

Candida suşlarının tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyerinin performansının değerlendirilmesi

Assessment of the performance of CHROMagar Candida media in identification of Candida strains

Sami Kınıklı¹, Esra Kaya Kılıç¹, Kader Arslan¹, Salih Cesur¹, Çiğdem Ataman Hatipoğlu¹, Serap Yağcı², Bedia Dinç², Nilgün Karabıçak³

¹Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

²Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

³Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Candida* enfeksiyonlarının tedavisi *Candida* türlerine göre farklılık göstermektedir. Rutin ve klasik yöntemlerle identifikasyon birkaç günü alabilmektedir. Bu nedenle, etkili antifungal tedavinin başlanabilmesi için *Candida* türlerinin hızlı tanısı önemlidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya dahil edilen 61 *Candida* suşu CHROMagar *Candida* besiyerine ekilip üreticinin önerileri doğrultusunda uygun şartlarda inkübe edildikten sonra, 24. ve 48. saatlerde değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmada CHROMagar *Candida* besiyeri ile referans yöntemler karşılaştırıldığında, CHROMagar *Candida* ile 61 örneğin 36'sında (%40,9) referans yöntemle aynı tür tayini saptanmıştır. Yirmi beş örnekte (%59,1) ise CHROMagar *Candida* besiyerinde *Candida* türleri üremiş ancak tür tayini yapılamamıştır.

Sonuç: CHROMagar *Candida* besiyeri germ tüp testine göre *Candida albicans*'ın yanı sıra, *Candida parapsilosis* türlerinin ayırımına imkan sağlamasına rağmen, diğer *Candida* türlerin ayırımına imkan sağlamaması, farklı renkler nedeniyle sorunlar yaşanması ve maliyetinin yüksek olması dezavantajlarıdır.

Anahtar Kelimeler: *Candida* türleri, hızlı tanı, kromojenik besiyeri

ABSTRACT

Objective: The treatment of *Candida* infections differs according to *Candida* species. The identification by routine and conventional methods can take several days. For this reason, rapid diagnosis of *Candida* species is important for initiating an effective antifungal therapy.

Material and Method: Sixty one *Candida* strains included in the study were evaluated at 24th and 48th hours after they were cultivated on CHROMagar *Candida* medium and incubated under appropriate conditions in accordance with the manufacturer's recommendations.

Results: When CHROMagar *Candida* medium and reference methods were compared in the study, it was found that CHROMagar *Candida* and reference method were detected the same species in 36 of the 61 samples (40.9%). *Candida* species were produced in CHROMagar *Candida* medium in 25 samples (59.1%) but the identification of species could not be made.

Conclusion: The CHROMagar *Candida* medium allows the discrimination of *Candida parapsilosis* species as well as *Candida albicans* according to the germe tube test, but does not allow the discrimination of other *Candida* species. It also has disadvantages of having problems due to different colors and high cost.

Keywords: *Candida* species, rapid diagnosis, chromogenic medium

Sorumlu Yazar: Sami Kınıklı, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, 06230, Altındağ, Ankara, Türkiye

E-posta: dr_sami_kinikli@hotmail.com

Geliş Tarihi: 05.07.2018

Kabul Tarihi: 25.07.2018

Corresponding Author: Sami Kınıklı, Ankara Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, 06230, Altındağ, Ankara, Turkey

E-mail: dr_sami_kinikli@hotmail.com

Received: 2018.07.05

Accepted: 2018.07, 50-53

Cite this article as: Kınıklı S, Kaya Kılıç E, Arslan K, Cesur S, Ataman Hatipoğlu Ç, Yağcı S, Dinç B, Karabıçak N. *Candida* suşlarının tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyerinin performansının değerlendirilmesi. J Health Sci Med 2018; 1(3): 50-53.

GİRİŞ

Kromojenik besiyerleri bazı bakteri cinsleri (örneğin metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, van-komisine dirençli enterokok vb.) ve *Candida* türlerini türe spesifik enzim aktivitesine göre oluşan koloni rengi ile ayrımlarını sağlayan hızlı tanı yöntemlerinden biridir. Bu amaçla kullanılan besiyerlerinden biri de CHROMagar *Candida* besiyeridir. *Candida* türlerinin ayırımında kullanılan kromojenik besiyerlerinin *Candida albicans* (*C. albicans*), *C. krusei* ve *C. tropicalis* suşlarında spesifik koloni rengi oluşturduğu bildirilmiştir. Bu besiyerlerinin en büyük avantajı standart mikolojik testlere göre daha hızlı ön tanıya imkan sağlamalarıdır [1-3]. Bu besiyerlerinin dezavantajları ise; geniş bir renk yelpazesine sahip olmaları nedeniyle bazı türleri ve çok sayıda *Candida* türünü tanımlamakta zorluk yaşanması ve standart mantar besiyerlerine göre pahalı olmasıdır. *Candida* türlerinin tanımlanmasında kullanılan başlıca kromojenik besiyerleri; CHROMagar *Candida*, Chromogenic *Candida* agar, Sabouraud kloramfenikol agar gibi besiyerleridir [1-4].

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarının tür ayırımında CHROMagar *Candida* kromojenik besiyerinin, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK) Mikoloji Referans Laboratuvarı'nın bildirdiği kesin tür tayini sonuçları ile karşılaştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 61 *Candida* suşu dahil edilmiştir.

Candida suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı Tablo 1'de gösterildi.

THSK Mikoloji Referans Laboratuvarı'nda germ tüp testi, mısır unlu-Tween 80 besiyerinin-

Tablo 1. *Candida* türlerinin izole edildiği klinik örnekler

Örnek türü	Sayı	(%)
Kan kültürü	29	47,5
Kateter içi kan kültürü	18	29,5
Derin trakeal aspirat	6	9,8
İdrar	4	6,5
Yara	1	1,6
Periton sıvısı	1	1,6
Konjunktival sıvı	1	1,6
Toplam	61	

deki morfolojik görünümüleri, 42 °C de üreme, Api ID 32C (bioMérieux, Fransa) kiti ile saptanan asimilasyon özellikleri birlikte değerlendirilerek tür tayini yapılan 61 *Candida* suşu kromojenik CHROMagar *Candida* besiyerine ekildikten 24-48 sat sonra üreticinin önerilerine göre değerlendirildi 5]. *Bu besiyerinde C. albicans* kolonileri açık ila orta yeşil, *C. tropicalis* kolonileri mavimsi-yeşil ile metalik-mavi ve *C. krusei* kolonileri ise beyaz sınırları olan açık gül rengi, *C. parapsilosis* beyaz renkte, *C. glabrata* pembe renkte görünür. **Resim 1** ve **2**'de CHROMagar *Candida* besiyerinde farklı renklerde refle veren *Candida* türleri görülmektedir. Diğer maya türleri doğal renklerini (krem rengi) geliştirebilir veya gül rengi veya açık ila koyu leylak renkte görünebilir. Bu besiyeri farklı renklerde koloni görünümüleri sebebiyle karma maya kültürlerinin saptanmasına da imkan sağlar [1-3].

BULGULAR

Çalışmamızda CHROMagar *Candida* besiyeri sonuçları ile THSK Mikoloji Referans Laboratuvarınca bildirilen kesin tür tayini sonuçları karşılaştırıldığında, CHROMagar besiyeri ile 61 örneğin 36'sında (%40,9) THSK ile aynı tür tayini saptanmıştır. Yirmi beş örnekte (%59,1) ise CHROMagar besiyerinde *Candida* üremiş ancak tür tayini yapılamamıştır.

CHROMagar yöntemi ile referans yöntemler tür düzeyinde karşılaştırıldığında; CHROMagar *Candida* besiyeri 20 *C. albicans* suşunun 18'ini (%90), 18 *C. parapsilosis* suşunun 15'ini (%83,3) saptayabilmiş ancak 11 *C. glabrata*, 8 *C. tropicalis*, 2 *C. kefyr*, 1 *C. lusitaniae* ve 1 *C. dubliniensis* suşlarının alt tür tayinini yapamamıştır. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı'nda tür tayini yapılan toplam 61 *Candida* suşunun dağılımı Tablo 2'de gösterildi.

Tablo 2. Kesin tür tayini yapılan *Candida* suşlarının dağılımları*

<i>Candida</i> türü	Sayı
<i>C. albicans</i>	20
<i>C. parapsilosis</i>	18
<i>C. glabrata</i>	11
<i>C. tropicalis</i>	8
<i>C. kefyr</i>	2
<i>C. lusitaniae</i>	1
<i>C. dubliniensis</i>	1
Toplam	61

(*) *Candida* tür tayini Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikoloji Referans Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir

Resim 1. CHROMagar *Candida* besiyerinde açık yeşil renkte *C. albicans* kolonileri



Resim 2. Üstte gül rengi refle veren *C. krusei* ve altta beyaz renk refle veren *C. parapsilosis* kolonileri



TARTIŞMA

Günümüzde mikrobiyoloji laboratuvarlarında hızlı tanı sağlayan kromojenik besiyerlerinin kullanımı ile erken tanı koymak mümkündür. CHROMagar *Candida* besiyeri mantarların izolasyonu için seçici ve ayırt edici bir besiyeridir. Besiyerine kromojenik maddelerin ilave edilmesi, *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* kolonileri farklı renkler oluşturarak, bu maya türlerinin izolasyonuna imkan verir. Besiyerinde bulunan kloramfenikol kontaminant bakterilerin üremesini engeller. Yapılan çalışmalarda *C. albicans*, *C. tropicalis*, ve *C. krusei* için daha ileri düzeyde tanımlama testlerinin gerekli olmadığı bildirilmiştir [1-6].

Bu besiyerinde *C. albicans* kolonileri tipik olarak yeşil renk oluşturur. Oluşan bu yeşil renk germ tüp testi gerekmezsiniz *C. albicans* türünün diğer *Candida* türlerinden ayırımına imkan sağlar. Bu besiyeri aynı zamanda *C. krusei* ile *C. tropicalis*'in diğer *Candida* türlerinden ayırımını da sağlayabilmektedir. *C. dubliniensis*'in ayırt edici koyu yeşil renk oluşturduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu özellik alt kültürde devam etmeyebilir. *C. dubliniensis*'in doğrulanması için ilave fenotipik ve genotipik testler gereklidir [7,8]. Kromojenik besiyeri ile *C. albicans*'ın *C. dubliniensis*'den ayırımı mümkün değildir. CHROMagar agar *Candida* besiyerine ilave supplement eklenmesi ile elde edilen yeni bir kromojenik besiyeri ile bu ayırımın yapılabildiği bildirilmiştir [9].

Mantar kültüründe yaygın olarak kullanılan Sabouraud Dexroz agar besiyerine göre bakteriyel üremeyi baskılayıcı özelliğinin de daha iyi olduğu bildirilmiştir [2].

Sunduğumuz çalışmada, CHROMagar *Candida* besiyeri ile THSK Mikoloji Referans Laboratuvarı'nın bildirdiği kesin tür tayini sonuçları referans yöntem olarak alınarak karşılaştırıldığında, CHROMagar *Candida* ile 61 örneğin 36'sında (%40,9) referans yöntemle aynı tür tayini saptanmıştır. Yirmi beş örnekte (%59,1) ise *Candida* saptanmış ancak kromojenik agarla tür tayini yapılamamıştır.

Odds ve ark. [2] CHROMagar *Candida* besiyerinin duyarlılık ve özgüllük oranlarını sırasıyla; 285 *C. albicans* suşunda %100, 54 *C. tropicalis* suşunda %99, *C. krusei* suşlarında ise %99 ve %100 olarak bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz oranlar literatürde bildirilen oranlara göre düşüktür [1-3]. Bunun nedenleri; CHROMagar *Candida* besiyerinde oluşan rengin değerlendirilmesinde farklı renkler oluşması ile yaşanan güçlülüdür. *C. albicans*'ın renginin tipik koyu yeşil renk olması nedeniyle diğer türlerle ayırımında sorun yaşanmazken, diğer *Candida* türleri için tanımlanan renklerin birbirine benzer olması ve oluşan rengin tanımlanan *Candida* türleri ile farklılık göstermesi nedeniyle tür ayırımı yapılması mümkün olmamıştır. Çalışmamızda, CHROMagar *Candida* 20 *C. albicans* suşunun 18'ini (%90), 18 *C. parapsilosis* suşunun 15'ini (%83,3) saptayabilmiş, diğer türlerin (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. lusitanae* ve *C. dubliniensis*) tür düzeyinde tayini yapılamamıştır. Bu nedenle mikrobiyoloji laboratuvarlarında *Candida* türlerinin erken tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyeri *C. albicans* ve *C. parapsilosis* türlerinin ayırımında etkili olmasına rağmen, diğer türlerin saptanmasında etkili bulunmamıştır. Literatürde bu besiyeri *C. tropicalis* suşlarının tanımlanmasında etkili olduğu bildirilmesine rağmen sunduğumuz çalışmada 8 (%13) *C. tropicalis* suşunu saptamada besiyerinin yetersiz olduğunu

saptadık [1,2]. Literatürde *C. tropicalis* suşlarının bazen yeşilimsi tonda renge neden olduğu ve bu nedenle *C. albicans* suşları ile ayırımında zorluk yaşandığı bildirilmiştir [10,11]. Sunduğumuz çalışmada *C. tropicalis* suşlarını saptamada CHROMagar *Candida* besiyerinin yetersiz olmasının nedenleri suş sayımızın az olması ve *C. albicans*'la benzer renk oluşturmamasından kaynaklanmış olabilir.

Sunduğumuz çalışmada CHROMagar *Candida* besiyeri germ tüp testine göre *C. albicans* dışında *C. parapsilosis* türlerinin ayırımına imkan sağlamasına rağmen, diğer *Candida* türlerinin ayırımına imkan sağlamadığı, farklı renkler nedeniyle tür tayininin yapılamadığı belirlendi. Besiyerinin maliyetinin rutin mantar besiyerlerine göre yüksek olması da bir diğer dezavantajdır.

Sonuç olarak; mikrobiyoloji laboratuvarlarında CHROMagar *Candida* besiyeri *C. albicans* ve *C. parapsilosis* türleri dışındaki *Candida* türlerinin belirlenmesinde başka testlerle birlikte kullanılmalıdır. Kromojenik besiyerleri hızlı identifikasyon amacıyla konvansiyonel tanımlama testlerine ilaveten kullanılabilir.

MADDİ DESTEK VE ÇIKAR İLİŞKİSİ

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkara dayalı bir ilişkisi yoktur.

KAYNAKLAR

1. Pfaller MA, Huston A, Coffman S. Application of CHROMagar *Candida* medium for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (torulopsis) glabrata*. J Clin Microbiol 1996; 34: 56-61.
2. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida* medium, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. J Clin Microbiol 1994; 32: 1923-9.
3. Beighton D, Ludford R, Clark DT, et al. Use of CHROMagar *Candida* medium for isolation of yeasts from dental samples. J Clin Microbiol 32: 3025-7.
4. Kadri O, Ilkit M, Ates A, Bicer AT, Demirhindi H. Performance of Chromogenic *Candida* Agar and CHROMagar *Candida* in recovery and presumptive identification of monofungal and polyfungal vaginal isolates. Medical Mycology 2010; 48: 29-34.
5. Karabıçak N, Uludag AH, Karatuna O, et al. Mikrobiyoloji laboratuvarında maya türlerinin tanımlanmasında sık kullanılan ticari sistemlerin karşılaştırmalı değerlendirilmesi: Çok merkezli bir çalışma. Mikrobiyoloji Bül 2015; 49: 210-20.
6. Bishop JA, Chase N, Lee R, Kurtzman CP, Merz WG. Production of white colonies on CHROMagar *Candida* medium by members of the *Candida glabrata* clade and other species with overlapping phenotypic traits. J Clin Microbiol 2008; 3498-500.
7. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. (ed.). Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 2003.

8. Schoofs A, Odds FC, Coleblunders R, Ieven M, Goosens H. Use of specialised isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16: 296-300.
9. Kirkpatrick WR, Revankar SG, McAtee RK, et al. Detection of *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples from Human Immunodeficiency Virusinfected patients in North America by primary CHROMagar *Candida* medium screening and susceptibility testing of isolates. J Clin Microbiol 1998; 36: 3007-12.
10. Sahand IH, Moragues MD, Eraso E, Villar-Vidal M, Quindós G, Pontón J. Supplementation of CHROMagar *Candida* medium with Pal's medium for rapid identification of *Candida dubliniensis*. J Clin Microbiol 2005; 43: 5768-70.
11. Sivakumar VG, Shankar P, Nalina K, Menon T. Use of CHROMagar in the differentiation of common species of *Candida*. Mycopathologia 2009 Jan; 167: 47-9.