



Kan Kültürlerinde *Candida* Türlerinin Üreme Süreleri ve Bu Sürenin Kısaltılmasına Yönelik Yaklaşımlar

Growth Time of *Candida* Species in Blood Culture Bottles and Approaches to Improve This Time

Elif Ayça ŞAHİN^(iD), Ayşe KALKANCI^(iD)

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Cite this article as: Şahin EA, Kalkancı A. Kan kültürlerinde *Candida* türlerinin üreme süreleri ve bu sürenin kısaltılmasına yönelik yaklaşımlar. FLORA 2022;27(2):241-8.

ÖZ

Giriş: Hastane kaynaklı *Candida* infeksiyonları tanısı ve tedavisi zor, yüksek maliyetli infeksiyon hastalıklarıdır. Mortalite oranı diğer infeksiyon hastalıklarına göre çok yüksektir. Uygun antifungal tedavinin zamanında başlanması gerekir. Bu nedenle tanı amaçlı kullandığımız kan kültürlerinde *Candida* cinsi maya mantarlarının üreme sürelerini hızlandırabilecek ya da daha hızlı tanımlanmalarını sağlayabilecek yaklaşımların geliştirilmesi önemlidir. Bu çalışmada amacımız, kan kültürlerinde saptanan mayaların üreme sürelerini belirlemek, bu etkenlerin tanımlanmasını sağlayan rutinde kullandığımız karbonhidrat asimilasyon yöntemi ile MALDI-TOF MS yönteminin tanımlama sürelerini karşılaştırmak ve bu etkenlerin kan kültürü şişelerinde üremesini hızlandırabilecek yeni yaklaşımlar geliştirmektir.

Materyal ve Metod: Çalışmada mayaların üremesini hızlandıracağını düşündüğümüz özel mantar besiyeri hazırlanmıştır. *C. albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 90030 kökenlerinin seri dilüsyonları hazırlanarak, özel mantar besiyerine ve standart kan kültür şişelerine ekilmiştir.

Bulgular: Özel mantar besiyeri eklenmiş şişelerdeki ortalama üreme süresi, eklenmemiş şişelerdeki ortalama üreme süresi ile karşılaştırılmıştır. Aerobik şişelere özel mantar besiyeri eklenmesinin özellikle *C. albicans* kökeninde üreme süresini iki saat kısalttığı gözlenmiştir. Fakat kökene bakılmaksızın özel mantar besiyeri eklenmiş şişeler ile eklenmemiş şişelerdeki ortalama üreme süreleri istatistiksel olarak kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0.05$). Bu kan kültürlerinden elde edilen kolonilerin MALDI-TOF MS ile tanımlanması, klasik yöntemlere göre tanımlama süresini 21.5 saat kısalttığı saptanmıştır.

Sonuç: Kan kültürü kandidemi tanısında altın standart yöntemdir. Üreme süresine tür tanımlaması ve duyarlılık testleri eklendiğinde, hedefe yönelik tedavinin başlanması 36-48 saati aşmaktadır. Bu sürenin kısaltılmasına yönelik yaklaşımlar hayat kurtarıcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Candida*; Kan kültürü; MALDI-TOF MS; Tür tanımlama

ABSTRACT

Growth Time of *Candida* Species in Blood Culture Bottles and Approaches to Improve This Time

Elif Ayça ŞAHİN, Ayşe KALKANCI

Department of Medical Microbiology, Gazi University Faculty of Medicine, Ankara, Türkiye

Introduction: Hospital-acquired *Candida* infections are difficult to diagnose and treat, and are costly infectious diseases. Mortality rates are very high when compared to those of other infectious diseases. Antifungal therapy should be initiated without delay. Therefore, it is important to develop an approach that accelerates the fungal growth rate and help faster identification in patients with positive blood cultures with *Candida* species. In this study, our aim is to determine the distribution of yeasts isolated from blood cultures and to determine their growth times, to compare the identification times by MALDI-TOF MS method and by the carbohydrate assimilation method, and to develop new approaches to accelerate their growing time in blood culture bottles.

Materials and Methods: In our study, the special fungal medium, which was thought to accelerate the growth of yeasts, was prepared. Serial dilutions of *C. albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 90030 strains were prepared and inoculated in special fungal medium and standard blood culture bottles.

Results: The mean time to positivity in blood culture bottles supplemented with special fungal medium was compared to blood culture bottles without supplementation. It was observed that the addition of a special fungal medium to the aerobic bottles shortened about two hours the growing time of *C. albicans*. However, no significant difference was found when the mean growth times of the bottles with special fungal medium added and the bottles without added were biostatistically compared, regardless of strain. ($p > 0.05$). The identification of the colonies by MALDI-TOF MS shortened the identification time about 21.5 hours when compared to the classical methods.

Conclusion: Blood culture is the gold standard method in the diagnosis of candidemia. If the identification and the susceptibility testing periods are added into the growth time, the implementation of targeted therapy exceeds 36-48 hours. Any approaches for shortening this period would be life-saving procedures.

Key Words: *Candida*; Blood culture; MALDI-TOF MS; Species identification

GİRİŞ

Vücutta normal flora elemanı olarak bulunan *Candida* türleri özellikle bağırsıklığı baskılanmış ve diğer altta yatan hastalığı olanlarda invaziv enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Kandidemi; tanısı ve tedavisi zor, dolayısıyla yüksek maliyetli bir enfeksiyon hastalığıdır. Ayrıca diğer mikroorganizmaların yaptığı kan dolaşımı enfeksiyonlarına göre mortalitesi çok yüksektir^[1]. Uygun antimikrobiyal tedavinin en hızlı biçimde başlanması morbidite ve mortaliteyi önlemek açısından önemli olduğu gösterilmiştir^[2]. Mikrobiyolojik açıdan enfeksiyon etkeninin ve duyarlılığının hekime en hızlı şekilde bildirilmesi ve uygun tedavinin düzenlenmesi, sonucun laboratuvar tarafından hızla raporlanmasına bağlıdır^[3].

Kan kültürlerinde saptanan *Candida* türleri incelendiğinde *Candida albicans* en sık saptanan etken olmakla birlikte antifungallere dirençli olabilen diğer *Candida* türlerinin izolasyon sıklığı artmaktadır^[4].

Yapılan çalışmalarda kandidemi olgularında her yıl artış olduğu görülmüştür^[5]. Uygun antifungal tedavinin zamanında başlanmamasının, mortalite oranını arttırdığı, hastanede yatış süresini uzattığı gösterilmiştir^[6]. Hasta için antifungal tedavi gecikmesinde her saat önemlidir^[7].

Bu çalışmanın amacı; American Type Culture Collection (ATCC) referans *Candida* kökenlerinin kan kültürlerinde üreme sürelerini belirlemek, bu etkenlerin tanımlanmasını sağlayan rutinde kullandığımız karbonhidrat asimilasyon yöntemi ile MALDI-TOF MS yönteminin tanımlama sürelerini karşılaştırmak ve bu etkenlerin kan kültürü şişelerinde üremesini hızlandırabilecek yeni yaklaşımlar geliştirmektir.

MATERYAL ve METOD

Kan Kültürü

Çalışmamızda kullanılan sistem Bact/Alert (BioMeriux, Fransa) kan kültür sistemidir. Sistem için üretilmiş pek çok besiyeri vardır. Bizim çalış-

mamızda kullandığımız besiyerleri; beyin-kalp katı parçaları eklenmiş peptonla zenginleştirilmiş trip-tik soya buyyonu, ve kandaki antimikrobiyalere ve diğer indirgeyici maddelere bağlanarak onları inaktive eden aktif kömür tozu içeren 30 mL'lik aerobik FAN (FA) ve 40 mL'lik anaerobik FAN (FN) besiyerleridir.

Özel Besiyeri

Mayaları kan kültür cihazında daha hızlı ürete-bilmek için özel bir besiyeri hazırlanmıştır. Beyin kalp infüzyon broth (Conda, İspanya) 7.1 g 200 mL distile su içerisinde çözülüş, %0.1 derişimin-de olacak şekilde potasyum bisülfat (Sigma, ABD) eklenmiş, otoklavda sterilize edilmiştir. Membran filtreden geçirilen 4 mL (%1'lik) sığır serum albü-min (bovine serum albumin, BSA, Wisent, Kanada) eklenmiştir. Özel besiyeri içeriği *Candida* üremesini destekleyen besiyeri ve kimyasallar arasından se-çilmiştir^[8-10]. Hazırlanan bu özel besiyeri aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerine, şişe içeriğinin %10'u olacak şekilde, aerobik şişeye 3 mL ve ana-erobik şişeye 4 mL enjektör aracılığıyla eklenmiştir.

Simülasyon Amaçlı Hazırlanan Kan Kültür Şişeleri

Referans kökenler olan *C. albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 90030 kökenleri 10¹, 10², 10³ hücre/mL konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Hastanemiz kan merkezinden temin edilen insan eritrosit süspansiyonunun 10 mL'sine bu maya süspansiyonlarından 1 mL eklenmiştir. Eritrosit ve maya karışımının tamamı, standart aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerine ve özel besiyeri eklenmiş aerobik ve ana-erobik kan kültür şişelerine eklenmiştir (Bact/Alert Aerobic/FA Medium, Bact/Alert Anaerobic/FAN Medium, ve özel maya besiyeri eklenmiş Aerobic/FA ve Anaerobic/FAN Medium) (son konsantras-yon 10, 100, 1000 hücre/şişe). Her konsantras-yon ve tür için 12 kan kültür şişesi hazırlanmıştır. Aerobik şişeler beş gün, anaerobik şişeler yedi gün inkübasyona bırakılmıştır. Cihaza yerleştirildiği saat ve pozitif sinyal verdiği saat kaydedilmiştir.

Candida İzolasyonu ve Tanımlama

Sinyal veren kan kültür şişelerinden Gram boyama yapılmış ve maya hücreleri görülmüş-tür. Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerine enjektör aracılığıyla alınan 0.5 mL kan inoküle

edilmiştir. 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bı-rakılmıştır. Üreyen kolonilere çimlenme borusu testi, karbonhidrat asimilasyonu testi (API ID32C, BioMerieux, Fransa), mısır unu-tween 80 agarda morfolojik inceleme sonucuna göre tür düzeyinde tanımlama yapılmıştır. Tanımlama için geçen süre kaydedilmiştir.

Üreme Olan Besiyerinden Koloniye Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Tanımlama Yapılması

VITEK MS (BioMerieux, Fransa) cihazı kullanıla-rak üreyen maya kolonileri tanımlanmıştır. Koloni-lerinden bir parça, öze yardımıyla alınmış, tanımla-ma slaytı (target slayt) üzerinde bulunan, üç tanesi kalite kontrol için kullanılan 51 adet kuyucuktan (spot) her birine bir adet köken olacak şekilde ince bir tabaka halinde yayılmıştır. Bu tabakaya 0.5 µL %25 formik asit ve 1 µL matriks solüsyonu CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) eklenmiştir. Kalite kontrol kökeni olarak *E. coli* 8739 kullanılmıştır. Hazırlanan slayt 1-2 dk kurumaya bırakılmış ve VITEK MS cihazına yüklenmiştir. Mayanın isimlen-dirilmesine kadar geçen süre kaydedilmiştir.

Şişeden Direkt MALDI-TOF MS Tanımlama Yapılması

Pozitif sinyal veren şişeden enjektörle 1 mL sıvı alınıp 2 mL'lik kapaklı ependorf içine konuldu. -20°C'de beş dakika bekletildi. Eritrositleri parça-lamak amaçlı 3 mL lizis buffer kullanıldı 10.000 devirde santrifüj edildi. Üst kısımdaki sıvı döküldü. Dipte kalan pellet beyaz renge dönene kadar aynı işlem tekrar edildi. Üzerine 1 mL stop solüsyonu (PBS) eklendi. Materyal metal slayta yayıldı. Üze-rine 0.5 µL %25 formik asit ve 1 µL matriks solüsyonu CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) eklendi. Kalite kontrol kökeni olarak *E. coli* 8739 kullanıldı. Hazırlanan slayt 1-2 dakika kurumaya bırakıldı ve firmanın önerileri doğrultusunda VITEK MS cihazı kullanılarak tanımlama yapıldı.

SPSS ile Ortalama Üreme Sürelerinin Karşılaştırılması

Özel mantar besiyeri eklenmiş şişeler ile ek-lenmemiş şişelerdeki ortalama üreme süreleri IBM SPSS Statistics 25 programında T testi ile p değeri bakılarak karşılaştırılmıştır.

BULGULAR**Kan Kültüründe Üreme Süreleri**

Çalışmada kullanılan *C. albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 90030 kökenleri üç farklı konsantrasyonda ve dört farklı kan kültür şişesine ve özel maya besiyeri eklenmiştir. Bu işlem iki kez tekrar edilmiştir.

Kökenlerin kan kültür şişesinde saptanmasından sonra ekilen kanlı agarda üreme süresi *C. parapsilosis* ve *C. albicans*'ta ortalama 20 saat, *C. glabrata*'da ortalama 23 saat olarak belirlenmiştir. Koloniye Gram boyama yapılması 15 dakika, çimlenme borusu testi iki saat sürmüştür. Karbonhidrat asimilasyonu (API ID32 C) ile tanımlama için geçen süre ortalama 22 saat, VITEK MS ile tanımlama için geçen süre ortalama 32 dakika olarak belirlenmiştir. Türlerin şişelere göre ortalama üreme süreleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Özel Besiyeri Sonuçları

Şişelerin türlere göre ortalama üreme süreleri karşılaştırıldığında, *C. albicans* kökeninde tüm konsantrasyonlarda özel besiyeri eklenmiş aerobik şişede eklenmemiş aerobik şişeye göre yaklaşık iki saat erken üreme saptanmıştır. *C. glabrata* kökeninde ise özel besiyeri eklenmiş aerobik şişede eklenmemiş aerobik şişeye göre 0.4 saat erken üreme saptanmıştır.

C. albicans kökeninde tüm konsantrasyonlarda özel besiyeri eklenmiş anaerobik şişede, eklenmemiş anaerobik şişeye göre yaklaşık 2.2 saat geç üreme saptanmıştır. *C. parapsilosis* kökeninde ise özel besiyeri eklenmiş anaerobik şişede eklenmemiş anaerobik şişeye göre 2.5 saat geç üreme saptanmıştır. Ekilen tüm aerobik şişelerde (özel besiyeri eklenmiş ve eklenmemiş) tüm konsantrasyonlarda üreme saptanmıştır. Özel besiyeri eklenmemiş anaerobik şişelerde *C. parapsilosis* ve *C. albicans* kökenlerinde 10 hücre/şişe konsantrasyonda iki kere deneme yapılmasına rağmen üreme saptanamamıştır. Aynı konsantrasyonda özel mantar besiyeri eklenmiş anaerobik şişelerde ise üreme olduğu gözlenmiştir.

Tablo 1'de kökenlere göre ortalama üreme süreleri karşılaştırıldığında simülasyon amacıyla kullandığımız kökenlerden *C. glabrata* en kısa sürede (13.45 saat) sinyal veren köken olarak saptanırken *C. parapsilosis* en uzun sürede (26.74 saat) sinyal veren köken olarak bulunmuştur.

Biyoistatistiksel olarak özel mantar besiyeri eklenmiş şişeler eklenmemiş şişeler ile karşılaştırıldığında ortalama üreme sürelerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Pozitiflik veren kan kültür şişelerindeki *Candida* cinsi mayaların tür düzeyinde tanımlanması için

Tablo 1. Şişelerin türlere göre ortalama üreme sürelerinin karşılaştırılması (saat)

Mikroorganizma	Besiyeri	Ortalama	Sayı	En kısa	En uzun
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	Aerobik şişe	23.96	3	19.31	29.02
	Anaerobik şişe	21.52	2	18.23	24.81
	Özel besiyeri eklenmiş aerobik şişe	21.91	3	18.66	25.37
	Özel besiyeri eklenmiş anaerobik şişe	23.75	3	17.04	30.57
	Ortalama	22.90	11	17.04	30.57
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	Aerobik şişe	13.34	3	10.93	15.82
	Anaerobik şişe	13.69	3	11.60	16.35
	Özel besiyeri eklenmiş aerobik şişe	12.95	3	10.37	15.48
	Özel besiyeri eklenmiş anaerobik şişe	13.81	3	11.45	16.02
	Ortalama	13.45	12	10.37	16.35
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	Aerobik şişe	26.96	3	22.33	31.85
	Anaerobik şişe	25.56	2	22.80	28.33
	Özel besiyeri eklenmiş aerobik şişe	27.06	3	22.17	31.85
	Özel besiyeri eklenmiş anaerobik şişe	27.10	2	25.87	28.33
	Ortalama	26.74	10	22.17	31.85

klasik yöntemler kullanıldığında geçen süre ile VITEK MS kullanıldığında geçen süre karşılaştırılmıştır. Kan kültür pozitiflik süresi dahil olmak üzere, VITEK MS sistemi aerobik şişe, anaerobik şişe, özel besiyeri eklenmiş aerobik şişe ve özel besiyeri eklenmiş anaerobik şişede sırasıyla 45.2; 43.1; 44.4; 44.6 saatte maya kökenlerini tanımlamıştır. Klasik tanımlama sırasıyla 66.6; 64.5; 65.8; 66.1 saatte tamamlanmıştır. Bu sonuçlara göre VITEK MS'in, klasik yöntemlerle tanımlamaya göre *Candida*'ları yaklaşık 21.5 saat daha erken tanımladığı görülmüştür. Bu sonuçlar Şekil 1'de gösterilmiştir.

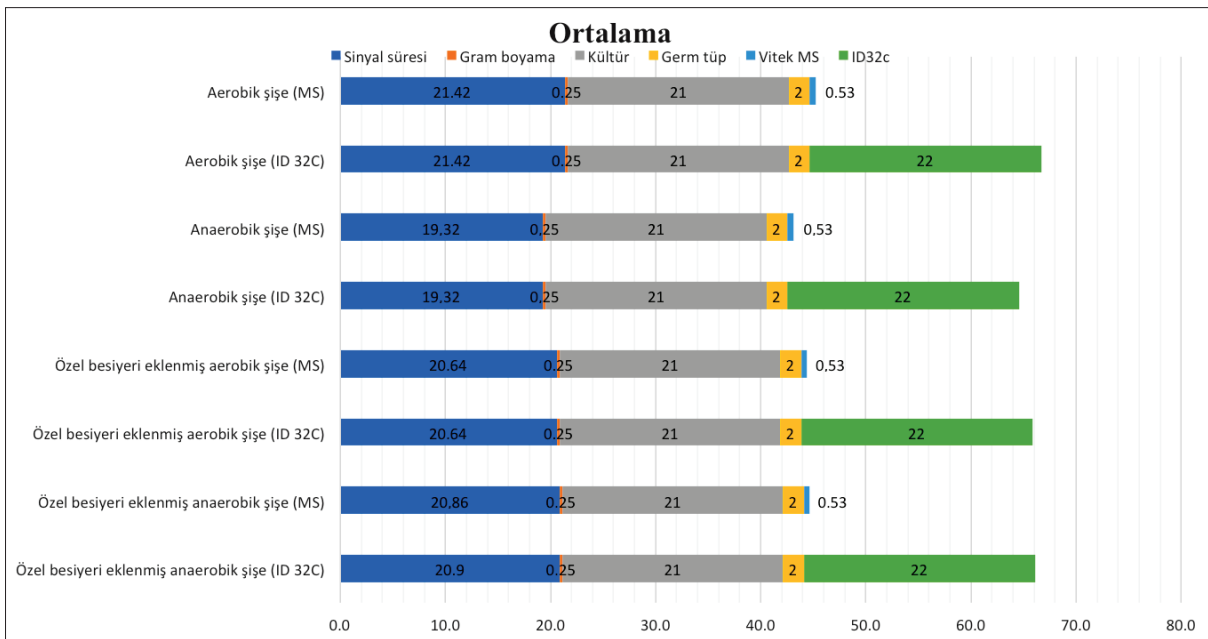
Çalışmamızda, üreme olan şişeden direk MALDI-TOF MS tanımlaması amacıyla uygulanan protokol sonucunda, referans kökenler cihaz tarafından tanımlanamamıştır.

TARTIŞMA

Candida'ya bağlı hastane kaynaklı kan dolaşımı infeksiyonları tüm kan dolaşımı infeksiyonları içinde dördüncü sırada bulunmaktadır^[11]. Dünyanın pek çok bölgesinde ve Türkiye'den yapılan çalışmalarda *C. albicans* en sık izole edilen tür olmuştur. Bununla birlikte *C. albicans* dışında *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* gibi türler de sıklıkla izole edilmeye başlanmıştır^[12,13]. Ülkemizde kandidemi hızı ve tür dağılımı

ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Burada bunlardan birkaç tanesine yer verilebilmiştir. Gültekin ve arkadaşlarının^[14] yaptığı bir çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi'nde yedi yıllık dönemdeki kan kültürleri incelenmiş olup izole edilen *Candida* türlerinden %36'sı *C. albicans*, %23'ü *C. parapsilosis*, %14'ü *C. tropicalis*, %12'si *C. glabrata* olarak saptanmıştır. Alışkan ve arkadaşlarının^[15] Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yaptığı bir çalışmada 163 kandidemi olgusunun %48.5'inde *C. albicans*, %32.9'unda *C. parapsilosis*, %6.1'inde *C. tropicalis*, %6.1'inde *C. famata*, %3'ünde *C. glabrata* ürettiği gösterilmiştir. Atalay ve arkadaşlarının^[16] Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yaptığı bir çalışmada iki yıllık sürede laboratuvara gelen kan kültürleri takip edilmiş 97 kandidemi olgusu saptanmıştır. Bu olguların %68'inde *C. albicans*, %14.5'inde *C. parapsilosis*, %9.3'ünde *C. glabrata*, %3.1'inde *C. tropicalis*, % 4.1' inde *C. krusei* ürettiği gösterilmiştir.

Candida türlerinin kan kültüründe üreme süresi üzerine yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Kan kültür sistemleri, aerobik ve anaerobik şişeler, besiyerine yapılan eklentilerin üreme zamanına etkisi araştırılmıştır. Nylen ve arkadaşlarının^[10] yaptığı bir çalışmada *Candida* türlerinin saptanma zamanını karşılaştırmak için Bactec Mycosis IC/F,



Şekil 1. Tüm kökenlerin tanımlanmasında ID 32C ve VITEK MS'in karşılaştırılması (ortalama saat).

Bactec Plus Aerobic/F, Bactec Peds Plus/F, BacT/Alert FA, BacT/Alert PF kullanılmış, ayrıca üremeyi hızlandırmak için at kanı, hemin isovitalex albümin (HIA), nikotinamid adenin dinükleotidi ve brain heart infüzyon agar eklenen kan kültür şişelerinde saptanma zamanı gözlenmiştir. *Candida* türlerinde ekleme yapılan kan kültür şişeleri ile yapılmayanlar arasında saptanma oranı ve zamanında anlamlı bir fark görülmemiştir. *Candida* kökeninin saptanma zamanının Mycosis IC/F şişesinde anlamlı şekilde daha kısa olduğu gözlenmiştir.

Bizim çalışmamızda türe bakmadan özel besiyeri eklediğimiz şişeler ile eklenmeyenler karşılaştırıldığında ortalama üreme süresinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Fakat türe göre üreme süresinin etkilendiği gözlenmiştir. Özellikle *C. albicans* kökeninde aerobik şişeye özel besiyeri eklenmesi ortalama üreme süresini kısaltmış, ancak anaerobik şişeye özel besiyeri eklenmesi üreme süresini uzatmıştır. *C. parapsilosis* kökeninde ise özel besiyeri eklenmesi anaerobik şişede üreme süresini uzatmış, ancak aerobik şişede üreme süresini etkilememiştir. Daha çok şişe simüle edilip, *C. albicans* kökeninde aerobik şişeye özel besiyeri eklenmesi ile ortalama üreme süresinin köken bazında düşüp düşmediği araştırılabilir.

Çalışmada, aerobik şişelerin hepsinde üreme saptanmıştır. *C. parapsilosis*'in 10^1 hücre/mL konsantrasyonda eklendiği anaerobik ve özel mantar besiyeri bulunan anaerobik şişelerde üremediği saptanmıştır. *C. albicans*'ın 10^1 hücre/mL konsantrasyonda eklendiği anaerobik şişelerde üreme olmamıştır. Düşük konsantrasyonlarda maya bulunduğu kan kültüründe saptanma olasılığının düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca anaerobik ortamın maya üremesini olumsuz etkileyebileceği düşünülmüştür. *C. glabrata*'nın tüm konsantrasyonlarda ve tüm şişelerde ürediği gözlenmiştir. Genelde çalışmalarda *C. glabrata*'nın diğer türlere göre daha geç ürediği saptanırken^[17], bizim çalışmamızda özel mantar besiyeri eklenmiş ve eklenmemiş şişelerde diğer türlere göre daha hızlı ürediği saptanmıştır.

Candida cinsi bir maya kan kültüründe üredikten sonra, tür düzeyinde tanımlanması ve antifungal duyarlılık testlerinin sonuçlandırılması süresi

48-72 saate kadar uzamaktadır. *Candida* cinsi mayaların tür düzeyinde tanımlanmaları için çimlenme borusu testi, karbonhidrat asimilasyon testleri uygulanmalı ve mısır unu-tween 80 agarda morfolojik özelliklerine bakılmalıdır. Tür tanımı devam ederken, eş zamanlı antifungal duyarlılık testleri referans yöntem olan mikrodilüsyon ile yürütülmelidir. Tür tanımlamasını hızlandırmak için üreyen koloniden ve doğrudan kan kültür şişesinden MALDI-TOF MS ile tanımlama yapılabileceğine dair yayınların sayısı her geçen gün artmaktadır. Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Yaman ve arkadaşlarının^[18] yaptığı bir araştırmaya göre 281 kan kültüründen izole edilen *Candida* kökenleri ve üç farklı standart kökenin (*C. lusitanae*, *C. krusei* ve *C. albicans*) VITEK 2 YST (BioMerieux, Fransa) cihazı ve MALDI-TOF MS (Bruker Autoflex) cihazında tanımlamaları yapılmıştır. MALDI TOF-MS yönteminin *Candida* türlerinin tanımlanmasında kullanılabilecek hızlı bir yöntem olduğu ortaya konulmuştur^[17,18].

Spanu ve arkadaşlarının^[19] yaptığı bir çalışmada, kandidemi olgularının kan kültürlerinde üreyen koloniden MALDI-TOF MS (Bruker Autoflex) sistemi ile tanımlama yapılmış, daha sonra pozitif kan kültür şişelerinden direkt MALDI-TOF MS ile yapılan tanımlamayla karşılaştırılmıştır. 316 pozitif kan kültür şişesinin 280 tanesi (%88.6) direkt tanımlama ile doğru tanımlanmıştır. Bu sonuçlara göre kan kültür şişelerine direkt MALDI-TOF MS uygulanmasının, *Candida* tanımlamada rutin yöntemlere göre 24 saatten fazla zaman kazandırdığı kanıtlanmıştır. Tedaviye erken başlamanın çok önemli olduğu kandidemi olgularında bu yöntemin uygulanmasının önemi vurgulanmıştır^[19-22]. Bizim çalışmamızda, MALDI-TOF MS ile koloninin tanımlanması, klasik yöntemlerle karşılaştırıldığında, tüm kökenlerde tanımlama süresini ortalama 21.5 saat kısaltmıştır. Çalışmamızda, doğrudan kan kültür şişesinden yapılan MALDI-TOF MS tanımlaması başarılı olmamıştır.

Antifungal tedavinin başlanma zamanı hasta-ne kaynaklı *Candida* nedenli mortalitede büyük etkiye sahiptir. Çalışmalarda antifungal tedaviye başlamada geciken her saatin mortaliteyi artırdığı gösterilmiştir. En uygun antifungal tedaviye başlayabilmek için kuşkusuz ki, en erken ve en doğru tanı yönteminin kullanılması gerekmektedir.

dir.^[23] Huang ve arkadaşlarının^[24] bakteriyemi ve kandidemi hastalarında mikroorganizmayı tanımlamak için MALDI-TOF MS ve konvansiyonel yöntemleri karşılaştırdıkları çalışmada, hızlı tanının mortalite ve hastane yatış süresi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Buna göre konvansiyonel yöntem ile tanımlanan hastalara göre MALDI-TOF MS tanımlaması yapılan hastaların kan kültüründe mikroorganizmanın ortalama 18 saat daha geç tanımlandığı saptanmıştır. Antimikrobiyal tedavinin geç başlanması nedeniyle 30 günlük mortalitenin yaklaşık %8 daha fazla olduğu belirtilmiştir.

Taur ve arkadaşlarının^[25] yaptığı bir çalışmada, kandidemili kanser hastalarında antifungal tedavi zamanlamasının mortalite üzerine ilişkisi araştırılmıştır. Kan kültürünün alınmasından pozitiflik verdiği zamana kadar olan süre, uzman kişinin *Candida* tanısını koyup kliniğe bildirme süresi, kliniğin bu tanıyı öğrenip antifungal başladığı zamanı ve toplam süre hesaplanmıştır. Sonuç olarak inkübasyon süresinin uzunluğunun anlamlı şekilde mortaliteyi etkilediği ve bu süreyi kısaltacak yöntemlere önem verilmesi gerektiği bildirilmiştir.

Çalışmada laboratuvarımızda hali hazırda bulunan BacT/Alert kan kültür cihazı kullanılmıştır. Bu cihazda kullanılabilecek mantarlara özel kan kültür şişesi, çalışmanın yapıldığı 2018 yılında üretilmemiştir. Bactec (Becton Dickinson, ABD) cihazına ait Mycosis IC/F şişesi (mantarlar için özel olarak üretilmiş şişe) ise piyasada mevcuttur. Fakat laboratuvarımızda bu cihazın bulunmaması nedeniyle çalışmamızdaki özel mantar besiyerindeki üremeler bu şişe ile kıyaslanamamıştır. Bu durum bu çalışmanın önemli bir kısıtlılığıdır. Ticari olarak üretilmiş olan kan kültür şişeleri kapalı bir sistemdir. İçerisine madde eklendiğinde şişe kontaminasyonu olabileceği gibi; içerisinde bulunan sıvı besiyeri miktarı arttığından, kan kültür şişesine konulan kan örneğinin içerdiği mikroorganizma oranının da azalacağı göz önünde bulunmalıdır. Ayrıca simüle kan kültürü yapıldığından sağlıklı insan eritrosit süspansiyonu kullanılmış olup, antimikrobiyal tedavi altında olan ya da infeksiyon durumunda alınan kanda farklı sonuçlar olabilir. Dolayısıyla kandidemisi olan hastalardan izole edilmiş klinik izolatlar ile ileri araştırmalar yapılmalıdır.

Sonuç olarak; *Candida* cinsi mayaların kan kültüründe üreme süreleri ve tür düzeyinde tanım-

lanmaları için geçen sürenin uzun olması, hedefe yönelik tedavi başlanmasını geciktirmektedir. Bu nedenle kan kültür şişelerinin mayayı daha hızlı üretebilmesini sağlayacak düzenlemeler yapılabilir. MALDI-TOF ile koloniden tanımlama yapılışı tür tanımını 21.5 saat kısaltmıştır. Yüksek mortaliteye sahip kandidemi olgularında tedavinin başlanmasını hızlandıracak her türlü yaklaşımın mortaliteyi azaltacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma ilk yazarın tıpta uzmanlık tez çalışması olup, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından 01/2017-18 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma 2018 yılında yapılmış olup, insanlara ya da hayvanlara ait herhangi bir materyal/ veri kullanılmadığı için etik kurul onayı alınmamıştır. Kullanılan suslar laboratuvar ortamında üretilen standart suslardır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: EAŞ, AK

Analiz/Yorum: EAŞ, AK

Veri sağlama: EAŞ

Yazım: EAŞ

Gözden Geçirme ve Düzeltme: AK

Onaylama: EAŞ, AK

KAYNAKLAR

1. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: A comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis* 1983;5:35-53. <https://doi.org/10.1093/clinids/5.1.35>
2. Nucci M, Colombo AL, Silveira F, Richtmann R, Salomao R, Branchini ML, et al. Risk factors for death in patients with candidemia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998;19:846-50. <https://doi.org/10.2307/30141563>
3. Lin S, Chen R, Zhu S, Wang H, Wang L, Zou J, et al. Candidemia in adults at a tertiary hospital in china: Clinical characteristics, species distribution, resistance, and outcomes. *Mycopathologia* 2018;183:679-89. <https://doi.org/10.1007/s11046-018-0258-5>

4. Ishikane M, Hayakawa K, Kutsuna S, Takeshita N, Ohmagari N. Epidemiology of blood stream infection due to *Candida* species in a tertiary care hospital in Japan over 12 years: Importance of peripheral line-associated candidemia. *PLoS One* 2016;11:e0165346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165346>
5. Spiers R, Smyth B, Lamagni T, Rooney P, Dorgan E, Wyatt T, et al. The epidemiology and management of candidemia in Northern Ireland during 2002-2011, including a 12-month enhanced case review. *Med Mycol* 2019;57:23-9. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx165>
6. 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;43:25-31. <https://doi.org/10.1086/504810>
7. Puig-Asensio M, Padilla B, Garnacho-Montero J, Zaragoza O, Aguado JM, Zaragoza R, et al. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in *Candida* bloodstream infections: A population-based surveillance in Spain. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:245-54. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12380>
8. Atlas RM. Handbook of microbiological media. 3rd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press;2004.
9. De Hoog GS. Atlas of Clinical Fungi. 2nd ed. ASM Press;2000.
10. Nylen T, Saeedi B, Borg C, Ullberg M, Ozenci V. The performance of 4 different supplements and 5 blood culture bottles types in detection of bacteria and *Candida* spp. in simulated sterile body fluid cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;77:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.017>
11. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: A three-year analysis. *Clin Infect Dis* 1999;29:239-44. <https://doi.org/10.1086/520192>
12. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, Azie N, Meier-Kriesche HU, Quan SP, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance(R)) registry, 2004-2008. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;74:323-31. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.10.003>
13. Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, et al. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol* 2004;42:1519-27. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1519-1527.2004>
14. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. *ANKEM*. 2010;24:202-8.
15. Alışkan HE, Bozkırlı ED, Çolakoğlu Ş, Demirbilek M. Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve non-*albicans Candida* türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin irdelenmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2016;73:15-24. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2016.49369>
16. Atalay MA, Sav H, Demir G, Koç N. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve amfoterisin B ve flukonazole in vitro duyarlılıkları. *Selçuk Tıp* 2012;28:149-51.
17. Lai CC, Wang CY, Liu WL, Huang YT, Hsueh PR. Time to positivity of blood cultures of different *Candida* species causing fungemia. *J Med Microbiol* 2012;61:701-4. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.038166-0>
18. Yaman G, Akyar I, Can S. Evaluation of the MALDI TOF-MS method for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73:65-7. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.01.013>
19. Spanu T, Posteraro B, Fiori B, D'Inzeo T, Campoli S, Ruggeri A, et al. Direct MALDI-TOF mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* 2012;50:176-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.05742-11>
20. Phoompoung P, Chayakulkeeree M. Recent progress in the diagnosis of pathogenic *Candida* species in blood culture. *Mycopathologia* 2016;181:363-9. <https://doi.org/10.1007/s11046-016-0003-x>
21. Ferroni A, Suarez S, Beretti JL, Dauphin B, Bille E, Meyer J, et al. Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2010;48:1542-8. <https://doi.org/10.1128/JCM.02485-09>
22. Panda A, Ghosh AK, Mirdha BR, Xess I, Paul S, Samantaray JC, et al. MALDI-TOF mass spectrometry for rapid identification of clinical fungal isolates based on ribosomal protein biomarkers. *J Microbiol Methods* 2015;109:93-105. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.12.014>
23. 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(7):9-18. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12038>
24. Huang AM, Newton D, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Isip J, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin Infect Dis* 2013;57:1237-45. <https://doi.org/10.1093/cid/cit498>
25. Taur Y, Cohen N, Dubnow S, Paskovaty A, Seo SK. Effect of antifungal therapy timing on mortality in cancer patients with candidemia. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:184-90. <https://doi.org/10.1128/AAC.00945-09>

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Elif Ayça ŞAHİN

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Ankara-Türkiye

E-posta: elifaycaunal@gmail.com