yapılması ile sınırlandırılmıştır. Maliyet analizi yapılarak bu testi uygulamaya koymak isteyen laboratuvarlara yol gösterilmeye çalışılmıştır.

Kandidemi açısından taranan 100 hastanın beş tanesinde (%5) kan kültürü pozitif bulunurken, 17 tanesinde (%17) PCR ile pozitif sonuç alınmıştır. *Candida* pnömonisi açısından incelenen 61 hastanın BAL örneğinin 6 tanesinde (%9.8) kültür pozitif bulunurken, 12 tanesinde (%19.6) PCR testi pozitif bulunmuştur. Buradan anlaşılacağı üzere, testin kullanılması febril nötropenik hasta grubu için yararlıdır (11).

Gereksiz antifungal kullanımına engel olmakta, etkenin gösterilmesi ise tedaviyi empirik olmaktan etkene yönelik tedaviye doğru çevirmektedir. Epidemiyolojik kayıtlarımız güçlenmekte, hastaların tedavisinde bu epidemiyolojik ön bilgiler çok yararlı olmaktadır. Üçüncü basamak sağlık kuruluşlarında “*Candida* PCR” testinin uygulanması bu bilimsel nedenlerle önerilmektedir.

Günümüzde, bir testin uygulamaya konulmasında bilimsel gerekliliği kadar, maliyeti de büyük önem taşımaktadır. Aslında, üçüncü basamak için maliyet en son düşünülmesi gereken bir kavram iken, son yıllarda kurumların uymak zorunda kaldıkları mali politikalar nedeniyle, laboratuvar testlerinin maliyeti de bir paydaş olarak göz önüne alınır hale gelmiştir. Testin kalite standartları yerine getirilmek kaydıyla, uygulamada bazı değişiklikler yapılarak maliyet düşürülebilmektedir. “*Candida* PCR” testi için üç ayrı firmadan fiyat teklifi alınmış, üç ayrı amplifikasyon karışımı hazırlanmıştır. Buna göre en az 14.80 TL, en çok 59.52 TL test başı net gelir elde edilmiştir. Son yayınlanan SUT’da “*Candidamannan*” testi 64 işlem puanı ve 38.20 TL fiyat ile listelenmiştir. “*Candida* PCR” testi işlem puanı 143 ve fiyatı 84.80 TL olarak belirtilmiştir. Kandidemi tanısı için kültür dışı tanı yöntemi olarak bu iki test kullanılabilir. Moleküler bir test olması nedeni ile “*Candida* PCR” testi serolojik “*Candidamannan*” testinden daha duyarlı ve özgül bir test olarak kabul edilmektedir<sup>(12)</sup>. Özellikle hastaların takibinde “*Candida* PCR” testinin kullanılması bu nedenlerle laboratuvar geliri azaltmayan, aksine gelir getirebilen bir moleküler yöntem olarak kullanılabilir.

Kandidemi gelişen hastalarda hangi klinik örneğin alınması gerektiği konusunda yapılmış bazı çalışmalar bulunmaktadır<sup>(13,14)</sup>. Bu çalışmalarda çalışması zor bir örnek olan kan yerine serum kullanılmış, ancak kandidemili ve beta glukon aktivitesi pozitif bulunan hastaların serum örneklerinde *Candida* DNA’sı gösterilememiştir<sup>(14)</sup>. Bu bilgiler ışığında kandidemi tanısı konulması amacıyla serum örneği değil, tam kan örneğinin çalışılması gerektiği anlaşılmaktadır.

Bir başka tartışma konusu da son yıllarda çeşitli ticari firmalar tarafından sunulmakta olan çok hedefli (multipleks) sistemlerdir. Sepsis tanısında kullanıl-

mak üzere geliştirilen bu sistemler içinde etken olarak aranan *Candida* cinsinden birkaç tür bulunmaktadır. Bu sistemler ticari olmaları nedeni ile standardize edilmiş yöntemlerdir. Bu nedenle rutin uygulamada kullanılmaları “in house” sistemlere göre daha avantajlıdır<sup>(15)</sup>. Sepsis tanısına yönelik bu sistemlerin en büyük dezavantajı pahalı olmaları ve SUT kapsamında listelenmemeleridir. Birden fazla etkeni gösterebilen çok sayıda farklı primer kullanıldığı için maliyet artmaktadır.

*Candida* PCR başlığı altında genotiplendirme çalışmaları da bulunmaktadır<sup>(16,17)</sup>. Bir grup hastadan izole edilen örneklerin genotipik ilişkilerinin gösterilmesi ve olası bulaş kaynaklarının bulunması amacıyla yürütülen moleküler epidemiyolojik çalışmalar çok değerli sonuçlar vermektedir<sup>(18)</sup>. Bu çalışmalar üreyen koloniler üzerinden yürütülmektedir. Bu nedenle tanısal amaçla DNA aranmasına yönelik çalışmalardan gereç ve yöntem olarak farklılaşmaktadır.

*Candida* cinsi mayaların klinik örneklerde gösterilmesi ile ilgili çalışmalar kadar, tür tanımı amacıyla yapılmış çalışmalar da bulunmaktadır<sup>(19)</sup>. Ülkemizde de hem moleküler tanı amacıyla hem de tür tanımı amacıyla yapılmış çalışmalar artmaktadır<sup>(20,21)</sup>. Tür tanımı amacıyla hem koloniden hem de klinik örnekten DNA tanımlanabilmektedir.

Kandidemi şüphesi ile kan ve steril vücut sıvılarında *Candida* DNA’sı araştırılan hastaların büyük çoğunluğu febril nötropenik hastalar, yoğun bakım hastaları ve çocuk hastalardır<sup>(22,23)</sup>. Bu hasta grubu için doğru tanının konması ve tedavinin başlaması büyük öneme sahiptir. Kültürde mantarların bakteriler kadar kolay üretilmediği düşünülür ise, altyapısı moleküler testlerin yürütülmesi için yeterli olan laboratuvarlarda *Candida* PCR testinin yapılmasının tanısal değer taşıdığı anlaşılabacaktır.

Sonuç olarak, SUT’daki adı ile “*Candida* PCR” testinin rutin olarak uygulanmasının hastalar için çok değerli sonuçlar verdiği, üstelik test içeriğinde kalite kontrolü gözardı edilmeksizin yapılan düzenlemelerin, bu testin uygulandığı laboratuvarlara dört kata kadar kâr kazandırabileceği gösterilmiştir.



## KAYNAKLAR

1. **Morace G, Borghi E.** Fungal infections in ICU patients: epidemiology and the role of diagnostics. *Minerva Anestesiol* 2010; 76:950-6. PMID:21102391
2. **Kuştimur S, Kalkancı A, Sucak-Türköz G ve ark.** Nötropenik hasta grubunda mantar enfeksiyonlarının tanısında moleküler yöntemlerin desteklediği bir laboratuvar akış şeması oluşturulması. *Moleküler Tanı Dergisi* 2007; 3:50-5.
3. **Kuştimur S, Kalkancı A.** Moleküler mikoloji laboratuvarının tasarımı, kurulması, yönetimi ve beklentiler. *Moleküler Tanı Dergisi* 2007; 3:101-6.
4. **Polanco A, Mellado E, Castilla C, Rodriguez-Tudela JL.** Detection of *Candida albicans* in blood by PCR in a rabbit animal model of disseminated candidiasis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34:177-83. [http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(99\)00036-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(99)00036-X)
5. **Kalkancı A, Kuştimur S, Güneş İ, Otlu B.** Nötropenik hastalarda invazif *Candida* enfeksiyonunun polimeraz zincir reaksiyonu ile tanısı. *Enfeksiyon Dergisi* 2003; 17:171-4.
6. **Schabereiter-Gurtner C, Selitsch B, Rotter ML, Hirschl AM, Willinger B.** Development of novel real-time PCR assays for detection and differentiation of eleven medically important *Aspergillus* and *Candida* species in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2007; 45:906-14. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01344-06> PMID:17251398 PMID:1829149
7. **Fricke S, Fricke C, Schimmelpfennig C et al.** A real-time PCR assay for the differentiation of *Candida* species. *J Appl Microbiol* 2010; 109:1150-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04736.x> PMID:20456528
8. **Khan Z, Mustafa AS, Alam FF.** Real-time LightCycler polymerase chain reaction and melting temperature analysis for identification of clinically important *Candida* spp. *J Microbiol Immunol Infect* 2009; 42:290-5. PMID:19949751
9. **Khlif M, Mary C, Sellami H et al.** Evaluation of nested and real-time PCR assays in the diagnosis of candidaemia. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:656-61. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02762.x> PMID:19438623
10. **Montagna MT, Caggiano G, Borghi E, Morace G.** The role of the laboratory in the diagnosis of invasive candidiasis. *Drugs* 2009; 69 (Suppl 1):S59-63. <http://dx.doi.org/10.2165/11315630-000000000-00000> PMID:19877736
11. **Badiee P, Alborzi A, Vojdani R et al.** Early diagnosis of systemic candidiasis in bone marrow transplant recipients. *Exp Clin Transplant* 2010; 8:98-103. PMID:20565365
12. **Avni T, Leibovici L, Paul M.** PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2011; 49:665-70. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01602-10> PMID:21106797 PMID:3043518
13. **Lau A, Halliday C, Chen SC, Playford EG, Stanley K, Sorrell TC.** Comparison of whole blood, serum, and plasma for early detection of candidemia by multiplex-tandem PCR. *J Clin Microbiol* 2010; 48:811-6. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01650-09> PMID:20042634 PMID:2832453
14. **Mokaddas E, Burhamah MH, Khan ZU, Ahmad S.** Levels of (1→3)-β-D-glucan, *Candida* mannan and *Candida* DNA in serum samples of pediatric cancer patients colonized with *Candida* species. *BMC Infect Dis* 2010; 10:292. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-10-292> PMID:20923575 PMID:2988795
15. **Lamoth F, Jaton K, Prod'homme G et al.** Multiplex blood PCR in combination with blood cultures for improvement of microbiological documentation of infection in febrile neutropenia. *J Clin Microbiol* 2010; 48:3510-6. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00147-10> PMID:20720024 PMID:2953112
16. **Saran B, Karahan ZC, Ağrbaşlı H, Tekeli A, Aksoy AM.** Comparison of different primers used for the genotyping of *Candida albicans* clinical isolates by randomly amplified polymorphic DNA method. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42:645-54. PMID:19149086
17. **Sancak B, Menemenlioğlu D, Aydın NG, Ergüven S, Arıkan S.** Molecular typing of clinical *Candida krusei* isolates by using restriction endonuclease analysis of genomic DNA and polymerase chain reaction. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42:635-44. PMID:19149085
18. **Yücesoy M, Marol S, Ergon C.** Genel Cerrahi servisindeki hastalardan soyutlanan *Candida* suşlarının moleküler epidemiyolojik izlemi. *Flora* 2004; 9:47-53.
19. **Toraman ZA, Bulut Y, Yılmaz M, Özdarendeli A.** Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* ve *Candida dubliniensis* suşlarının moleküler olarak tanımlanması. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39:199-204. PMID:16128031
20. **Özer S, Yücesoy M.** Simüle kan örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu ile *Candida* DNA'sının saptanması. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41:419-28. PMID:17933253
21. **Çerikçioğlu N, Aksu B, Dal TD et al.** Seminested PCR for detection and identification of *Candida* species directly from blood culture bottles. *New Microbiol* 2010; 33:57-62. PMID:20402414
22. **Del Negro GM, Delgado AF, Manuli ER, Yamamoto L, Okay TS.** Dual candidemia detected by nested polymerase chain reaction in two critically ill children. *Med Mycol* 2010; 48:1116-20. <http://dx.doi.org/10.3109/13693786.2010.499375> PMID:20662631
23. **Wellinghausen N, Siegel D, Winter J, Gebert S.** Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR detection of *Candida* DNA in blood samples. *J Med Microbiol* 2009; 58:1106-11. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.007906-0> PMID:19528159