

# Kan Kültürlerinden İzole Edilen Mayaların Tanımlanmasında Ticari Bir Multipleks Tandem Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yönteminin Değerlendirilmesi

## Evaluation of a Commercial Multiplex Tandem Polymerase Chain Reaction Method for the Identification of the Yeasts Isolated from Blood Cultures

Halil ER<sup>1</sup>(ID), Özlem KOYUNCU ÖZYURT<sup>2</sup>(ID), Betil ÖZHAK<sup>2</sup>(ID), Hatice YAZISIZ<sup>2</sup>(ID), Gözde ÖNGÜT<sup>2</sup>(ID), Zübeyde ERES SARITAŞ<sup>1</sup>(ID), Levent DÖNMEZ<sup>3</sup>(ID), Dilek ÇOLAK<sup>2</sup>(ID), Filiz GÜNSEREN<sup>4</sup>(ID), Dilara ÖÇÜNÇ<sup>2</sup>(ID)

<sup>1</sup> Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Antalya.

<sup>1</sup> Health Sciences University, Antalya Training and Research Hospital, Clinic of Medical Microbiology, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup> Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>2</sup> Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Antalya, Turkey.

<sup>3</sup> Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>3</sup> Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Public Health, Antalya, Turkey.

<sup>4</sup> Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>4</sup> Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Antalya, Turkey.

**Makale Atfı:** Er H, Koyuncu Özyurt Ö, Özihak B, Yazısız H, Öngüt G, Eres Sarıtaş Z ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen mayaların tanımlanmasında ticari bir multipleks tandem polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2020;54(4):596-605.

### ÖZ

Kandidemiler, dünyadaki en önemli hasta bakımı ile ilişkili enfeksiyonlardan biridir. *Candida* türlerinin türe özgü antifungal duyarlılık profillerinin olması nedeni ile kandidemili hastalarda enfeksiyon etkeni türün belirlenmesi hastaların uygun tedavisi için gereklidir. Etken türün belirlenmesinde tanımlanma süresini kısaltmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Fungal ID multipleks tandem polimeraz zincir reaksiyonu (MT-PCR) (AusDiagnostics, Avustralya), klinik örneklerden sık izole edilen maya ve küferin tanımlanması için geliştirilmiş bir testtir. Çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden maya morfolojisindeki mantarların tanımlanmasında Fungal ID MT-PCR testinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Aralık 2016-Aralık 2017 tarihleri arasında, Gram yaymasında maya hücresi saptanan, 92 ardışık hastadan alınan kan kültürü örnekleri, Fungal ID MT-PCR ve referans yöntemle test edilmiştir. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden Sabouraud dekstroz agar besiyerine pasaj yapılmış, morfolojik tanımlama yöntemleri (germ tüp testi ve corn meal Tween® 80 agar besiyerlerindeki morfolojik özellikleri vb.), BD Phoenix Yeast ID Panel (Becton Dickinson, Sparks, MD, Almanya) ve Bruker Biotyper “matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight, mass spectrometry (MALDI-TOF MS)” (Bruker Daltonics, Almanya) sistemleri ile türler tanımlanmıştır.

**İletişim (Correspondence):** Dr. Öğr. Üyesi Hatice Yazısız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 242 249 6000/3473, **E-posta (E-mail):** drhyazisiz@yahoo.com.tr

MALDI-TOF MS ile yapılan tanımlamalar referans yöntem olarak kabul edilmiştir. Referans yöntem ile izolatların 35'i *Candida albicans*, 17'si *Candida glabrata*, 13'ü *Candida parapsilosis*, 12'si *Candida tropicalis*, yedisi *Candida krusei*, ikisi *Candida guilliermondii*, ikisi *Candida dubliniensis*, ikisi *Candida inconspicua*, biri *Candida kefy* ve biri *Saprochaete capitata* olarak tanımlanmıştır. Birden fazla maya türünün etken olduğu olgu bulunmamıştır. Morfolojik tanımlama yöntemleri ile izolatların %94.6'sının olası tanımı yapılmıştır. BD Phoenix Yeast ID Panel ile referans yöntem arasında uyumsuz sonuç saptanmamıştır. Fungal ID MT-PCR ile izolatların 33'ü *C. albicans*, 15'i *C. glabrata*, 13'ü *C. parapsilosis*, 11'i *C. tropicalis*, beşi *C. krusei*, ikisi *C. guilliermondii*, biri *C. dubliniensis*, biri *C. kefy* ve 10'u *Candida* spp. olarak tanımlanmıştır. *C. inconspicua* ve *S. capitata* test panelinde yer almadığından, iki örnekte *C. inconspicua* *Candida* spp. olarak tanımlanırken, bir örnekte *S. capitata* tanımlanamamıştır. Fungal ID MT-PCR ve referans yöntem arasındaki uyum, tür düzeyinde %88, cins düzeyinde ise %98.9 olarak bulunmuştur. *C. krusei* ve *C. glabrata*'nın saptanmasında Fungal ID MT-PCR testinin duyarlılığı sırasıyla %71.4 ve %88.2 olarak saptanmıştır. Fungal ID MT-PCR testi, cins düzeyinde tanımlamada yüksek performansa sahiptir, ancak tedavi yönetimi için önemli olan tür seviyesinde tanımlamada performansı orta düzeydedir. Fungal ID MT-PCR, *Candida* türlerinin erken saptanması için geleneksel tanımlama yöntemlerine ek test olarak kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** *Multiplex tandem polimeraz zincir reaksiyonu; maya; kandidemi; kan kültürü; Candida'nın tanımlanması.*

## ABSTRACT

Candidemia is one of the most important health care-associated infections worldwide. *Candida* species have species-specific antifungal susceptibility profiles and it has been shown that the identification of the *Candida* species is necessary for the appropriate treatment of the patients with candidemia. Various methods are used to shorten the identification time for the determination of the causative species. Fungal ID multiplex tandem polymerase chain reaction (MT-PCR) (AusDiagnostics, Australia) is a test developed to identify yeasts and molds isolated from clinical specimens. In this study, we aimed to evaluate the Fungal ID MT-PCR test (AusDiagnostics, Australia) for the identification of the yeasts from positive blood cultures in Akdeniz University Hospital Central Laboratory. Between December 2016 and December 2017, blood culture samples from 92 consecutive patients with yeast cells detected in Gram stained smears were tested by Fungal ID MT-PCR and the reference method. After the subculture of the positive signaling blood culture bottles to Sabouraud dextroz agar (SDA), the identification of the yeasts were performed by morphological identification methods (Germ tube test, Corn Meal Tween® 80 agar media, etc.), BD Phoenix Yeast ID Panel (Becton Dickinson, Sparks, MD) and Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of mass spectrometry (MALDI-TOF MS) (Bruker Daltonics, Germany) systems. Identification with MALDI-TOF MS have been accepted as the reference method. Thirty-five of the isolates were identified as *Candida albicans*, 17 were *Candida glabrata*, 13 were *Candida parapsilosis*, 12 were *Candida tropicalis*, seven were *Candida krusei*, two were *Candida guilliermondii*, two were *Candida dubliniensis*, two were *Candida inconspicua*, one was *Candida kefy* and one was *Saprochaete capitata* by the reference method. In our study, no blood culture sample yielded more than one yeast species. 94.6% of the strains were presumptively identified by the morphological identification methods. Discordant results were not detected between the BD Phoenix Yeast ID Panel and the reference method. Thirty-three of the isolates were identified as *C. albicans*, 15 were *C. glabrata*, 13 were *C. parapsilosis*, 11 were *C. tropicalis*, five were *C. krusei*, two were *C. guilliermondii*, one was *C. dubliniensis*, one was *C. kefy* and 10 were *Candida* spp. by Fungal ID MT-PCR assay. Since *C. inconspicua* and *S. capitata* were not included in the test panel, *C. inconspicua* was identified as *Candida* spp. in two samples, while *S. capitata* could not be identified in one sample. Concordance between Fungal ID MT-PCR and the reference method were found to be 88% at the species level and 98.9% at the genus level. The sensitivity of the Fungal ID MT-PCR test in the detection of *C. krusei* and *C. glabrata* was 71.4% and 88.2%, respectively. Fungal ID MT-PCR test has shown a high performance in the identification at the genus level, but the identification at the species level, which is important for the treatment management, was moderate. Fungal ID MT-PCR can be used as an adjunct test to the traditional identification methods for the early identification of the *Candida* species.

**Keywords:** *Multiplex tandem polymerase chain reaction; yeast; candidemia; blood culture; Candida identification.*

## GİRİŞ

Kandidemiler, dünyadaki en önemli hasta bakımı ile ilişkili enfeksiyonlardan biridir<sup>1</sup>. *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae* ve *Candida guilliermondii* kandidemilerin %95'inden fazlasına neden olan türlerdir<sup>1</sup>. *C. albicans*, kandideminin en sık görülen nedeni olmasına rağmen son 10 yılda, azollere maruz kalmanın artması ile ilişkili olduğu düşünülen *C. albicans* dışı türlerin izolasyonundaki artış göze çarpmaktadır. Her ne kadar *Candida* türlerinin çoğu flukonazole duyarlı olsa da kazanılmış direnç veya doğal olarak dirençli türlerin ortaya çıkması yönünde bir eğilim bulunmaktadır<sup>2,3</sup>.

Doğru zamanda başlanan antifungal tedavi ve kaynak kontrolü, kandidemili hastalarda sağkalımın önemli belirleyicileridir. Tedavi edilmeyen kandidemilerde mortalite oranı %60'ın üzerinde iken, tedavi ile bu oran yaklaşık %30-40'tır<sup>4-6</sup>. Kandidemili 230 hasta ile yapılan retrospektif bir kohort çalışmasında, maya için ilk pozitif kültürün bildirilmesinden flukonazol tedavisinin başlanmasına kadar geçen gün sayısının, artmış mortalite oranları ile korelasyon gösterdiği belirlenmiştir<sup>7</sup>.

*Candida* türlerinin türe özgü antifungal duyarlılık profilleri olduğundan, enfeksiyon etkeni türün belirlenmesinin *Candida* kan dolaşımı enfeksiyonu olduğundan şüphelenilen hastaların uygun tedavisi için gerekli olduğu gösterilmiştir<sup>1</sup>. Kandidemilerde ekinokandinler ilk tedavi seçeneği iken, alternatif tedavi seçenekleri daha çok spesifik türle ilişkilidir<sup>8</sup>. Bu nedenle, etken *Candida* türünün hızlı bir şekilde tespit edilmesi, kandideminin etkili tedavisi için önemlidir.

Kandideminin tanısında altın standart pozitif kan kültürüdür. Kan kültürü, daha sonraki antifungal duyarlılık testlerinin uygulanmasını sağlayan tek tanısal yaklaşımdır<sup>9</sup>. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden katı besiyerlerine pasaj sonrasında organizmanın tanımlanması için kullanılan yöntemlere göre bir iki gün gerekmektedir. Ciddi bir hasta için daha hızlı ve daha duyarlı teknikler gereklidir. Tanımlanma süresini kısaltmak için "peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization (FISH)", "matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS)" ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır<sup>10-13</sup>. Multipleks tandem polimeraz zincir reaksiyonu (MT-PCR), tüm ampikonların aynı anda multipleks PCR ile sınırlı sayıda döngü ile çoğaltıldığı ön çoğaltma (amplifikasyon) basamağı ve gerçek zamanlı PCR basamağından oluşan, çok sayıda hedefin saptanmasına izin veren iki aşamalı bir yöntemdir<sup>14</sup>.

Bu çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden maya morfolojisindeki mantarların tanımlanmasında Fungal ID multipleks tandem polimeraz zincir reaksiyonunun (MT-PCR) (AusDiagnostics, Avustralya) değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (2012-KAEK-20) onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 01.06.2016 ve Karar no: 2016/313).

## Kan Kültürleri

Aralık 2016-Aralık 2017 tarihleri arasında, Akdeniz Üniversitesi Hastanesinde yatan hastalardan alınan kan kültürleri, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında, BD BACTEC FX (Becton Dickinson, ABD) kan kültür sisteminde sinyal verinceye kadar veya beş gün süresince inkübe edildi. Pozitif sinyal veren kan kültürlerinden hazırlanan yayma preparatları Gram boyama yöntemi ile boyandı ve yaymada maya hücreleri saptanan ardından 92 farklı hastadan alınan kan kültürü örneği çalışmaya dahil edildi. Pozitif sinyal veren kan kültür şifşelerinden Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerine pasaj yapıldı.

### Morfolojik Tanımlama Yöntemleri

İzolatlar; germ tüp testi, CHROMagar™ *Candida* (Becton Dickinson, ABD) besiyerindeki koloni renkleri, corn meal Tween® 80 agar besiyerlerindeki morfolojik özellikleri kullanılarak tanımlandı.

### Otomatize Yöntem ve MALDI-TOF MS

BD Phoenix Yeast ID Panel (Becton Dickinson, Sparks, MD, Almanya) ve Bruker Biotyper MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya), üretici firmaların önerileri doğrultusunda çalışıldı. MALDI-TOF MS ile yapılan tanımlamalar referans yöntem olarak kabul edildi<sup>15-17</sup>.

### Multipleks Tandem PCR Yöntemi ile Türlerin Tanımlanması

Fungal ID MT-PCR testi; *Candida* spp., *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida famata*, *Candida kefyr*, *Fusarium* spp., *Fusarium solanii*, *Scedosporium prolificans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* ve *Aspergillus* türlerinin kan kültürü, besiyerinde üreyen koloniler, tam kan, serum ve plazmadan saptanması için tasarlanmış bir testtir. Fungal ID MT-PCR testi ile kan kültüründe etken tür yaklaşık üç saat içinde belirlenebilmektedir.

Ticari bir kit ile (EZ1 Virus Mini Kit, Qiagen, Birleşik Krallık) DNA izolasyonunun ardından, Fungal ID MT-PCR kiti ile izolatlar tanımlandı. Multipleks Tandem PCR (MT-PCR), iki aşamalı bir PCR yöntemidir. Bu yöntemde ilk aşamada, tüm ampliconlar aynı anda multipleks PCR ile 15 veya 18 döngü boyunca çoğaltıldı. Bu döngü sayısı boyunca çok az dNTP tükettiği için her PCR reaksiyonu diğerlerinden bağımsız olup her hedefin nispi miktarı korunmaktadır. İlk aşamada elde edilen ürün, dilüsyon sonrasında her bir hedef için bir adet olacak şekilde PCR reaksiyon sayısı kadar paylaştırılmıştır. İkinci aşamada kullanılan primer dizileri, ilk aşamada kullanılan primer dizilerinin iç bölgelerinden seçildiği için ilk aşamada sentezlenen özgül olmayan ampliconlar, ikinci aşamada çoğaltılmamaktadır.

### İstatistiksel Analiz

Referans yöntem olan MALDI-TOF MS tanımlaması ile her bir yöntemin (morfolojik tanımlama, BD Phoenix Yeast ID Panel ve Fungal ID MT-PCR) tanımlaması ayrı ayrı kar-

şılaştırıldı. Referans yöntemin pozitifliği gerçek pozitif olarak alınarak diğer yöntemlerin duyarlılığı hesaplandı.

## BULGULAR

Çalışma kapsamında kandidemili 92 hastanın 28'i yoğun bakım, 28'i dahili bilim, 12'si cerrahi bilim, 16'sı çocuk hastalıkları ve sekizi çocuk yoğun bakım kliniklerinde takip edilmiştir.

Referans yöntem olan MALDI-TOF MS ile izolatların 35'i *C.albicans*, 17'si *C.glabrata*, 13'ü *C.parapsilosis*, 12'si *C.tropicalis*, yedisi *C.krusei* ikisi *C.guilliermondii*, ikisi *C.dublinskiensis*, ikisi *C.inconspicua*, biri *C.kefyr* ve biri *Saprochaete capitata* olarak tanımlanmıştır. Birden fazla maya türünün etken olduğu herhangi bir olgu saptanmamıştır.

Morfolojik tanımlama yöntemleri ile 92 izolatın 87 (%94.6)'sinin olası tanımlama yapılabildiği görülmüştür. BD Phoenix Yeast ID Panel ile 92 izolatın tümü tür düzeyinde tanımlanmış ve referans yöntem ile uyumsuz sonuç saptanmamıştır. Morfolojik tanımlama yöntemleri ve BD Phoenix Yeast ID Panel'in referans yöntem ile karşılaştırma sonuçları Tablo I'de gösterilmiştir.

Fungal ID MT-PCR ile izolatların 33'ü *C.albicans*, 15'i *C.glabrata*, 13'ü *C.parapsilosis*, 11'i *C.tropicalis*, beşi *C.krusei*, ikisi *C.guilliermondii*, biri *C.dublinskiensis*, biri *C.kefyr* ve 10'u *Candida* spp. olarak tanımlanmıştır. Fungal ID MT-PCR, 92 pozitif sinyal veren kan kültürü şişesinin 81'inde mayaları tür düzeyinde tanımlayabilmiştir. Bu testte *C.inconspicua* ve *S.capitata* için hedef bulunmadığından, iki örnekte *C.inconspicua* *Candida* spp. olarak tanımlanırken, bir örnekte *S.capitata* tanımlanamamıştır. Test panelinde bulunmayan *C.inconspicua* ve *S.capitata* hariç tutulduğunda, Fungal ID MT-PCR testinin tür düzeyinde tanımlamada duyarlılık oranının %50-100 arasında değiştiği saptanmıştır (Tablo I). Fungal ID MT-PCR testinin flukonazole doğal dirençli *C.krusei*'yi saptama duyarlılığı %71.4 iken, azollere dirençli olabilen *C.glabrata*'yı saptama duyarlılığı %88.2 olarak belirlenmiştir. Fungal ID MT-PCR ve referans yöntem arasındaki uyum, tür düzeyinde %88, cins düzeyinde ise %98.9 olarak bulunmuştur. Fungal ID MT-PCR testinin, referans yöntem ile karşılaştırıldığında her tür için saptanan duyarlılık oranı ve iki yöntem arasındaki uyum Tablo I'de gösterilmiştir. Referans yöntem ile karşılaştırıldığında Fungal ID MT-PCR ile tür düzeyinde uyumsuz sonuç elde edilen izolatlar Tablo II'de gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

Kandidemi ile ilişkili yüksek mortaliteyi azaltmak, uygun antifungal tedaviye mümkün olduğunca erken başlamak için etkenin tür düzeyinde tanımlanması önemlidir. Antifungal tedavi *Candida* türüne göre değişebilmektedir, ayrıca kan kültüründe üreyen mayalar her zaman *Candida* değildir, fungemili hastaların yaklaşık %5'inde etken, *Candida* dışı maya türleridir<sup>18,19</sup>.

Çalışmamızda, en sık izole edilen tür olan *C.albicans*'ı, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis* ve *C.krusei* izlemiştir. Kandidemi insidansında olduğu gibi, genel tür dağılımı coğrafi bölgeye ve hasta popülasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Hastanemizde

	Referans yöntem						BD Phoenix Yeast ID Panel					
	MALDI-TOF			Morfolojik tanımlama			Fungal ID MT-PCR			BD Phoenix Yeast ID Panel		
	(+)	n	Duyarlılık (%)	Tür düzeyinde pozitif	Duyarlılık (%)	Tür (cins) düzeyinde pozitif	Duyarlılık (%)	n	Duyarlılık (%)	Tür düzeyinde pozitif	n	Duyarlılık (%)
<i>Candida albicans</i>	35	35	100.0	33 (35)	94.3 (100.0)	35	100.0	35	100.0	35	100.0	
<i>Candida glabrata</i>	17	17	100.0	15 (17)	88.2 (100.0)	17	100.0	17	100.0	17	100.0	
<i>Candida parapsilosis</i>	13	13	100.0	13 (13)	100.0 (100.0)	13	100.0	13	100.0	13	100.0	
<i>Candida tropicalis</i>	12	12	100.0	11 (12)	91.7 (100.0)	12	100.0	12	100.0	12	100.0	
<i>Candida krusei</i>	7	7	100.0	5 (7)	71.4 (100.0)	7	100.0	7	100.0	7	100.0	
<i>Candida guilliermondii</i>	2	0	0.0	2 (2)	100.0 (100.0)	2	100.0	2	100.0	2	100.0	
<i>Candida dubliniensis</i>	2	2	100.0	1 (2)	50.0 (100.0)	2	100.0	2	100.0	2	100.0	
<i>Candida inconspicua</i>	2	0	0.0	0 (2)	0.0 (100.0)	2	100.0	2	100.0	2	100.0	
<i>Candida kefyi</i>	1	1	100.0	1 (1)	100.0 (100.0)	1	100.0	1	100.0	1	100.0	
<i>Saprochaete capitata</i>	1	0	0.0	0 (0)	0.0 (0.0)	1	100.0	1	100.0	1	100.0	
Toplam uyum (%)	92	87	(94.6)	81	(88.0)	92	(100.0)	92	(100.0)	92	(100.0)	

**Tablo II.** Referans Yöntem ile Karşılaştırıldığında Fungal ID MT-PCR ile Tür Düzeyinde Uyumsuz Sonuç Elde Edilen İzolatlar

Referans yöntem (MALDI-TOF MS) ile tanımlanan izolatlar	Uyumsuz tanımlama sonucu (n)
	Fungal ID MT-PCR
<i>Candida albicans</i> (n= 35)	<i>Candida</i> spp. (n= 2)
<i>Candida glabrata</i> (n= 17)	<i>Candida</i> spp. (n= 2)
<i>Candida tropicalis</i> (n= 12)	<i>Candida</i> spp. (n= 1)
<i>Candida krusei</i> (n= 7)	<i>Candida</i> spp. (n= 2)
<i>Saprochaete capitata</i> (n= 1)	Tanımlanamadı (n= 1)

genellikle en sık görülen *C.albicans* dışı kandidemi etkeni *C.parapsilosis*'tir<sup>20</sup>. Bu çalışmada farklı olarak en sık *C.albicans* dışı kandidemi etkeninin *C.glabrata* olduğu belirlenmiştir. Önceden kullanılan antifungal tedavi, profilaktik flukonazol kullanımına bağlı seçici baskı, immünsupresyon, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, ileri yaş gibi faktörler *C.glabrata* ile enfeksiyonların sıklığının artışına katkıda bulunmaktadır<sup>19</sup>.

*Candida* türleri, nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarıyla ilişkili en yaygın patojenlerden birini temsil etmektedir. Kandidemi ayrıca yüksek mortalite, hastanede uzun kalış süresi ve artan sağlık maliyetleri ile ilişkilidir. Bu olumsuz sonuçlar, kandidemi için basitleştirilmiş aerodinamik tanı yöntemlerinin bulunmaması nedeni ile günümüz klinik pratiğinde geçerli olmaya devam etmektedir<sup>21</sup>. Kültüre dayalı olmayan yöntemler, bağıışıklığı baskılanmış hastalarda kandideminin erken tanısını desteklemek için hız avantajına sahiptir. Moleküler tanı yöntemleri kullanılarak kan kültürlerinden mayaların hızlı bir şekilde tanımlanmasının, özellikle antimikrobiyal yönetim ile birleştirildiğinde, antifungal tedavinin erken uygulanmasıyla klinik sonuçların iyileşmesine katkıda bulunacağı bildirilmiştir<sup>22</sup>.

Morfolojik tanımlama yöntemlerinin tüm biyokimyasal tanımlama sistemlerine eşlik etmesi önerilmektedir<sup>23</sup>. Çalışmamızda, morfolojik tanımlama yöntemleri ile maya izolatlarının %94.6'sının olası tanımı yapılabildiği görülmüştür. Bu yöntemler deneyim gerektirir, ancak bu deneyimi kazandıktan sonra izolatların büyük bölümünün tanımlanmasında kullanılabilir.

BD Phoenix Yeast ID Panel'in diğer sistemlerle karşılaştırıldığı çalışmalarda; BD Phoenix Yeast ID Panel ile API® ID 32C (bioMérieux, Fransa), Remel RapID Yeast Plus System, API 20C AUX sistemi ve MALDI-TOF MS ile uyum, sırasıyla %75.4, %93.3, %91.5 ve %95-99.2 olarak saptanmıştır<sup>24-28</sup>. Yapılan çeşitli çalışmalarda, BD Phoenix Yeast ID Panel'in mayaları doğru tanımlama oranı %89'un üzerinde bulunmuştur<sup>25,29,30</sup>. BD Phoenix Yeast ID Panel'in mayaları doğru tanımlama oranı maya türlerine göre değişmekte olup, sistem, yaygın maya türlerinin %98-98.2'sini doğru tanımlarken, bu oran nadir türler için %70-76'ya düşmektedir<sup>25</sup>. Çalışmamızda referans yöntem ile BD Phoenix sistemi arasındaki yüksek uyumun, çalışmada yer alan türlerin dağılımı ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada, Fungal ID MT-PCR ile 92 örneğin 81 (%88)'inde etken tür düzeyinde, 91 (%98.9)'inde ise cins düzeyinde doğru olarak tanımlanmıştır. Kan kültüründe maya saptanan olgularda ilk tedavi seçeneği ekinokandinler olup, flukonazol, durumu kritik olmayan hastalarda ve *C.glabrata* veya *C.krusei* gibi flukonazole dirençli bir organizma ile enfekte olma olasılığı düşük olan hastalarda alternatif ajan olarak kullanılabilir. Fungal ID MT-PCR'nin türleri belirlemedeki duyarlılığı türden türe değişmektedir. Testin *C.krusei* ve *C.glabrata*'yı saptamada duyarlılığının sırasıyla %71.4 ve %88.2 olması nedeni ile test ile sonuç alınamayan veya *Candida* spp. olarak tanımlanan olgularda rutin tanımlama ve antifungal duyarlılık test sonuçlarına göre tedavinin düzenlenmesi gereklidir<sup>8,10</sup>.

Lau A ve arkadaşlarının çalışmasında<sup>31</sup>, kan kültüründe maya saptanan 44 olgunun 42'sinde fungal ID MT-PCR ve konvansiyonel yöntem sonuçları uyumlu bulunmuştur. Fungal ID MT-PCR ile negatif sonuç alınan iki örneğin birinden *Candida nivariensis*, diğerinden ise *Kodamaea ohmeri* ve *Candida lambica* izole edilmiştir. Fungal ID MT-PCR testinde bu mayalar test panelinde yer almadığı için negatif sonuç alınmıştır. Benzer şekilde, çalışmamızdaki test panelinde de yer almadığı için bir örnekte *S.capitata* tanımlanamamış, iki örnekte ise *C.inconspicua* cins düzeyinde tanımlanmıştır.

Kültür plaklarında üremiş 183 klinik izolatin koloni MT-PCR ve fenotipik yöntemlerle tanımlandığı bir çalışmada, 183 izolatin tümünün koloni MT-PCR testi ile doğru bir şekilde tanımlandığı belirlenmiştir<sup>32</sup>. Ayrıca fungal ID MT-PCR kan, serum ve plazma örneklerinde de çalışılabilir. Kan örneği kullanıldığında, kandidemili hastaların %70'inde enfeksiyonu dört gün kadar erken tespit edebildiği bildirilmiştir<sup>33</sup>.

Bu çalışmanın kısıtlılıklarından biri, testin değerlendirilmesi için az sayıda örnek kullanılması, diğer bir kısıtlılığı ise izolatların tanımlanmasında dizi analizi yapılamamış olmasıdır. Sonuçlarımız mayaların tanımlanması için geçerli olsa da fungal ID MT-PCR, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. ve *S.prolificans* gibi küflerin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarının tanısında da kullanılabilir.

Referans yöntem olarak kullandığımız MALDI-TOF MS, *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ve *Saccharomyces* türleri de dahil olmak üzere birçok mayanın tanımlanmasında oldukça etkili olduğu kanıtlanmış, geniş veri tabanına sahip bir sistemdir<sup>16</sup>. Fungal ID MT-PCR testi ise sınırlı bir dizi *Candida* türünü saptamak üzere tasarlanmıştır. Lokal epidemiyolojik veriler göz önüne alındığında, nadir saptanan maya türleri ile enfeksiyon sıklığının yüksek olduğu hastanelerde fungal ID MT-PCR testinin tek başına kullanılmasının uygun olmadığını düşünmekteyiz.

Fungal ID MT-PCR testinin cins düzeyinde tanımlamada performansının yüksek olduğu, ancak tedavi yönetimi için önemli olan tür düzeyinde tanımlama başarısının orta düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Bu değerlendirmeye göre, testin seçilmiş hastalarda geleneksel tanımlama yöntemlerini tamamlayıcı test olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Klinik laboratuvarlar, kültüre dayalı olmayan yöntemler arasında seçim yaparken farklı seçeneklerle karşılaşabilmekte-



dir. Bu yöntemlerin hasta bakımında kullanılmak üzere uygulanmasından önce daha fazla validasyon ve standardizasyon çalışması yapılmalıdır. Sonuç olarak, tanısı zor olan invaziv kandidemi için hızlı tanı yöntemlerinde daha fazla iyileştirmeye ihtiyaç bulunmaktadır.

## ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (2012-  
KAEK-20) onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 01.06.2016 ve Karar no: 2016/313).

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Ao W, Klonoski J, Berlinghoff E, Jensen J, Afroz T, Munns D, et al. Rapid detection and differentiation of clinically relevant *Candida* species simultaneously from blood culture by use of a novel signal amplification approach. *J Clin Microbiol* 2017; 56(1): e00982-17.
2. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit Rev Microbiol* 2010; 36(1): 1-53.
3. Lamoth F, Lockhart SR, Berkow EL, Calandra T. Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73(S1): i4-i13.
4. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storf S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 1992; 15(3): 414-21.
5. Andes DR, Safdar N, Baddley JW, Playford G, Reboli AC, Rex JH, et al. Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials. *Clin Infect Dis* 2012; 54(8): 1110-22.
6. Clancy CJ, Nguyen MH. The end of an era in defining the optimal treatment of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis* 2012; 54(8): 1123-5.
7. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis* 2006; 43(1): 25-31.
8. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62(4): e1-50.
9. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. *N Engl J Med* 2016; 374(8): 794-5.
10. Doğan Ö, İnkaya AÇ, Gülmez D, Uzun Ö, Akova M, Arıkan Akdağlı S. Evaluation of PNA-FISH method for direct identification of *Candida* species in blood culture samples and its potential impact on guidance of antifungal therapy. *Mikrobiyol Bul* 2016; 50(4): 580-9.
11. Aydemir G, Koç AN, Atalay MA. Evaluation of peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization (PNA FISH) method in the identification of *Candida* species isolated from blood cultures. *Mikrobiyol Bul* 2016; 50(2): 293-9.
12. Turhan O, Ozhak-Baysan B, Zaragoza O, Er H, Sarıtas ZE, Ongut G, et al. Evaluation of MALDI-TOF-MS for the identification of yeast isolates causing bloodstream infection. *Clin Lab* 2017; 63(4): 699-703.
13. Ağca H, Dalyan Cilo B, Özmerdiven GE, Sağlam S, Ener B. Development of a real-time polymerase chain reaction method for the identification of *Candida* species. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(1): 56-65.
14. Lewis White P, Perry MD, Barnes RA. *Candida*, pp: 551-68. In: Liu D (ed), *Molecular Detection of Human Fungal Pathogens*. 2011, 1st ed. Boca Raton, Florida.
15. Ling H, Yuan Z, Shen J, Wang Z, Xu Y. Accuracy of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinical pathogenic fungi: a meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2014; 52(7): 2573-82.

16. Terrero-Salcedo D, Powers-Fletcher MV. Updates in laboratory diagnostics for invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2020; 58(6): e01487-19.
17. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF mass spectrometry for fungal identification. *J Fungi (Basel)* 2019; 5(1): 4.
18. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. ESCMID\* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(S7): 9-18.
19. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48(12): 1695-703.
20. Cicek-Kolak C, Erman-Daloglu A, Ozhak B, Ogunc D, Gunseren F. Epidemiology of candidemia, antifungal susceptibilities of *Candida* species and their impact on mortality in adult patients admitted to Akdeniz University Hospital. *Klimik Journal* 2019; 32(3): 250-8.
21. Bomkamp JP, Sulaiman R, Hartwell JL, Desai A, Winn VC, Wrin J, et al. Evaluation of a rapid fungal detection panel for identification of candidemia at an academic medical center. *J Clin Microbiol* 2020; 58(3): e01408-19.
22. Simor AE, Porter V, Mubareka S, Chouinard M, Katz K, Vermeiren C, et al. Rapid identification of *Candida* species from positive blood cultures by use of the filmarray blood culture identification panel. *J Clin Microbiol* 2018; 56(12): e01387-18.
23. Walsh T, Hayden R, Larone D. Laboratory Technique, pp: 359-426. In: Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification. 2018, 6th ed. ASM Press, Washington DC.
24. Gayibova Ü, Dalyan Cılo B, Ağca H, Ener B. Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin tanımlanmasında Phoenix™ Yeast ID Panel ile API(®) ID 32C ticari sistemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(3): 438-48.
25. Grant ML, Parajuli S, Deleon-Gonsalves R, Potula R, Truant AL. Comparative evaluation of the BD Phoenix Yeast ID Panel and Remel RapID Yeast Plus system for yeast identification. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2016; 2016: 4094932.
26. Kanesaka I, Kanayama A, Itou T, Uchino U, Koyama H, Matsuzaki K, et al. Evaluation of the BD Phoenix ID Yeast System for the species identification of clinical yeast-like organisms. *Kansenshogaku Zasshi* 2017; 90(6): 787-91.
27. Marucco AP, Minervini P, Snitman GV, Sorge A, Guelfand LI, Moral LL, et al. Comparison of the identification results of *Candida* species obtained by BD Phoenix™ and Maldi-TOF (Bruker Microflex LT Biotyper 3.1). *Rev Argent Microbiol* 2018; 50(4): 337-40.
28. Er H, Koyuncu-Ozyurt O, Ozhak B, Yazısız H, Eres Sarıtaş Z, Cetinkaya O, et al. Evaluation of an automated yeasts identification system for identification of yeast isolates. *Clin Lab* 2020; 66(1).
29. Chao QT, Lee TF, Teng SH, Peng LY, Chen PH, Teng LJ, et al. Comparison of the accuracy of two conventional phenotypic methods and two MALDI-TOF MS systems with that of DNA sequencing analysis for correctly identifying clinically encountered yeasts. *PLoS One* 2014; 9(10): e109376.
30. Posteraro B, Ruggeri A, De Carolis E, Torelli R, Vella A, De Maio F, et al. Comparative evaluation of BD Phoenix and vitek 2 systems for species identification of common and uncommon pathogenic yeasts. *J Clin Microbiol* 2013; 51(11): 3841-45.
31. Lau A, Sorrell TC, Chen S, Stanley K, Iredell J, Halliday C. Multiplex tandem PCR: a novel platform for rapid detection and identification of fungal pathogens from blood culture specimens. *J Clin Microbiol* 2008; 46(9): 3021-7.
32. Lau A, Sorrell TC, Lee O, Stanley K, Halliday C. Colony multiplex-tandem PCR for rapid, accurate identification of fungal cultures. *J Clin Microbiol* 2008; 46(12): 4058-60.
33. 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(3): 811-6.