

FUNGEMİ OLGULARINDA HIZLI BİR ÖN TANIMLAMA TESTİ: POZİTİF KAN KÜLTÜRÜ ŞİŞESİNDEN YAPILAN DOĞRUDAN GERM TÜP TESTİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ*

Özlem DOĞAN^{1,2}, Dolunay GÜLMEZ¹, Sevtap ARIKAN AKDAĞLI¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Laboratuvarı, ANKARA

²Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İSTANBUL

ÖZET

Kandidemi, çoğu merkezde sıklığı gittikçe artan ve mortalitesi yüksek bir klinik tablodur. Kandidemilerde en sık etken genellikle *Candida albicans* olmakla birlikte, diğer *Candida* türlerinin sıklığında da merkeze göre değişen artışlar bildirilmektedir. Kandidemi tanısı için altın standart kan kültürüdür ve etkenin kesin tanımlaması kan kültürünün pozitif sinyal vermesinden sonra katı besiyerine pasaj yapılarak üreyen mikroorganizmaların konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmasını gerektirmektedir. Öte yandan, maya pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan germ tüp testi (GTT) uygulandığında *C.albicans* ve *Candida dubliniensis* bir gün önce tanımlanabilmektedir. Bu durumda uygun antifungal tedavinin daha erken başlaması ve mortalitenin azaltılabilmesi için bir fırsat elde edilebilmektedir. Bu çalışmanın amacı, merkezimizde maya pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan GTT değerlendirilmesinin konvansiyonel yöntemlerle uyumunun araştırılmasıdır. Mikoloji Laboratuvarı'na Ekim 2014-Temmuz 2016 arasında gelen maya pozitif kan kültürü şişeleri çalışmaya alınmıştır. Bu şişelerden doğrudan GTT yapılmış, ayrıca Sabouraud dekstroz agar ve kromojenik agara pasaj yapılarak üreyen koloniler konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmıştır. Çalışma süresinde 169 hastaya ait 172 kan kültürü örneği değerlendirilmiş, bunlardan 151'inde (% 87.8) doğrudan GTT testi ile konvansiyonel maya tanımlaması sonuçları tam uyumlu bulunmuştur. Doğrudan GTT pozitif olan 80 örneğin tümünde *C.albicans*/*C.dubliniensis* üremesi saptanmış, yanlış pozitiflik gözlenmemiştir. Doğrudan GTT negatif olan 92 örneğin ise 11'inde (% 12) *C.albicans*/*C.dubliniensis* bulunmuştur. Dikkati çeken bir nokta, örneklerin % 5.8'inde birden fazla maya türünün saptanmış olmasıdır. Bu örneklerden birinde, doğrudan GTT'nin pozitif bulunmasını takiben, *C.albicans* ile birlikte flukonazole doza bağlı duyarlı veya dirençli olabilen bir tür olan *Candida glabrata* üremiştir. Sonuç olarak, maya pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan GTT uygulamasının, konvansiyonel tanımlama yöntemleri ile uyumunun yüksek olduğu görülmüştür. Deneyimli personel varlığında kolay uygulanabilen ve maliyeti düşük bir test olan GTT'nin bu şekilde direkt kullanımı, daha erken dönemde uygun antifungal tedavi seçimine olanak tanıyabilmektedir. Ancak, yanlış negatifler gözlenebilmesi ve kan kültüründe birden fazla maya türü üremesi durumunda tedavinin yanlış yönlendirilmesi riskinin bulunması nedeniyle, sonucun ön tanımlama sonucu olarak bildirilmesi ve kesin tanımlama sonucunun konvansiyonel testlerden sonra rapor edilmesinin uygun olduğu görüşüne varılmıştır.

Anahtar sözcükler: erken antifungal tedavi, germ tüp testi, kandidemi, kan kültürü

SUMMARY

A Fast Preliminary Identification Test in Fungemia: Evaluation of Germ Tube Test Directly from Positive Blood Culture Bottles

The incidence of candidemia tends to increase in high risk patient populations in most centers and it presents with high mortality. The causative agent is generally *Candida albicans*; however, frequency of other *Candida* species is rising with variations among centers. Blood culture is the gold standard to diagnose candidemia and definitive identification of the causative agent requires positive signal in automated blood culture system, subculture on solid media and examination of growth via conventional methods. When germ tube test (GTT) is performed directly from yeast positive blood culture bottles ("direct GTT"), on the other hand, *C.albicans* and *Candida dubliniensis* may be identified one day earlier as compared to the conventional methods, providing an opportunity for an earlier appropriate antifungal therapy and decrease in mortality. The aim of this study was to investigate the correlation of the results obtained by direct GTT with those by conventional identification methods. Yeast positive blood culture bottles that were referred to the Mycology Laboratory within the time period of October 2014 and July 2016 were included the study. GTT was performed directly from the bottles and colonies obtained from subcultures on Sabouraud dextrose agar and chromogenic agar were identified by conventional methods. A total of 172 blood culture specimens from 169 patients were evaluated during the study period. Of these, 151 (87.8 %) were in accordance with conventional identification results. *C. albicans*/*C.dubliniensis* grew in all 80 direct GTT positive specimens, (leading to no false positives) and 11 of the 92 (12 %) GTT negative specimens. A remarkable point was the detection of multiple yeast species in 5.8 % of the samples. Importantly, one sample for which direct GTT was found to be positive yielded *C.albicans* together with *Candida glabrata*, a species known to be less susceptible or putatively resistant to fluconazole. In conclusion, the results obtained by direct GTT from yeast positive blood culture bottles proved to be well correlated with those of conventional identification methods. This particular utility of GTT, which is an easily implemented and low-cost test, might allow earlier guidance for appropriate antifungal therapy. However reporting direct GTT result as a finding of presumptive early identification and confirmation by conventional identification tests remain of particular significance due to the possibility of false negatives and existence of multiple yeast species that may lead to problems in selection of appropriate antifungal therapy.

Keywords: blood culture, Candidemia, early antifungal therapy, germ tube test

İletişim adresi: Dolunay Gülmez. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Laboratuvarı, ANKARA
GSM: (0532) 467 88 68

e-posta: dolunayglm@gmail.com, dolunay@hacettepe.edu.tr

Alındığı tarih: 24.11.2016, Yayına kabul: 21.12.2016

*Çalışmanın bir bölümü 3.Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. PS292 (18-22 Kasım 2015, Antalya)

GİRİŞ

Fırsatçı mantar infeksiyonlarının sıklığı, yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren artış göstermiştir. Bu artışın temel nedenleri arasında, geniş spektrumlu antibakteriyel ilaçların kullanımı ve immün sistemi baskılanmış hasta sayısının artması sayılabilir⁽²³⁾. *Candida*, bu infeksiyonların etkeni olan mantar cinsleri arasında başta gelmektedir. Kandidemilerde ve diğer infeksiyonlarda *Candida* türleri arasında en sık gözlenen etken halen *Candida albicans* olmakla birlikte, bazı merkezlerde albicans dışı *Candida* türlerinin oranlarında artış bildirilmektedir^(1,2,7,9,22,23). Etken *Candida*'nın tür düzeyinde tanımlanması, bazı antifungal ilaçlar ve türler için gözlenen türe özgü primer direnç varlığı nedeniyle tedavi kararını etkilemektedir. Konvansiyonel tür tanımlama yöntemlerinin yanı sıra, literatürde kan dolaşımı infeksiyonlarında fungal etkenin erken tanısı ve tanımlanması için serolojik belirteçler, polimeraz zincir reaksiyonu veya floresan hibridizasyon problemleri gibi farklı yöntemleri kullanan ve etkinliğini araştıran çalışmalar bulunmaktadır^(5,8,11,19). Bazı türler için geçerli olmak üzere, tür tanımlama süresinin kısaltılması amacıyla hasta örnekleri kromojenik besiyerlerine ekilebilmekte veya maya kolonilerine enzimatik testler uygulanabilmektedir^(13,18). Ancak, bu testlerin yürütülebilmesi için ek maliyet ve ekipmanın yanı sıra, çoğu zaman deneyimli personel de gerekmektedir.

Candida infeksiyonlarının tedavisinde, tür düzeyinde tanımlama yapılması kadar, bu tanımlamanın hızlı yapılabilmesi de önem taşımaktadır. Zira, *C.albicans* antifungal ilaçlara direnç yönünden genelde sorunlu bir tür olmazken, birçok diğer *Candida* türü antifungal direnç yönünden sorun teşkil etmektedir. Örneğin, *C.glabrata* suşlarında flukonazole azalmış duyarlılık ya da direnç ve ekinokandin direnci, *Candida krusei* türlerinin tüm suşlarında flukonazol doğal direnci, *Candida tropicalis* ve *Candida parapsilosis* suşlarında ise değişen oranlarda azol direnci görülebilmektedir^(3,12,15,20). Bu nedenlerle, *Candida* tür tanımlamasının en azından *C. albicans* ve *C. albicans* dışı olarak çabuk doğrulanabilmesi, erken dönemde uygun tedavi seçimine ve böylece hastanın prognozuna önemli katkıda

bulunabilmektedir^(2,16).

C.albicans'ın diğer mayalardan ayrımı için rutin laboratuvarlarda birincil olarak kullanılan test germ tüp (çimlenme borusu) testidir (GTT)⁽¹⁷⁾. GTT, mayanın kültürde üremesi sonrasında katı besiyerinden alınan bir koloniden yapılmaktadır. *C.albicans* ve *Candida dubliniensis* GTT pozitif olabilen iki *Candida* türü olup, ayrımları için birden fazla test kullanımı önerilmekle birlikte, rutin uygulamada 45°C'de üreme yetilerinin değerlendirilmesi yeterli olmaktadır⁽¹⁷⁾. GTT güvenilir bir test olmakla birlikte, bu test için kan kültürlerindeki klasik uygulamada, sıvı kan kültürü besiyerinde saptanan üremenin katı besiyerine pasajı sonrası üreyen koloniler incelenmektedir. Bu nedenle, sonuç için ek bir gün daha gerekmektedir. Ek sürenin ortadan kaldırılabilmesi ve *C.albicans*'ın daha erken tanımlanabilmesi amacıyla, maya pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan GTT uygulanması önerilmiş ve araştırmalar yapılmıştır^(21,24,25). Bu çalışmanın amacı, merkezimizde maya pozitif kan kültürü şişesinden doğrudan yapılan GTT uygulamasının etken maya mantarını tanımlamadaki güvenilirliğinin, konvansiyonel tanımlama yöntemleriyle karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kan kültürleri ve inkübasyon: Çalışmaya, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Klinik Patoloji Laboratuvarı'nda Ekim 2014-Temmuz 2016 tarihleri arasında alınmış kan kültürlerinden pozitif sinyal sonrasında yapılan Gram boyamada maya saptanmış olanlar dahil edilmiştir. Kan örnekleri, hasta başında BacTAlert 3D (bioMérieux, Fransa) kan kültürü şişelerine alınmış ve oda sıcaklığında en kısa sürede laboratuvara ulaştırılarak otomatize inkübasyon cihazına yüklenmiştir. Inkübasyon sırasında pozitif sinyal veren şişelerden hazırlanan yaymalar Gram boyama ile incelenmiş ve maya görülen şişeler ileri değerlendirme için Mikoloji Laboratuvarı'na iletilmiştir.

Doğrudan GTT: Mikoloji Laboratuvarı'na ulaştırılan maya pozitif şişelerden alınan 2-3 damla (10-20 µl) materyal, yaklaşık 1 mL insan serumuna eklenmiş ve 3 saate kadar 37°C'de

bekletilmiştir. İnkübasyon sonrasında bu materyalden bir damla temiz bir lam üzerine alınmış ve üzerine lamel kapatılarak x400 büyütmede mikroskopta incelenmiştir^(21,24,25).

Kan kültürü şişesinden doğrudan yapılan GTT pozitif bulunduğunda *C.albicans*, negatif bulunduğunda ise "*C.albicans* dışı maya mantarı" olarak ön tanımlama yapılmıştır.

Saf üremeden klasik GTT ve tanımlama:

Maya pozitif kan kültürü şişelerinden Sabouraud dekstroza agara (SDA) ekim yapılarak etken izole edilmiştir. Ayrıca, çalışma planına dahil olmakla birlikte bazı şişelerden kromojenik besiyerine (Himedia, Hindistan) de ekim yapılmıştır. Bu kültür plaklarında 35°C'de 24 ve 48 saat inkübasyon sonrasında üreyen koloniler değerlendirilmiş ve saflıkları kontrol edilmiştir. Farklı morfolojide/rengte maya kolonileri gözlemlenirken ayrı ayrı saflaştırılarak tanımlanmıştır. Saf oldukları kesinleştiğinde, kolonilerden klasik yöntemle GTT yapılmıştır⁽¹⁷⁾. Katı besiyerinden yapılan GTT pozitifliği ile *C.albicans* ön tanısı konmuş ve 45°C'de üreme sonucu ile tanımlama doğrulanmıştır. Klasik GTT negatif olduğunda ise tür düzeyinde tanımlama yapmak için asimilasyon testlerinin temel alındığı ID32C (bioMérieux, Fransa) kiti kullanılmış ve tanı mısır unlu Tween 80 besiyerindeki morfolojik görünüm ile desteklenmiştir⁽¹⁷⁾.

BULGULAR

Çalışma süresince Mikoloji Laboratuvarı'na iletilen, pozitif sinyal verdikten sonra yapılan yaymada Gram boyama ile maya görülmüş, toplam 169 hastaya ait 414 kan kültürü şişesi incelenmiştir.

Her hasta için bir aydan uzun süre sonra alınan kan örneklerindeki üremeler farklı bir kan dolaşımı enfeksiyonu epizodu olarak tanımlandığında⁽⁴⁾, yalnızca dört hasta için iki farklı epizoda rastlanmıştır. Bu hastaların üçünde *C.parapsilosis*, dördüncüde ise *C.albicans* üremesinin sebat ettiği gözlenmiştir. Bu nedenle veriler değerlendirilirken, her hastadan ilk örnek olacak şekilde bir örnek değerlendirmeye alınmıştır. Bu durumun istisnaları şu şekildedir: (1) Üç hastanın iki farklı örneğinde farklı maya tür-

leri üretilmiş ve örnekler ayrı ayrı değerlendirilmeye dahil edilmiştir. (2) Birden fazla maya üreyen örneği olan hastalarda, varsa karışık üreme gözlenen örnek değerlendirmeye alınmıştır. (3) Birden fazla örneğinde üreme gözlenen hastalarda, varsa doğrudan GTT ile maya tanımlama sonuçlarının uyumlu olmadığı örnekler (doğrudan GTT testi pozitif iken birden fazla maya türü üremesi gibi) alınmıştır.

Bu şekilde tekrarlayan örneklerin çıkarılması ile elde edilen 169 hastaya ait 172 kan kültürünün doğrudan GTT sonuçları, rutin konvansiyonel tanımlama sonuçları ve kromojenik agarda gözlenen koloni renkleri Tablo'da özetlenmiştir.

Değerlendirmeye alınan 172 örneğin 151'inde (% 87.8) doğrudan GTT testi konvansiyonel maya tanımlaması sonuçları ile tam uyumlu bulunmuştur.

Doğrudan GTT pozitif bulunan örnekler (n=80):

Tüm örneklerde *C.albicans* veya *C.dublinskiensis* üremesi gözlenmiştir.

C.dublinskiensis üremesi saptanan bir örnekte, doğrudan GTT pozitif olmasına karşın klasik GTT negatif bulunmuştur.

Doğrudan GTT pozitif örneklerin beşinde birden fazla maya türü üremiştir. Bu örneklerden birinde doğrudan GTT pozitif olmasına karşın şişeden *Candida* kromojenik besiyerinde yapılan pasajda ilk iki gün *C.albicans/C.dublinskiensis*'e özgü yeşil renk gözlenememiş ve inkübasyon üçüncü güne uzatıldığında yeşil renkli *C.albicans* kolonileri ayırt edilebilmiştir. Bu hastanın diğer beş kan kültüründe tek başına *C.parapsilosis* üremesi saptanmıştır.

Doğrudan GTT negatif bulunan örnekler (n=92):

Doğrudan GTT negatif 11 örnekte *C.albicans* veya *C.dublinskiensis* izole edilmiştir. Bunların üçünde (bir *C.albicans* ve iki *C.dublinskiensis*) klasik GTT de negatif bulunmuştur.

Doğrudan GTT negatif olan ve *C.albicans* üreyen dokuz hastanın ikisinde birden fazla kan kültürü örneğinde maya üremiştir ve diğer örneklerinde doğrudan GTT pozitif bulunmuştur.

Tablo. Doğrudan GTT ile konvansiyonel tanımlama sonuçlarının karşılaştırması.

Doğrudan GTT Sonucu	Üreme Sonrası Elde Edilen Tanımlama Sonucu (n)	Kromojenik Ağarda Koloni Rengi	
Pozitif (n=80)	74	C.albicans	Yeşil (n=55*)
	1	C.dublinskiensis	Koyu yeşil
	1	C.albicans + C.parapsilosis + C.guilliermondii	Yeşil (renk 3. gün ortaya çıktı) + pembe + beyaz
	3	C.albicans + C.parapsilosis	Yeşil + pembe
	1	C.albicans + C.glabrata	Yeşil + krem
Negatif (n=92)	9	C.albicans	Yeşil (n=7*)
	2	C.dublinskiensis	Yeşil
	1	C.albicans + C.dublinskiensis	Yeşil + koyu yeşil
	1	C.albicans + C.kefyr	Yeşil + mor
	1	C.albicans + C.parapsilosis	Yeşil + pembe
	1	C.parapsilosis + C.parapsilosis	Pembe + beyaz **
	1	C.kefyr + maya***	Pembe + mor
	30	C.parapsilosis	Pembe (n=15*)
	23	C.glabrata	Krem (n=13*)
	13	C.tropicalis	Mavi (n=5*)
	3	C.lusitaniae	Pembe (n=1*)
	2	C.guilliermondii	*
	2	C.kefyr	Pembe (n=1*)
	1	Cryptococcus neoformans	*
	1	C.rugosa	Mor
	1	Saprochaete capitata	*

*: Bazı örnekler için *Candida* kromojenik ağarda üreme sonuçları bulunmamaktadır.

** : *Candida* kromojenik ağarda farklı renkte koloniler ve antifungal duyarlılık testlerinde farklı sonuçlar farklı sonuçlar gözleendiği için iki farklı suş olarak değerlendirilmiştir.

***: İkinci maya türü için konvansiyonel yöntemlerle kesin tanımlama yapılamamıştır.

Bu örneklerden beşinde birden fazla maya türü belirlenmiştir. Bunlardan üçünde *C.albicans* veya *C.dublinskiensis* üretilmiş ve klasik GTT pozitif sonuç vermiştir.

TARTIŞMA

Kandidemi, bağışıklık sistemi baskılanması ya da yoğun bakım ünitelerinde tedavi dönemi sürecinde ortaya çıkan ve yüksek mortalite ile seyreden bir enfeksiyondur^(2,9,22,23). Etkene yönelik uygun tedavinin gecikmesi mortaliteyi artırmaktadır^(2,6,16). Kan kültüründe maya üremesi durumunda antifungal tedavi başlanması gerekmektedir ve uygun tedavinin saptanmasında *Candida* tür ayrımı yardımcı olabilmektedir⁽⁶⁾. Bu çalışmada, karışık üremeler dahil, *C.albicans* ve/veya *C.dublinskiensis* üremesi olan kan kültürlerinin % 85.1'inde klasik tanımlamanın bir gün öncesinde tanımlama sonucu rapor edilebilmiştir.

C.albicans ve *C.dublinskiensis*'in diğer maya türlerinden ayırımında klasik GTT, deneyimli personelin mevcut olduğu durumda rutin laboratuvarlarda kolaylıkla yapılabilen ve ek ekip-

man gerektirmeyen bir test olarak öne çıkmaktadır. Kan kültüründe maya saptanmasını takiben katı besiyerinde üremenin beklenmeden doğrudan GTT uygulanması, tür tanımlamasında bir günlük bir avantaj sağlayabilmektedir. Terlecka ve ark.⁽²⁵⁾ 31 maya pozitif kan kültürü şişesini test etmiş ve doğrudan GTT negatif olan bir *C.albicans* izolatu dışında uyumsuzluk gözlemişlerdir. Sheppard ve ark.⁽²⁴⁾, doğrudan GTT için klinik örneklerde % 87.1 duyarlılık ve % 100 özgüllük bildirmiş ve negatif olan dört *C.albicans* suşunun ikisinin daha yavaş ürediğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada kan kültürü şişelerine insan kanı ve maya izolatları eklenerek yapılan simülatif deneylerde de uyumsuzluk gözlenmemiştir. Park ve ark.⁽²¹⁾ standart suşları ekledikleri kan kültürü şişelerinde pozitif sinyal sonrasında farklı türlerin ayırımında Gram boyama ve ıslak preparat ile morfolojik görünümü ve doğrudan GTT'yi değerlendirmiş ve doğrudan GTT'nin daha güvenilir olduğunu saptanmışlardır. Bizim çalışmamızda da maya pozitif kan kültürü şişelerinden yapılan doğrudan GTT ile konvansiyonel tanımlama testleri arasındaki uyum % 87.8 (151/172) olarak bulunmuştur. Doğrudan GTT ile yanlış pozitif-

lik gözlenmezken, negatif olan 14 örnekte *C.albicans/C.dublınıensis* izole edilmiştir. Bunlardan üçünde klasik GTT de negatif bulunmuştur. GTT hızlı ve güvenilir bir test olsa da bazı *C.albicans* ve *C.dublınıensis* suşlarında negatiflik gözlenmesi beklenen bir bulgudur⁽¹⁷⁾.

Kandidemide birden fazla maya türünün görülmesi nadir bir durumdur⁽¹⁰⁾ ve kan kültürü şişesinden kromojenik agara ekim yapılması saptamayı kolaylaştırmaktadır. Jensen ve ark.⁽¹⁴⁾ rutin laboratuvarında maya pozitif kan kültürü şişelerinden yalnızca SDA'ya ekim yaptıkları dönemde birden fazla tür üremesi saptayamamışlar; ancak, kromojenik agarın kullanıma girmesinden sonra % 2.8 oranında çoklu kandidemi gözlemişlerdir. Bu çalışmada, pozitif kan kültürü örneklerinin kromojenik agara ekimi başlangıçta çalışma planına dahil edilmemiştir. Ancak, çalışma devam ederken birden fazla maya üremesi olan örneklerde sağladığı yarar gözlenmiş ve rutin laboratuvarında tüm pozitif kan kültürü şişelerinden kromojenik agara ekim yapılmaya başlanmıştır. Sonuçların yorumlanmasında kromojenik agar verileri de kullanıldığından, bu veriler çalışma dışında bırakılamamıştır. Çalışmamızda birden fazla maya türünün izole edildiği 10 örnekte kromojenik agarda farklı renkte koloniler görülmüştür. Bunlardan doğrudan GTT ile pozitiflik saptanan bir örnekte *C.albicans* kolonileri SDA'da ayırt edilememiş ve kromojenik agardaki üremeden saflaştırılabilmektedir.

Klinik örneklerde doğrudan GTT uygulayan çalışmalarda tek örnekte birden fazla maya türü üremesi bildirilmemiştir^(24,25). Bizim çalışmamızda değerlendirmeye alınan 172 örneğin 10'unda (% 5.8) karışık maya üremesi gözlenmiştir. Çoklu üreme, birden fazla örneği olan bir hastanın tüm örneklerinde görülmeyebilmektedir; bu nedenle çalışma süresince incelenen örneklerde oran daha düşüktür (414 örnekte 17, n % 4.1). Bu durum, doğrudan GTT'nin tanımlamada tam doğru sonuç vermesine engel oluşturabilmekte ve tedavinin yanlış yönlendirilmesi riskini de beraberinde getirmektedir. Bizim çalışmamızda da, doğrudan GTT pozitifliği olan beş örnekte, birden fazla tür üretilmiş ve bunlardan birinde *C.albicans*'ın yanı sıra flukonazole

doza bağlı veya dirençli olabilen *C.glabrata* türü tespit edilmiştir (Tablo). Dikkati çeken bir başka nokta ise, üç farklı türün üretildiği örnekte *C.albicans* kolonilerinin kromojenik agarda ilk iki günde saptanamamış olmasıdır. Oysa üretici firma, türe özgü koloni renklerinin 24-48 saatte oluşmasının beklendiğini belirtmektedir. Bu örnekte doğrudan GTT pozitifliği nedeniyle uzatılan inkübasyon sayesinde üçüncü gün kromojenik agarda yeşil renkli koloniler ortaya çıkmıştır. Bu durum, karışık maya üremesi olan örneklerde doğrudan GTT'nin erken tanımlama dışında sağladığı ilave bir avantajı olmuş ve kromojenik agar ekimlerinin inkübasyon süresinin uzatılmasının gerekebileceğine işaret etmiştir.

Sonuç olarak pozitif sinyal sonrasında kan kültürü şişesinden yapılan Gram boyamada maya görüldüğünde, şişeden doğrudan GTT yapılması *C.albicans/C.dublınıensis* varlığının bir gün önce bildirilmesine olanak sağlamak ve konvansiyonel tanı testleri ile yüksek uyum göstermektedir. *C.albicans/C.dublınıensis* ön tanımlamasının konvansiyonel uygulamalara göre bir gün önce verilebilmesi, erken dönemde uygun antifungal tedavi başlanabilmesine olanak tanıyabilecek önemli bir avantajdır. GTT'nin, deneyimli personelin mevcut olduğu laboratuvarlarda kolaylıkla uygulanabilen, düşük maliyetli bir test olması da, bu testin pratikte kullanımını kolaylaştırmaktadır. Ancak, doğrudan GTT ile yanlış pozitiflik bildirilmemişse de, yanlış negatiflik gözlenebilmektedir ki, bu durumla klasik GTT'de de karşılaşılabilmektedir. Ayrıca, eş zamanlı olarak birden fazla türün ürettiği durumlarda, mevcut tüm türlerin gösterilmesi açısından değerlendirmede eksiklik olabilmektedir. Böyle bir durumda, özellikle antifungal ilaçlara dirençli olabilen türlerden birinin *C.albicans/C.dublınıensis* ile birlikte üremesi durumunda, tedavinin yanlış yönlendirilmesi olasıdır. Bu nedenlerle, doğrudan GTT sonucunun kesin tanımlama sonucu olarak kabul edilmemesi, ön tanımlama sonucu olarak ve tanımlama sonucunun ertesi gün kesinleşeceği notu ile birlikte rapor edilmesi önem arz etmektedir. Bu bağlamda, pratik uygulamalarda, üremenin saflığı ve üreyen suşların tür tanımlamaları, konvansiyonel yöntemlerle doğrulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Alp Ş, Arkan-Akdağlı S, Gülmez D, Aşçıoğlu S, Uzun Ö, Akova M. Epidemiology of candidaemia in a tertiary care university hospital: 10-year experience with 381 candidaemia episodes between 2001 and 2010, *Mycoses* 2015;58(8):498-505. <http://dx.doi.org/10.1111/myc.12349>.
2. Barchiesi F, Orsetti E, Gesuita R, Skrami E, Manso E, and Candidemia Study G. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in a tertiary referral center in Italy from 2010 to 2014, *Infection* 2016;44(2):205-13. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-015-0845-z>.
3. Castanheira M, Messer SA, Rhomberg PR, Pfaller MA. Antifungal susceptibility patterns of a global collection of fungal isolates: results of the SENTRY Antifungal Surveillance Program (2013), *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;85(2):200-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.02.009>.
4. Chen S, Slavin M, Nguyen Q et al. Active surveillance for candidemia, Australia, *Emerg Infect Dis* 2006;12(10):1508-16. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1210.060389>.
5. Clancy CJ, and Nguyen MH. Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care, *Clin Infect Dis* 2013;56(9):1284-92. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cit006>.
6. Cornely OA, Bassetti M, Calandra T et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: non-neutropenic adult patients, *Clin Microbiol Infect* 2012;18(Suppl):719-37. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12039>.
7. Çiçek B, Yılmaz H, Mutlu Yılmaz E, Esen S, Birinci A. Candida epidemiyolojisindeki değişikliklerin araştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2015;49(3):423-31.
8. Dark P, Blackwood B, Gates S et al. Accuracy of LightCycler((R)) SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis, *Intensive Care Med* 2015;41(1):21-33. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-014-3553-8>.
9. Diekema D, Arbefeville S, Boyken L, Kroeger J, Pfaller M. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73(1):45-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.02.001>.
10. Doğan Ayçık Ö, Gülmez D, Arkan-Akdağlı S. Kandidemili olgularda eş zamanlı iki Candida türü saptanma insidansı: Hacettepe Üniversitesi Mikoloji Laboratuvarı, 1999-2013 verileri, 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı, PP-096, Ankara (2014).
11. Gorton RL, Ramnarain P, Barker K et al. Comparative analysis of Gram's stain, PNA-FISH and Sepsityper with MALDI-TOF MS for the identification of yeast direct from positive blood cultures, *Mycoses* 2014;57(10):592-601. <http://dx.doi.org/10.1111/myc.12205>.
12. Gülmez D, Doğan Ayçık Ö, Arkan-Akdağlı S. Kan kültürlerinden izole edilen Candida suşlarında önceki ile karşılaştırmalı olarak yeni CLSI direnç sınır değerlerinin triazol duyarlılık kategorilerinin belirlenmesine etkisi, 1. Ulusal Tıbbi Mikoloji Kongresi Kitabı, P23, Ankara (2014).
13. Hoppe JE, Frey P. Evaluation of six commercial tests and the germ-tube test for presumptive identification of *Candida albicans*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18(3):188-91.
14. Jensen J, Munoz P, Guinea J, Rodriguez-Creixems M, Pelaez T, Bouza E. Mixed fungemia: incidence, risk factors, and mortality in a general hospital, *Clin Infect Dis* 2007;44(12):e109-14. <http://dx.doi.org/10.1086/518175>.
15. Karabıçak N, Alem N. Candida türlerinin triazol antifungal duyarlılık profilleri: Antifungal direncin belirlenmesinde yeni CLSI türe özgü klinik direnç sınır değerleri ve epidemiyolojik eşik değerlerinin uygulanması, *Mikrobiyol Bul* 2016;50(1):122-32.
16. Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. Septic shock attributed to *Candida* infection: importance of empiric therapy and source control, *Clin Infect Dis* 2012;54(12):1739-46. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cis305>.
17. Larone DH. Medically Important Fungi: A Guide to Identification, 5. baskı. ASM Press, Washington DC. (2011).
18. Liguori G, Di Onofrio V, Galle F et al. *Candida albicans* identification: comparison among nine phenotypic systems and a multiplex PCR, *J Prev Med Hyg* 2010;51(3):121-4.
19. Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK et al. Performance of *Candida* real-time polymerase chain reaction, beta-D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis, *Clin Infect Dis* 2012;54(9):1240-8. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cis200>.
20. Orasch C, Marchetti O, Garbino J et al. *Candida* species distribution and antifungal susceptibility testing according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and new vs.

- old Clinical and Laboratory Standards Institute clinical breakpoints: a 6-year prospective candidemia survey from the fungal infection network of Switzerland, *Clin Microbiol Infect* 2014;20(7):698-705.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12440>.
21. Park BR, Kim TH, Kim HR, Lee MK. Comparative analysis of simulated candidemia using two different blood culture systems and the rapid identification of *Candida albicans*, *Ann Clin Lab Sci* 2011;41(3):251-6.
 22. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D 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(4):323-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.10.003>.
 23. Segal E, Elad D. Candidiasis, "Merz WG, Hay RJ (ed.), Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections Medical Mycology, baskı" kitabında. p.579-623, Hodder Arnold&ASM Press, London (2005).
 24. Sheppard DC, Locas MC, Restieri C, Laverdiere M. Utility of the germ tube test for direct identification of *Candida albicans* from positive blood culture bottles, *J Clin Microbiol* 2008;46(10):3508-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01113-08>.
 25. Terlecka JA, du Cros PA, Orla Morrissey C, Spelman D. Rapid differentiation of *Candida albicans* from non-*albicans* species by germ tube test directly from BacTAlert blood culture bottles, *Mycoses* 2007; 50(1):48-51.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01307.x>.