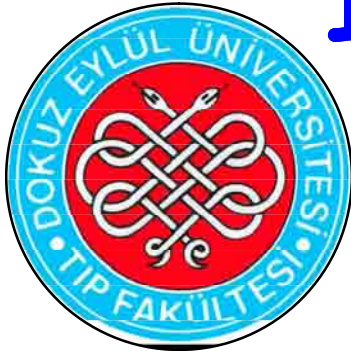


CANDIDA TÜRLERİNİN KROMOJENİK BESİYERLERİ VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE İDENTİFİKASYONU



Dr. Mine Doluca

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD

GİRİŞ

- Maya ve *Candida* infeksiyonlarının insidansı artmaktadır
- Özellikle non *albicans* türlerin neden olduğu infeksiyonlarda önemli artış
- Antifungal ilaçların sayısı artmakta
- Antifungal direnç gündeme gelmekte
- Dirençli türlerin neden olduğu infeksiyonlarda sağaltım önemli

- Sağaltım seğeneğinin belirlenmesi için etkenin güvenilir ve hızlı identifikasyonu her zamankinden daha önemli
- Rutin ve klasik yöntemlerle identifikasyon birkaç gün alabilmektedir



Kromojenik besiyerleri ve
moleküler yöntemlerin kullanımı

CANDIDA TÜRLERİNİN KROMOJENİK BESİYERLERİ İLE İDENTİFİKASYONU



- Kromojenik besiyerleri hedef mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimler-beta hekzosaminidaz ile tepkimeye giren kromojenik substratlar içerir
- Bu substratların türe özgün enzimler ile hidrolizi sonucu farklı renk ve morfolojide koloniler oluşur
- Son yıllarda özellikle *Candida* türlerinin identifikasyonu için birçok kromojenik besiyeri üretilmiştir

Kromojenik Besiyerleri

- Klinik önemi olan *Candida* türleri ve maya / maya benzeri mantarların
 - İzolasyonu (Polifungal etkenli)
 - Olası identifikasyonu için kullanılır
- Kromojenik besiyerleri identifikasyon protokolleri **yerine değil** hızlı identifikasyona **destek** olarak kullanılmalı

Kromojenik Besiyerleri

- CHROMagar Candida (CA) (Becton Dickenson)
- CHROM-Pal besiyeri
- Albicans ID2 (BioMérieux)
- Candida ID agar (BioMérieux)
- Candida ID2 (BioMérieux)
- ChromID Candida agar (CAN2) (BioMérieux)
- Candiselect medium (Bio-Rad)
- *CandiSelect 4* (Bio-Rad)
- Bismuth Sulfite Glucose Glycine Yeast (BiGGY) agar (Oxoid)
- Oxoid Chromogenic Candida Agar (OCCA) (Oxoid)
- Brom Cresol Green (BCG) Agar (Difco)

CHROMagar Candida

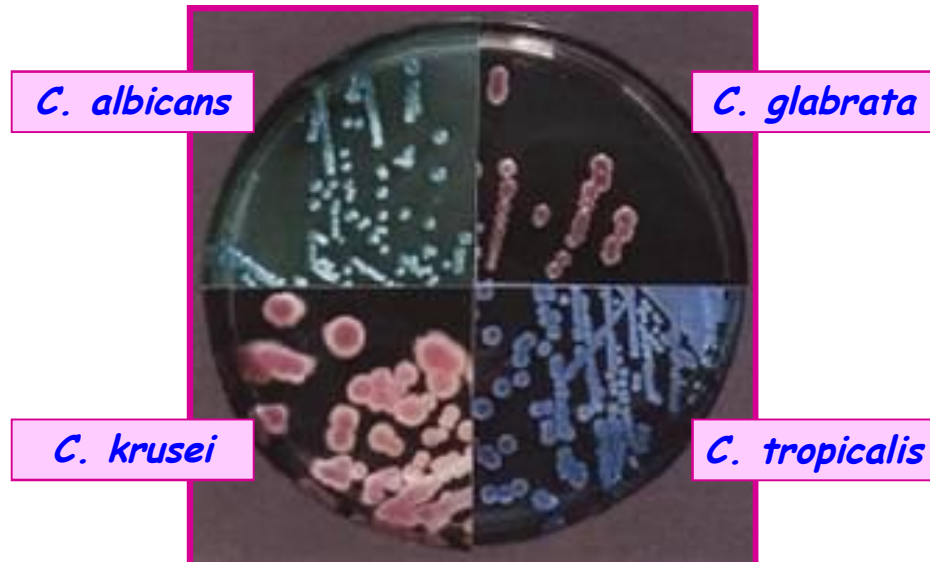
- Türe özgü enzimler ile tepkimeye giren kromojenik beta glukozaminidaz substratı içerir

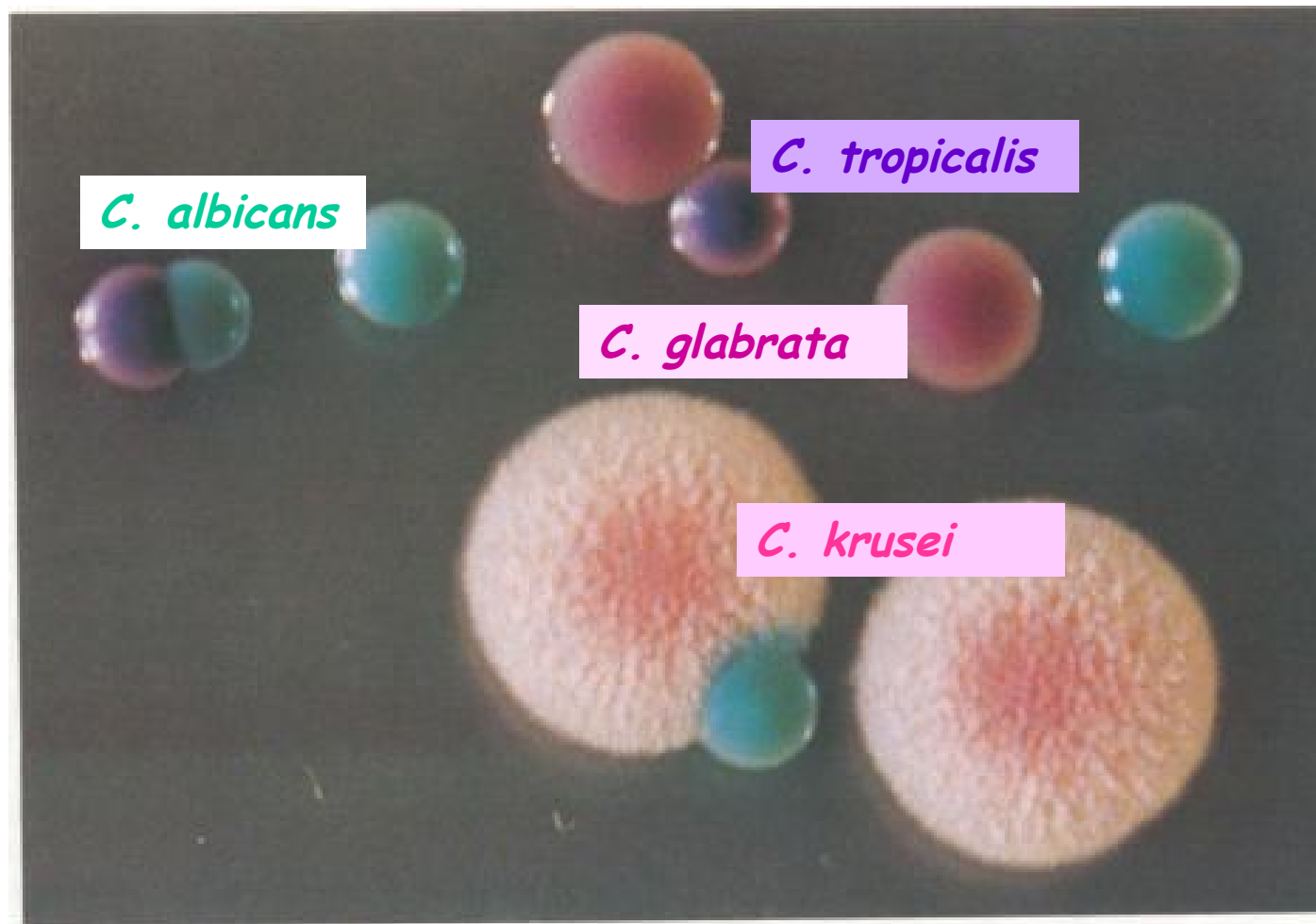


CHROMagar Candida

➤ Üretici firma

- *C. albicans*: nil yeşili, S tipi koloni
- *C. tropicalis*: mavi-mor, agara difüze olan halesi olan S tipi koloni
- *C. krusei*: pembe, pürtüklü, R tipi koloni





Odds FC, Bernaerts R. J Clin Microbiol 1994; 32:1923

CHROMagar Candida



➤ Yapılan bazı çalışma sonuçları ve deneyimlerimize göre:

- ***C. glabrata***: pembe-lavanta, etrafında beyaz zonu olan, parlak, S tipi koloni
- ***C. parapsilosis***: genellikle beyaz, nadiren açık pembe S tipi koloni
- ***C. kefyr***: genellikle pembe-somon, S tipi koloni
- ***C. dubliniensis***: *C. albicans*'a göre daha koyu yeşil koloniler
- ***Trichosporon sp.***: çoğu koyu mavi, pürtüklü, R tipi koloni
- ***Blastoschizomyces capitatus***: krem pembe, yumuşak, pürtüklü R tipi koloni

Odds FC, Bernaerts R. J Clin Microbiol 1994; 32:1923

Pfaller MA et al. J Clin Microbiol 1996; 34:58; Willinger B, et al. Mycoses 1999;42:61

Kirkpatrick WR et al. J Clin Microbiol 1998; 36:3007; Yücesoy M ve ark. Clin Microbiol Infect 2005; 11:245

Yücesoy M, Marol S. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2003; 2:1;

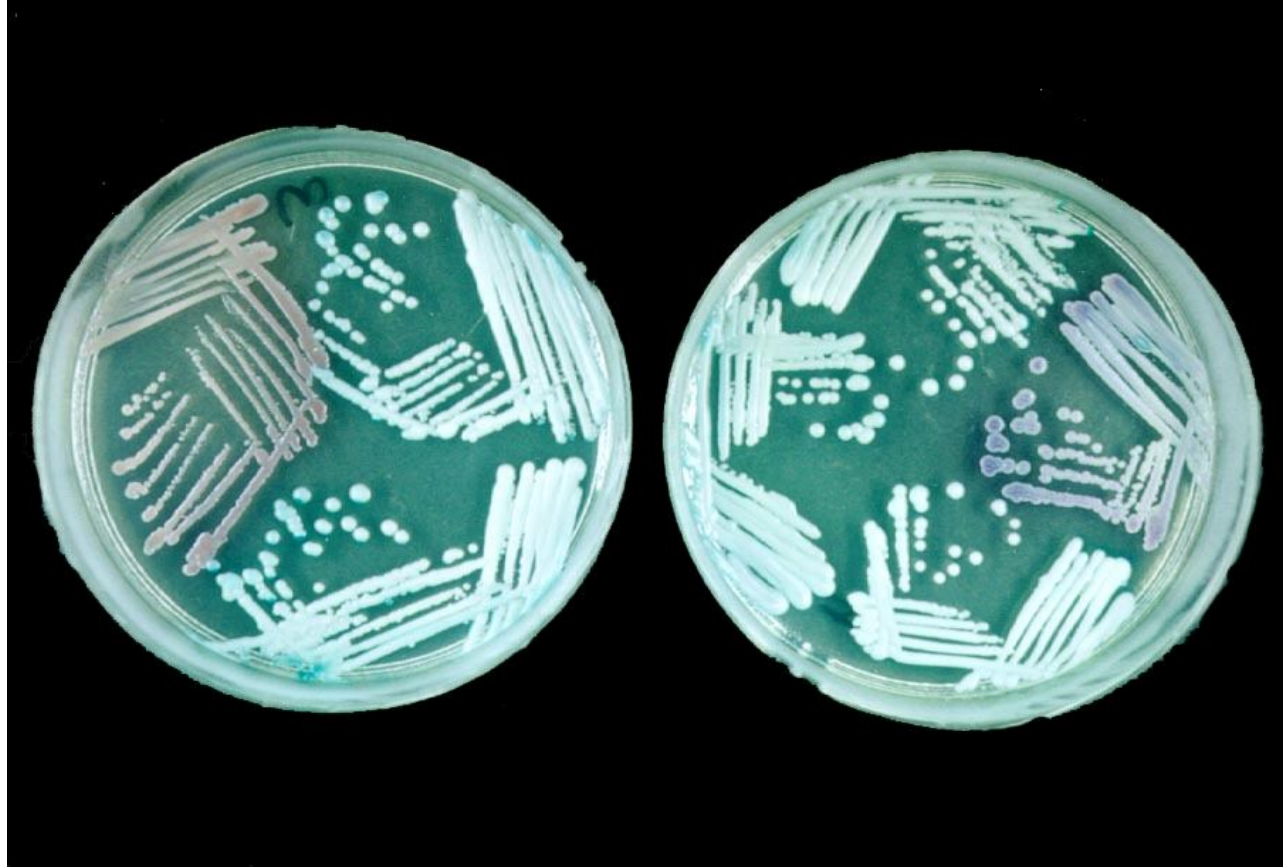
Hospenthal DR, et al. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2006;5:1

CHROMagar Candida besiyerinde: *C. albicans* ATCC 90028 (üst),
C. krusei ATCC 6258 (sağ), *C. glabrata* (alt), *C. tropicalis* (alt
sol), *C. parapsilosis* ATCC 90018 (üst sol)



Yücesoy M, Marol S. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2003; 2:1

CHROMagar Candida besiyerinde: sol petri kutusu:
C. glabrata (sol), *C. albicans* (alt ve üst sağ), sağ
petri kutusu: *C. tropicalis* (sağ), *C. kefyr* (alt), *C.*
albicans (diğer ikisi)



Yücesoy M, Marol S. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2003; 2:1



CHROMagar Candida
besiyerinde *C. glabrata*

CHROMagar Candida

- *C. famata*, *C. firmetaria*, *C. guilliermondii*,
C. kefyr, *C. lipolytica*, *C. lusitana*,
C. norvegensis, *C. parapsilosis*:
pembe, koyu pembe, lila
- *C. kefyr*: büyük, ortası
(somon rengi) koloniler
- *C. firmetaria* ve *C. guilliermondii*:
kenarları açık pembe, büyük pembe,
tipi koloniler. *C. krusei* benzeri R
- *C. rugosa*: küçük, koyu pembe, büyük düz kenarlı açık
renk koloniler
- *C. glabrata*: küçük, pembe-lavanta, kenarları açık renk,
besiyerinin ortasında koyu pembe pigmentli koloniler

Hospenthal DR, et al. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2006;5:1
Odds FC, Bernaerts R. J Clin Microbiol 1994; 32:1923

CHROMagar Candida

	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. glabrata</i>
Duyarlılık (%)	89-100	94-100	100	91
Özgüllük (%)	99-100	94-100	92-100	100
Pozitif prediktif değer (%)	99-100	100	100	100
Negatif prediktif değer (%)	90-99	100	100	99

Albicans ID2

- Hekzosaminidaz enzimi için kromojenik substratın hidrolizi ile *C. albicans* mavi-turkuaz koloniler oluştururken, diğer *Candida* türleri beyaz kalır

Albicans ID2

➤ *C. albicans* için

- Duyarlılık: %80-100
- Özgüllük: %65-100

İlkit M, et al. J Med Microbiol 2007; 56:762

Cardenes CD, et al. J Microbiol Methods 2004; 59:293

Cardenes CD et al. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 42:181

Yücesoy M et al. Clin Microbiol Infect 2005; 11:245

Doluca Yücesoy M, et al. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria 10 - 13 April 2010

Albicans ID2 agar: a) *C. albicans* suşları b) Üç *C. albicans* suşu, *Trichosporon sp* ve *C. parapsilosis*



Doluca Yücesoy M, et al. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria 10 - 13 April 2010

Candida ID2

- *C. albicans*: kobalt mavisi koloni
- *C. dubliniensis*: turkuaz mavisi koloni
- *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* ve *C. kefyr* pembe koloniler
- *C. tropicalis*: mavimsi pembe koloniler
- *C. krusei*: pembe pürtüklü R tipi koloni

Eraso E, et al. J Clin Microbiol 2006; 44:3340

Eraso E, et al. Med Mycol 2006; 44:611

Candida ID2

	<i>C. albicans</i>	<i>C. dubliniensis</i>	<i>C. tropicalis</i>
Duyarlılık (%)	91-92	98-100	97
Özgüllük (%)	97-100	91-97	100

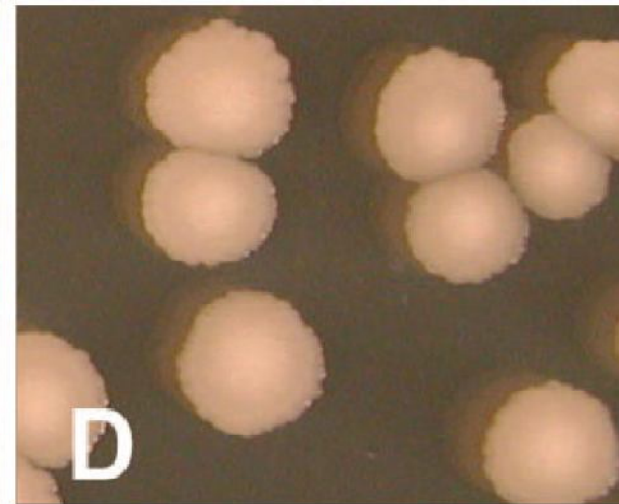
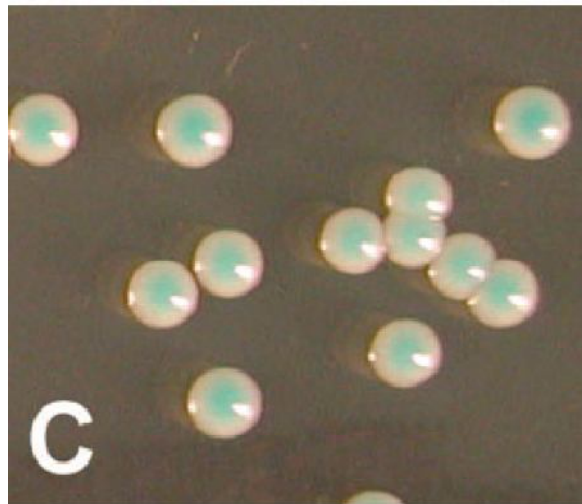
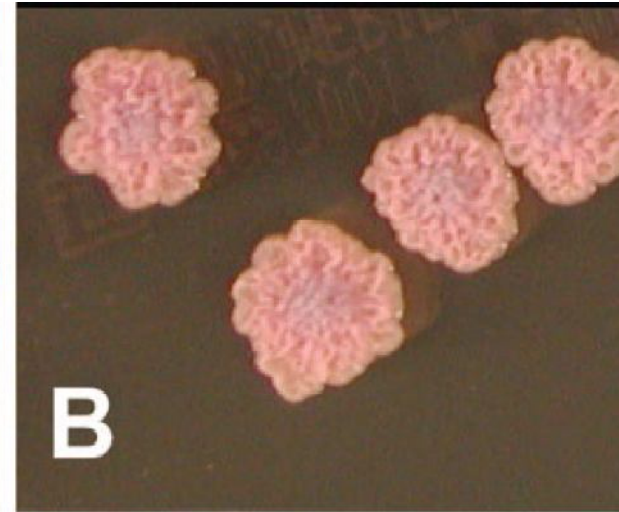
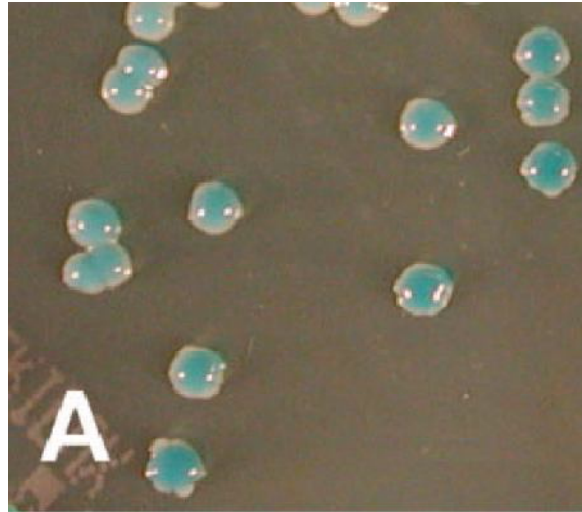
C. krusei için duyarlılık %100

Eraso E, et al. J Clin Microbiol 2006; 44:3340

Eraso E, et al. Med Mycol 2006; 44:611

Candida ID2

- A) *C. albicans*
- B) *C. tropicalis*
- C) *C. dubliniensis*
- D) *C. krusei*

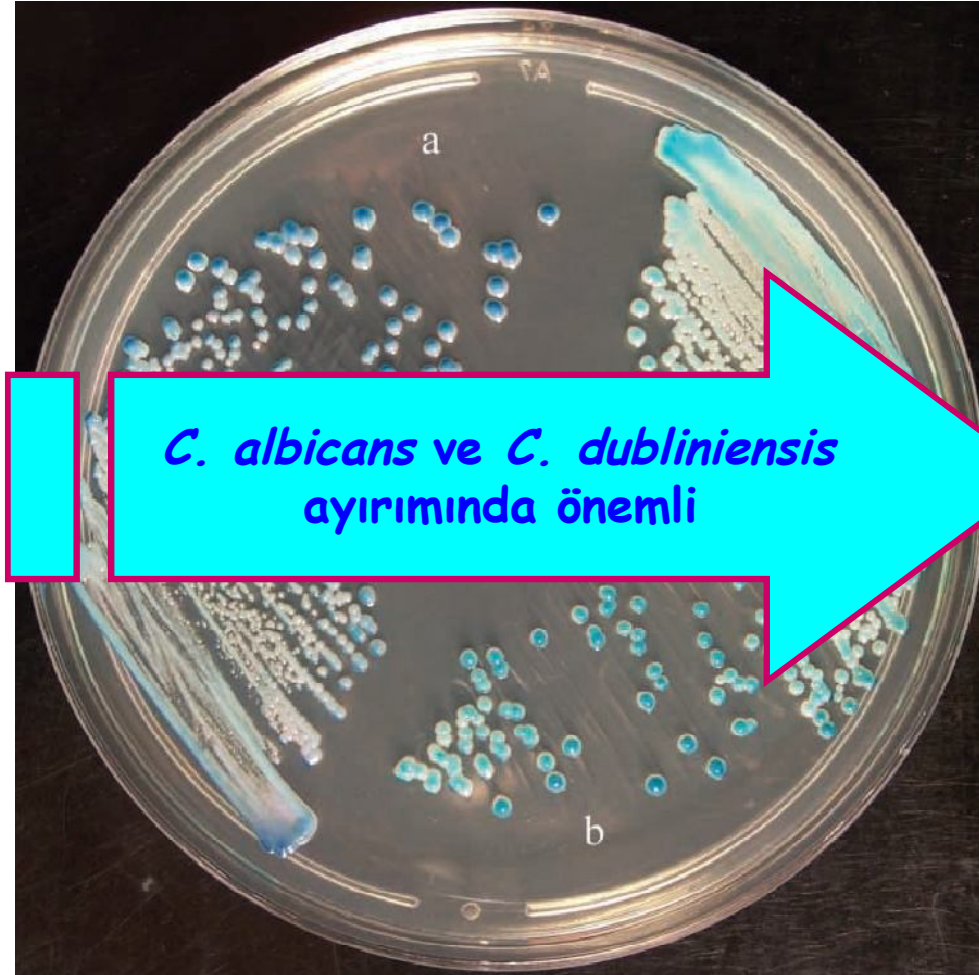


Eraso E, et al. J Clin Microbiol 2006; 44:3340

Candida ID2

C. albicans

C. dubliniensis



C. albicans ve *C. dubliniensis*
ayırımında önemli

Eraso E, et al. *Med Mycol* 2006; 44:611

ChromID Candida agar (CAN2)

- Hekzosaminidaz enzimi için kromojenik substrat içerir
- *C. albicans*: açık mavi-koyu mavi
- *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* ve *C. kefyr*: pembe koloniler
- Diğer türler: krem-beyaz

ChromID Candida agar (CAN2)

➤ *C. albicans* için

- Duyarlılık: %94-98
- Özgüllük: %97-98
- Pozitif prediktivite değeri: %98
- Negatif prediktivite değeri: %94

➤ *C. tropicalis* ve *C. kefyr* için

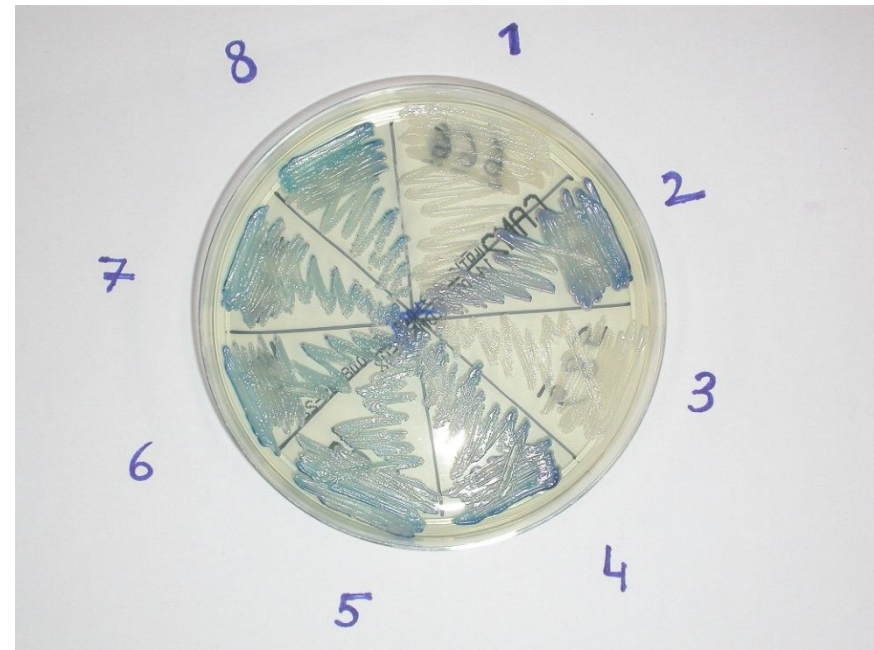
- Duyarlılık: %91
- Özgüllük: %100

Güzel AB, et al. Med Mycol 2011; 49:16

Doluca Yücesoy M, et al. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria 10 - 13 April 2010

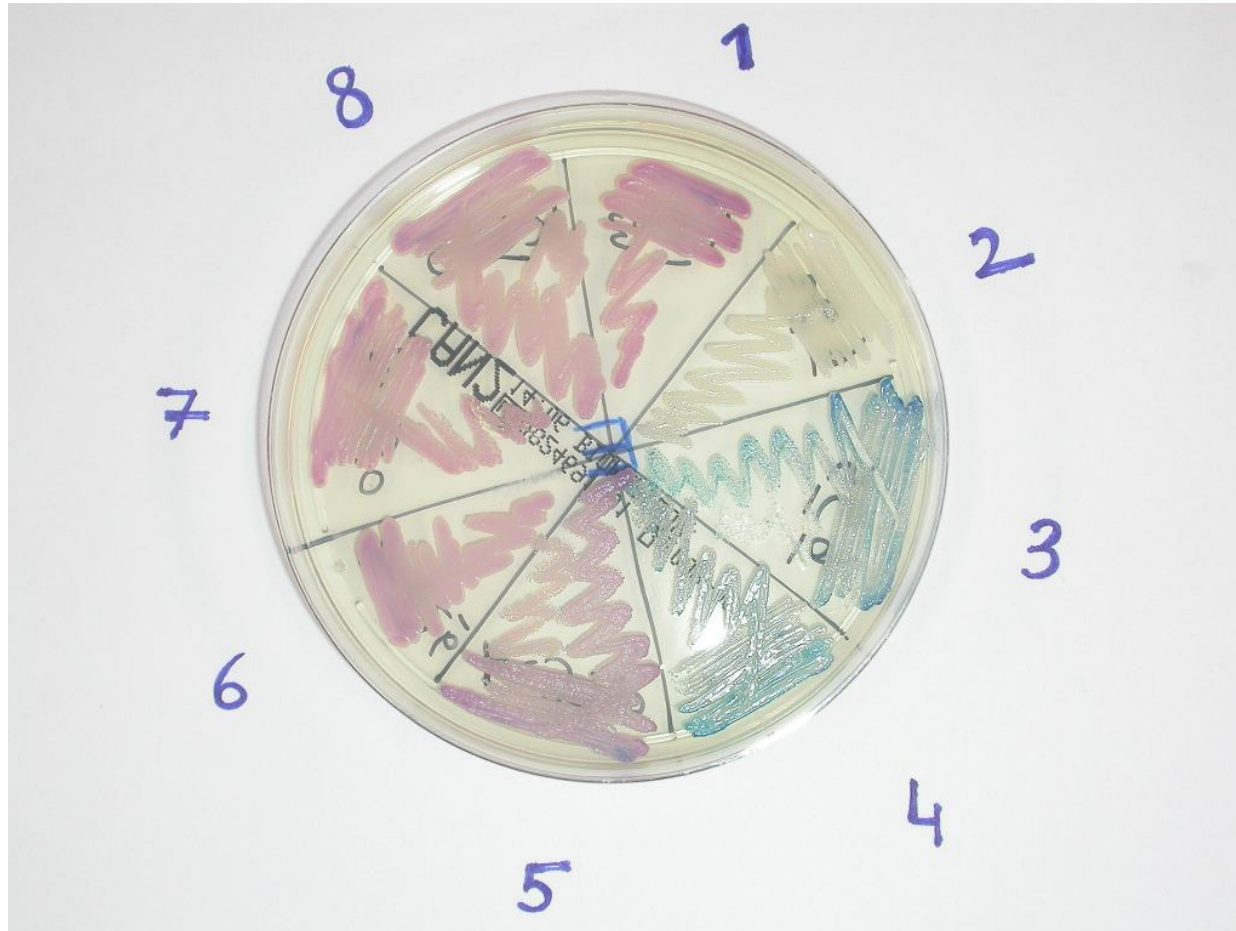
C. albicans'ın hızlı identifikasyonu için önerilebilir

ChromID Candida agar (CAN2)



Doluca Yücesoy M, et al. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria 10 - 13 April 2010

ChromID Candida agar (CAN2)



Doluca Yücesoy M, et al. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria 10 - 13 April 2010

CandiSelect 4

- *C. albicans*: koloninin etrafına difüze olan mor pigmentli pembe-mor koloniler
- *C. tropicalis*: turkuaz renkli S tipi düzgün koloniler
- *C. glabrata*: periferi beyaz, ortası turkuaz renkte parlak düz koloniler
- *C. krusei*: turkuaz-mavi, kuru, R tipi koloniler

CandiSelect 4

C. albicans

(a,c)

C. tropicalis

(b,c)

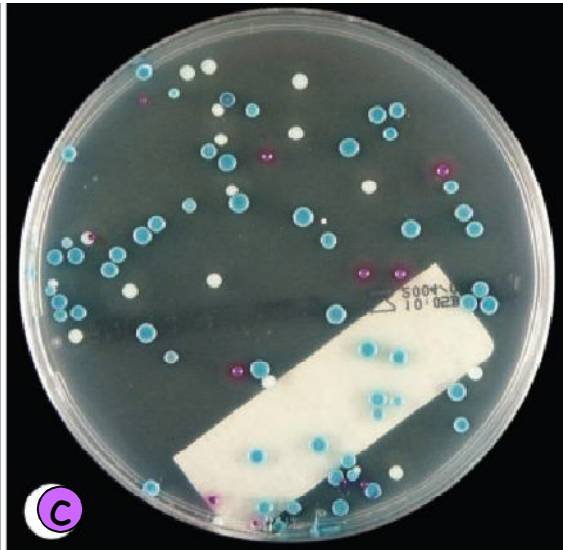
C. glabrata

(c)

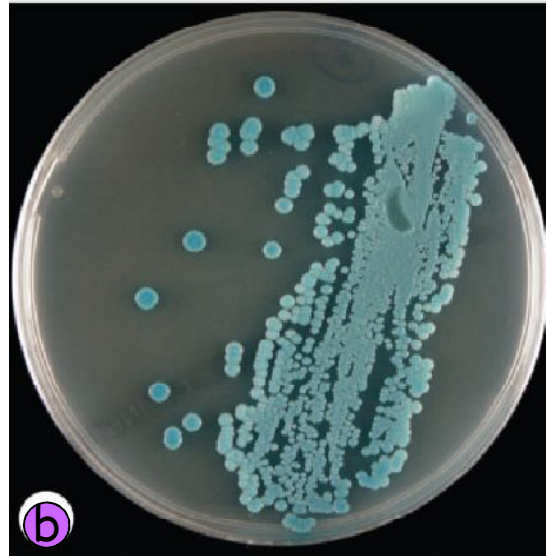
C. krusei (d)



(a)



(c)



(b)



(d)

Sendid B et al. J Med
Microbiol 2007; 56:495

CandiSelect 4

- 48 Saat içinde *C. albicans* suşlarının %83'ü, *C. glabrata* suşlarının %80'i, *C. tropicalis* suşlarının %68'i, *C. krusei* suşlarının %85'i tanımlanmıştır

Major patojen *Candida* türlerinin etkili ve hızlı identifikasyonu için önerilebilir

Sendid B et al. J Med Microbiol 2007; 56:495

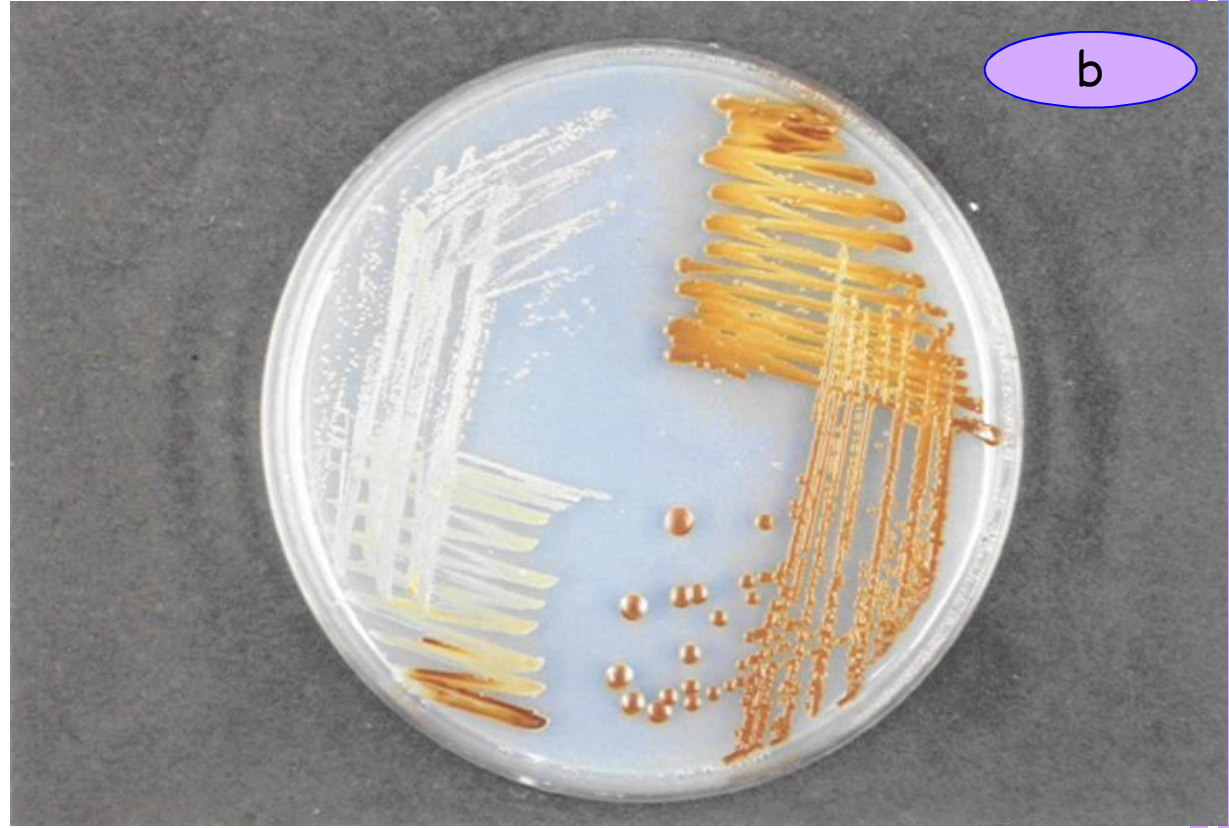
“Bismuth Sulfite Glucose Glycine Yeast” (BiGGY) agar

- Bismut sülfid bakteri üremesini inhibe eder
- Bizmut sülfidin indirgenmesi ile kahverengi-siyah pigmentli koloniler ve koloni çevresinde koyu presipitasyon zonları oluştururlar

BiGGY agar

- *C. albicans*: kahverengi-siyah, S tipi koloni
- *C. tropicalis*: kahverengi, S tipi koloni
- *C. krusei*: koyu kahverengi, pürtüklü, R tipi koloni
- *C. kefyr*: kırmızı kahverengi, yüzeyi düz ve uçları çıkıntılı koloni
- *C. parapsilosis*: çok açık kahverengi, yeşil-gri koloni

BiGGY agar besiyerinde: a) *C. parapsilosis* (üst),
C. albicans (sol), *C. krusei* (alt), *C. tropicalis*
(sağ) b) *C. glabrata* (sol), *C. albicans* (sağ)



Yücesoy M, Marol S. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2003; 2:1

BiGGY agar

	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>
Duyarlılık (%)	60-99	67-87	100
Özgüllük (%)	56-93	92-95	99-100
Pozitif prediktif değer (%)	86-95	56-65	89-100
Negatif prediktif değer (%)	78-86	95-98	100

Kalkancı A ve ark. İnfek Derg 1999; 13:407

Yücesoy M, Marol S. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2003; 2:1

Yücesoy M, et al. Clin Microbiol Infect 2005; 11:245

İlkit M, et al. J Med Microbiol 2007; 56:762

Oxoid Chromogenic Candida Agar (OCCA)

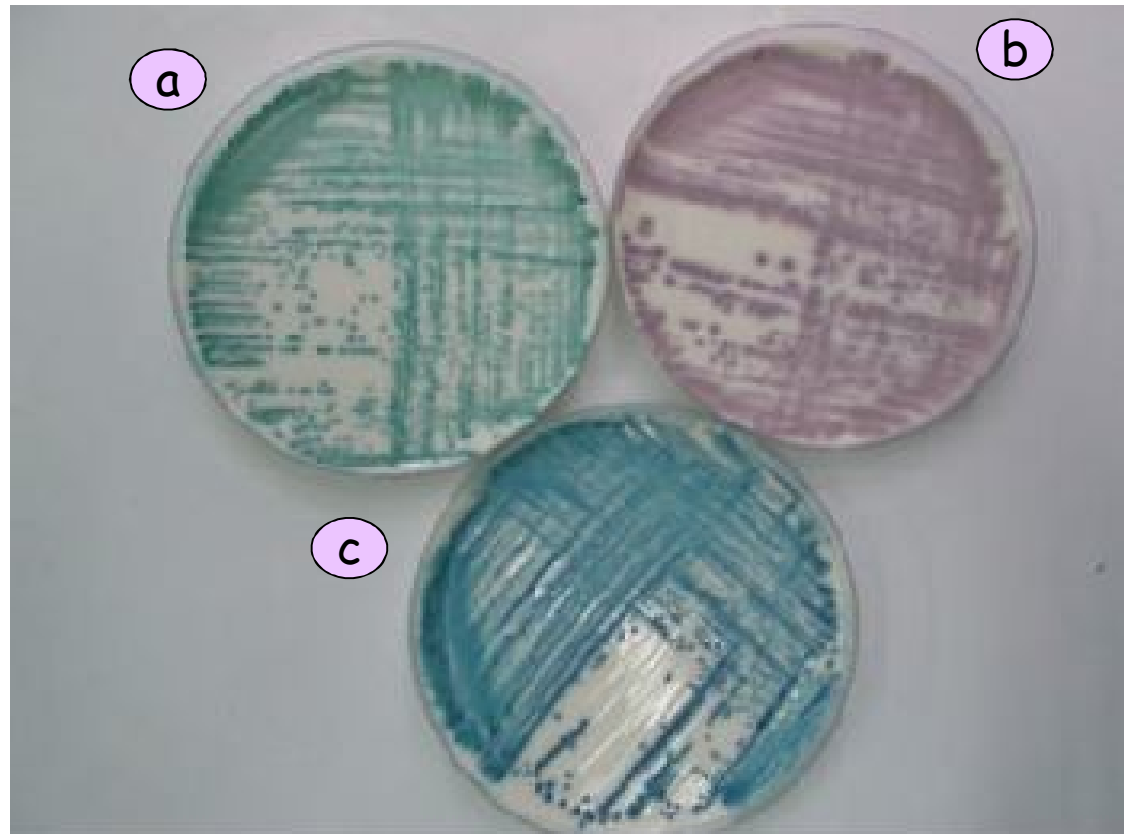
- Hekzos aminidaz ve alkalen fosfataz aktivitesini saptamak için 5-bromo-4-kloro-3-indol/N-asetil beta-D-glukozamid ve 5-bromo-6-kloro-3-indol fosfat p-toludin tuzu substratlarını içerir
- *C. albicans*: yeşil koloniler
- *C. tropicalis*: koyu mavi koloniler
- *C. guilliermondii*: bordo-siyah koloniler
- *C. krusei*: pembe, merkezi koyu renkte, kuru, R tipi koloniler

Oxoid Chromogenic Candida Agar (OCCA)

C. albicans (a)

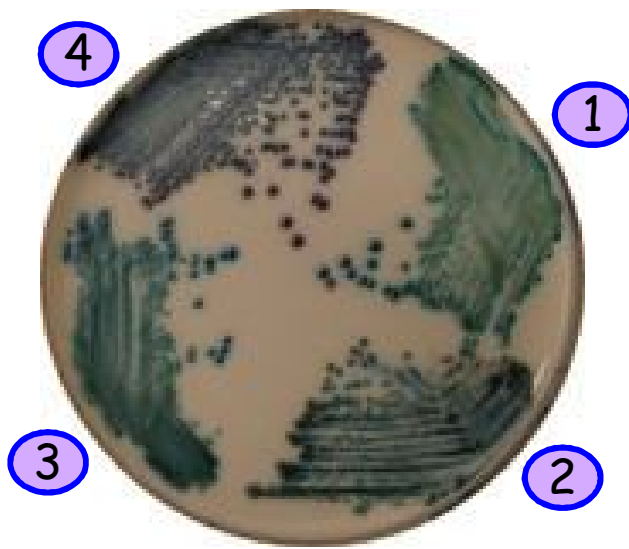
C. krusei (b)

C. tropicalis (c)



Baixench MT, et al. *Mycoses* 2006; 49:311

Chromogenic Candida Agar



- 1) *C. albicans*
- 2) *Trichosporon mucoides*
- 3) *C. dubliniensis*
- 4) *C. tropicalis*



- 1) *C. krusei*
- 2) *Geotrichum capitatum*
- 3) *S. cerevisiae*
- 4) *C. guilliermondii*

Ghelardi E et al. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 141

Chromogenic Candida Agar

	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. glabrata</i>
Duydu (%)				
Özgü (%)			100	100

*****C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *S. cerevisiae*, *T. mucoides* ve *G. capitatum* türlerinin muhtemel identifikasyonunda önerilebilir**
*****C. glabrata* ve *C. parapsilosis* ayırımını yapamamaktadır**

Ghelardi E et al. Clin Microbiol Infect 2008; 14:141

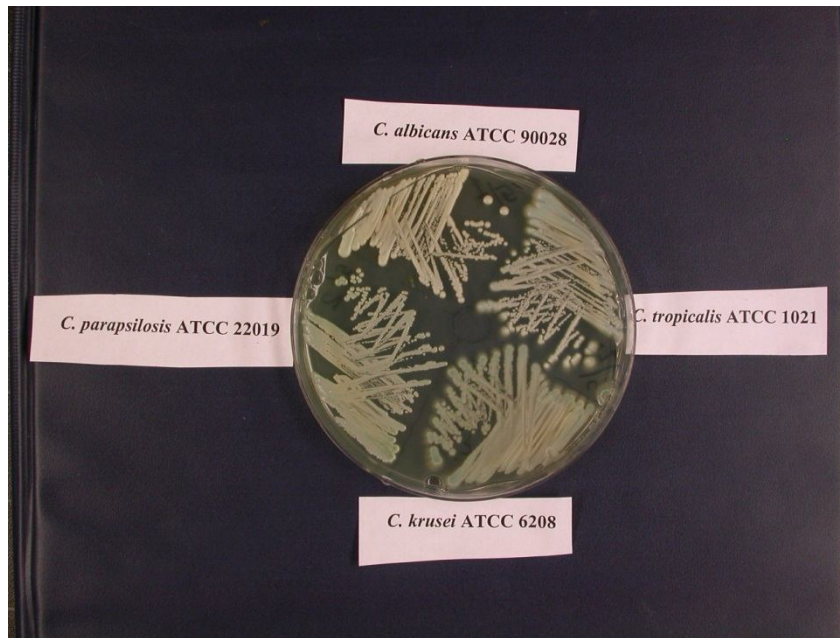
Baixench MT, et al. Mycoses 2006; 49:311

Ozcan K et al. Med Mycol 2010; 48:29

"Brom Cresol Green" (BCG) Agar

- Örneklerden *Candida* izolasyonu ve saptanması amacıyla uygun
- *Candida* türleri düz-pürtüklü koloniler oluşturur ve koloninin etrafı sarı renk alır

"Brom Cresol Green" (BCG) Agar



Yücesoy M, et al. XII. International Congress of Mycology (IUMS) 5-9 August 2008, İstanbul, Türkiye

"Brom Cresol Green" (BCG) Agar

	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
Duyarlılık (%)	99	91
Özgüllük (%)	24	9
Pozitif prediktif değer (%)	69	10
Negatif prediktif değer (%)	95	90

Yücesoy M, et al. XII. International Congress of Mycology (IUMS)
5-9 August 2008, İstanbul, Türkiye



CANDIDA TÜRLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE İDENTİFİKASYONU



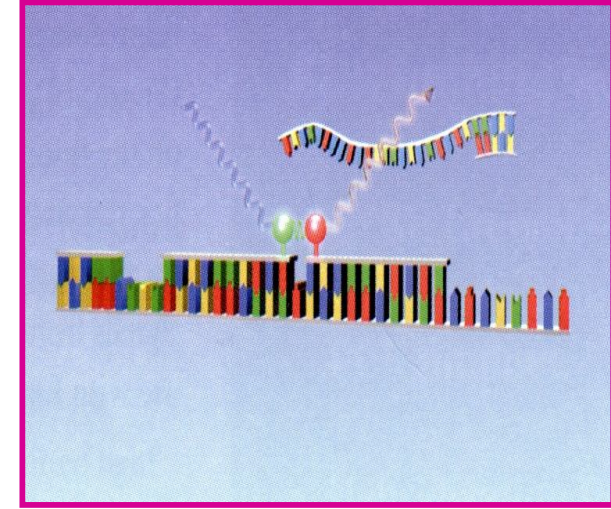
Neden???

- Kültür altın standart
- Klasik yöntemlerle identifikasyon ucuz ve güvenilir
- Kültür ve identifikasyon süresi zaman zaman değişabiliyor
- Klasik yöntemlerle kültürler arası ayırma ve tanımlama veya bazı nadir türleri tanımlama veya bazı türleri tanımlama edilemiyebiliyor

*Kısa sürede ve duyarlı identifikasyon
*Zor identifiye edilenleri tanımlamak

Moleküler Yöntemler

➤ Sinyal çoğaltma yöntemleri



➤ Nükleik asit çoğaltma yöntemleri

Sinyal Çoğaltma Yöntemleri

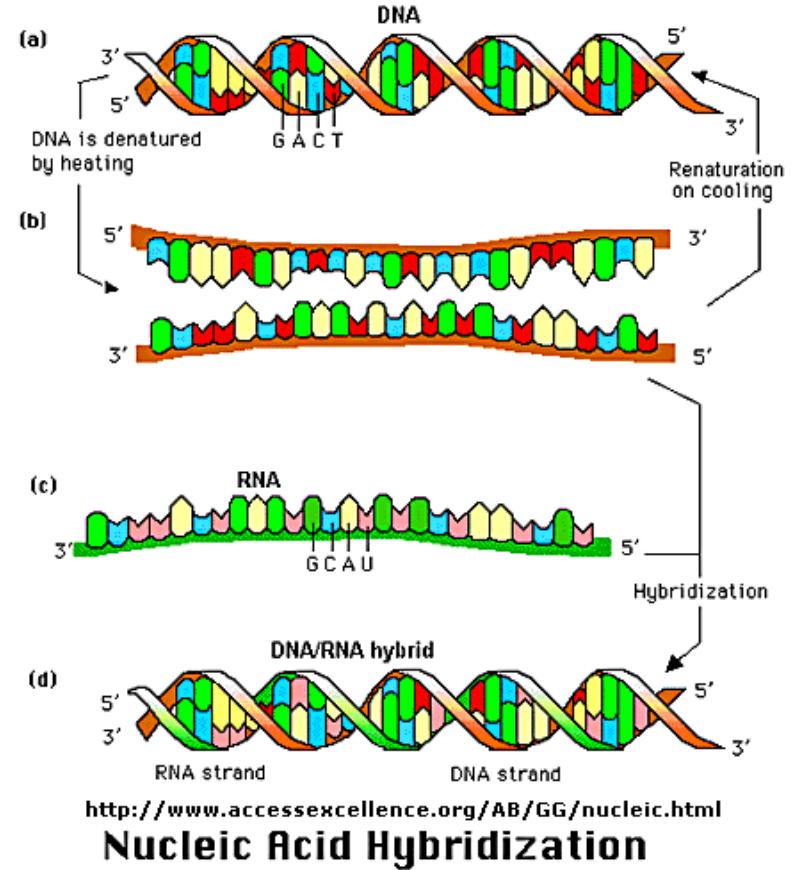
- "Southern blotting"
- "Northern blotting"
- In-situ hibridizasyon
- Diğer yöntemler
 - "Single strand conformation polymorphism"
 - "Panfungal loop mediated isothermal DNA amplification"-hibridizasyon
 - DNA "microarray" yöntemi

Hibridizasyon

** Denatüre olmuş çift iplikli DNA'nın tekrar farklı orjinli ipliklerle biraraya gelmesi

** Amaç işaretli "probe"lar ile etkene ait genetik yapının belirlenmesi

** "Probe"lar; hedef nükleik asitlerin belirli bölgelerine komplementer genellikle 50 bp'den küçük oligonükleotitler



"Southern Blotting"

- Ekstrakte edilen DNA restriksiyon enzimleri ile kesilir
- DNA parçaları agaroz jelde yürütülür
- Nitroselülöz / naylon membrana aktarılır
- Özgül DNA dizilimlerinin yeri "probe"lar kullanılarak belirlenir

"Single Strand Conformation Polymorphism"

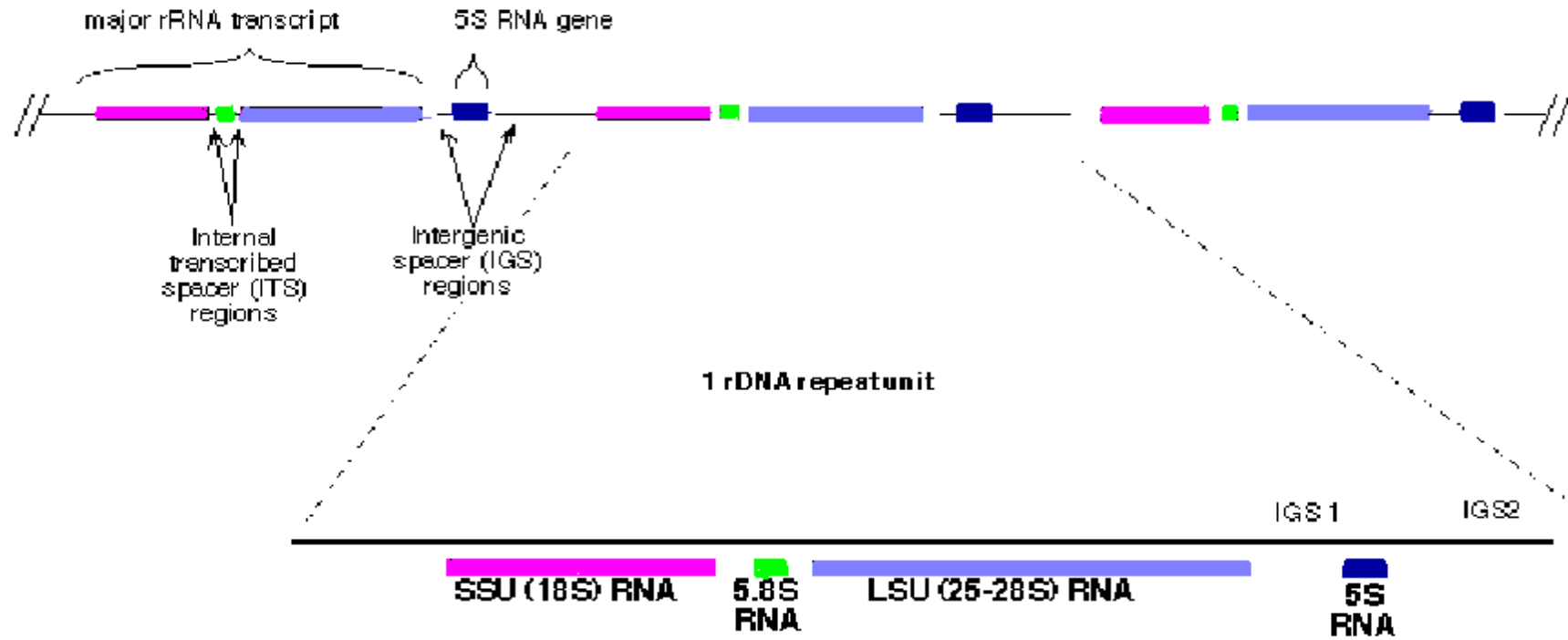
- İki farklı dizinin hibridize olması sonucu ortaya çıkan heterodupleks molekülde yer alan DNA konformasyonundaki farklılığın belirlenmesi esasına dayanan bir yöntemdir

Nükleik Asit çoğaltma yöntemleri

- Polimeraz Zincir Tepkimesi (PZT)
- Polimeraz Zincir Tepkimesi temeline dayalı yöntemler
 - RAPD PZT
 - Rep PZT
 - PZT-Restriksiyon Enzim Analizi (REA)
 - "Nested" PZT - "Seminested" PZT
 - Multipleks PZT
 - "Real Time" (gerçek zamanlı) PZT
 - PZT-"electrospray ionization mass spectrometry"
 - PZT-"high resolution derivative melt analysis"

Polimeraz Zincir Tepkimesi

- Özgül bir gen bölgesinin, hedef bölgenin uç kısımlarına bağlanan iki özgün oligonükleotit öncül aracılığı ile çoğaltılması



CANDIDA TÜRLERİNİN TANISINDA KULLANILAN HEDEF BÖLGELER

Ön çoğaltmada ⇒ bütün mantarlar için ortak, çok tekrarlı ve ileri derecede korunmuş 18S, 5.8S ve 28S rDNA alt üniteleri veya mitokondri DNA'sı (mDNA)

İleri tanımlanmada ⇒ internal transcribed spacer (ITS1, ITS2), sitokrom P-450 lanosterol- alfa-demetilaz, aspartik proteinaz, aktin, kitin sentetaz ve ısı şok proteini kodlayan gen bölgeleri

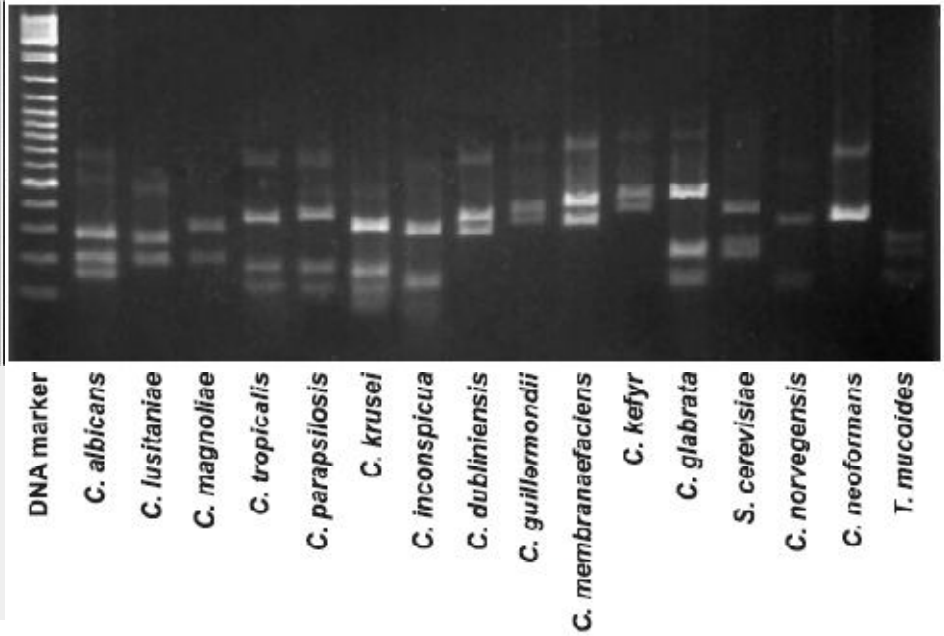
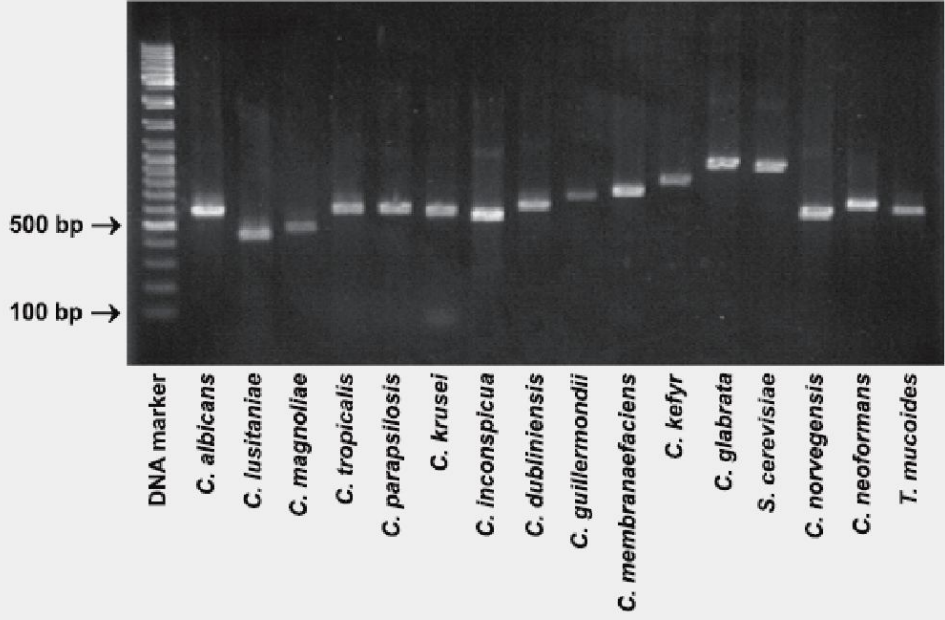
PZT-REA (RFLP)

- DNA izolasyonu
- Sıklıkla ITS1 ve ITS4 universal primerlerle gerçekleştirilir
- DNA'ya PZT-REA sadece standart cihaz donanımına ihtiyaç gereksinim gösteren, net sonuçlar veren, *Candida* türlerinin identifikasyonunda kullanılabilen, hızlı ve basit bir tekniktir
- Kesilen DNA'nın elektrikli jelle elektroforezi ve jelde görüntülenmesi

Trost A et al. J Microbiol Meth 2004; 56:201

Borst A, et al. J Clin Microbiol 2003; 41:1357

Asadzadeh M, et al. J Med Microbiol 2009; 58:745



Trost A et al. J Microbiol Meth 2004; 56:201

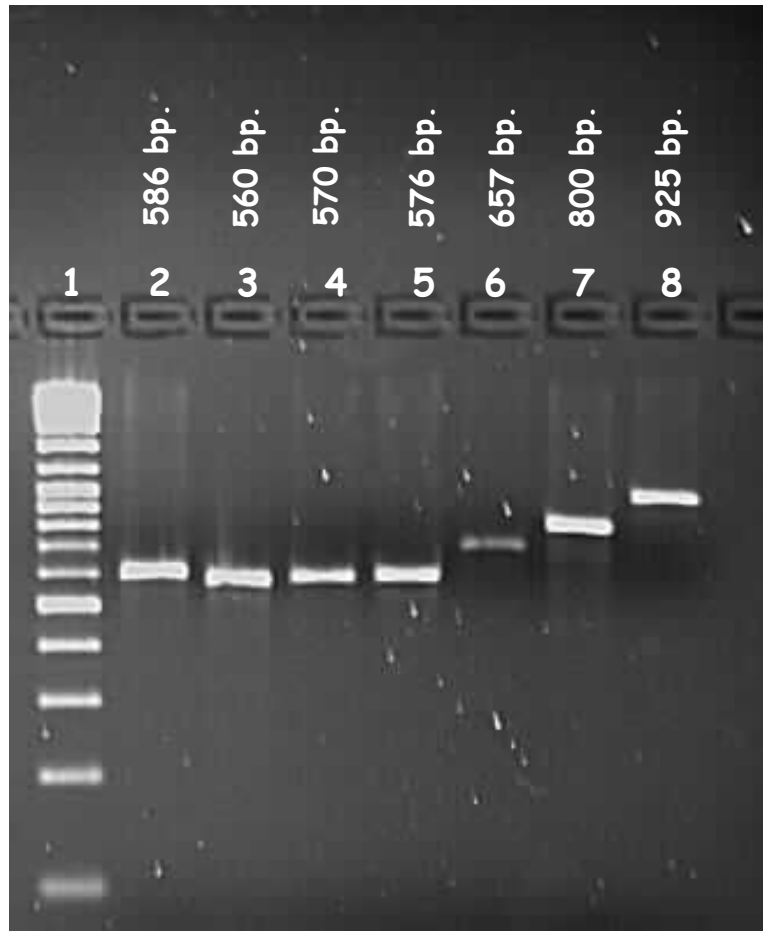
PZT-REA

- Klinik örneklerden soyutlanan 146 *Candida* suşu
- DNA ekstraksiyonu
- PZT
 - Öncül 1 5' GTCAAACCTTGGTCATTTA 3'
 - Öncül 3 5' TTCTTTTCCTCCGCTTATTGA 3'
- PZT ürünlerinin *Mwo*I ve *Bs*/I enzimleri ile kesilmesi ve ürünün agaroz jelde yürütülerek görüntülenmesi



Niş R. Uzmanlık tezi 2007

Bulgular



1 ➤ 100 bp.'lik marker

2 ➤ *C. albicans*

3 ➤ *C. krusei*

4 ➤ *C. parapsilosis*

5 ➤ *C. tropicalis*

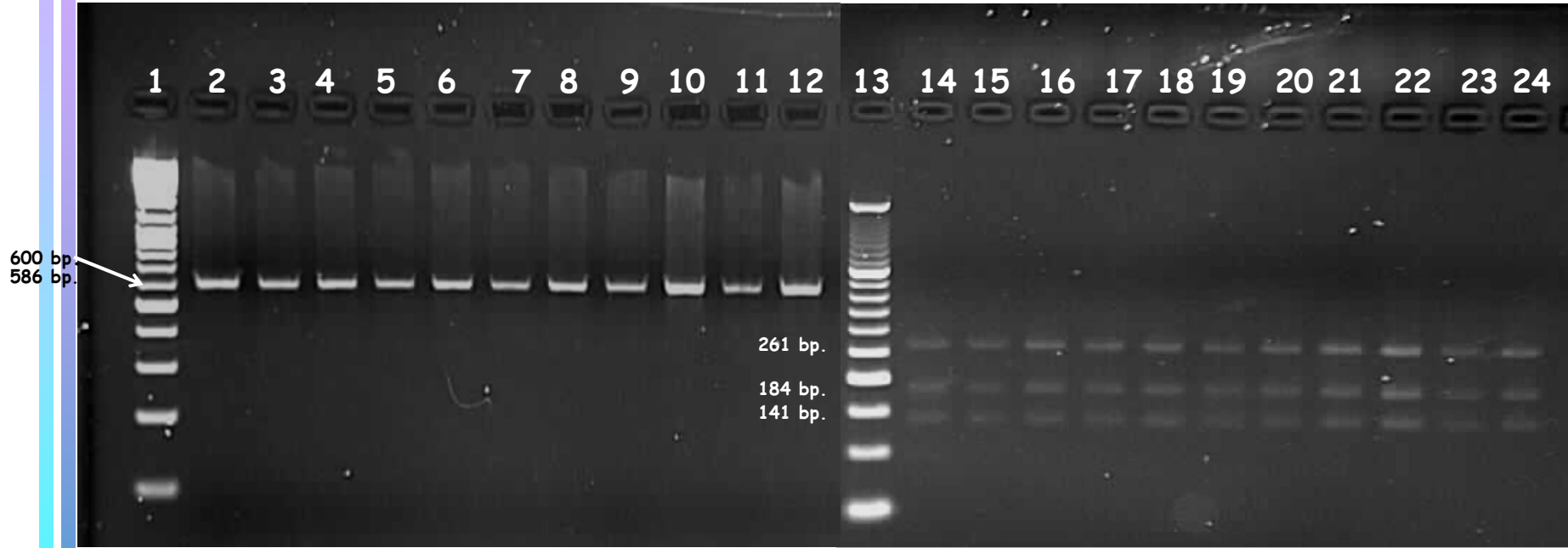
6 ➤ *C. guilliermondii*

7 ➤ *C. kefyr*

8 ➤ *C. glabrata*

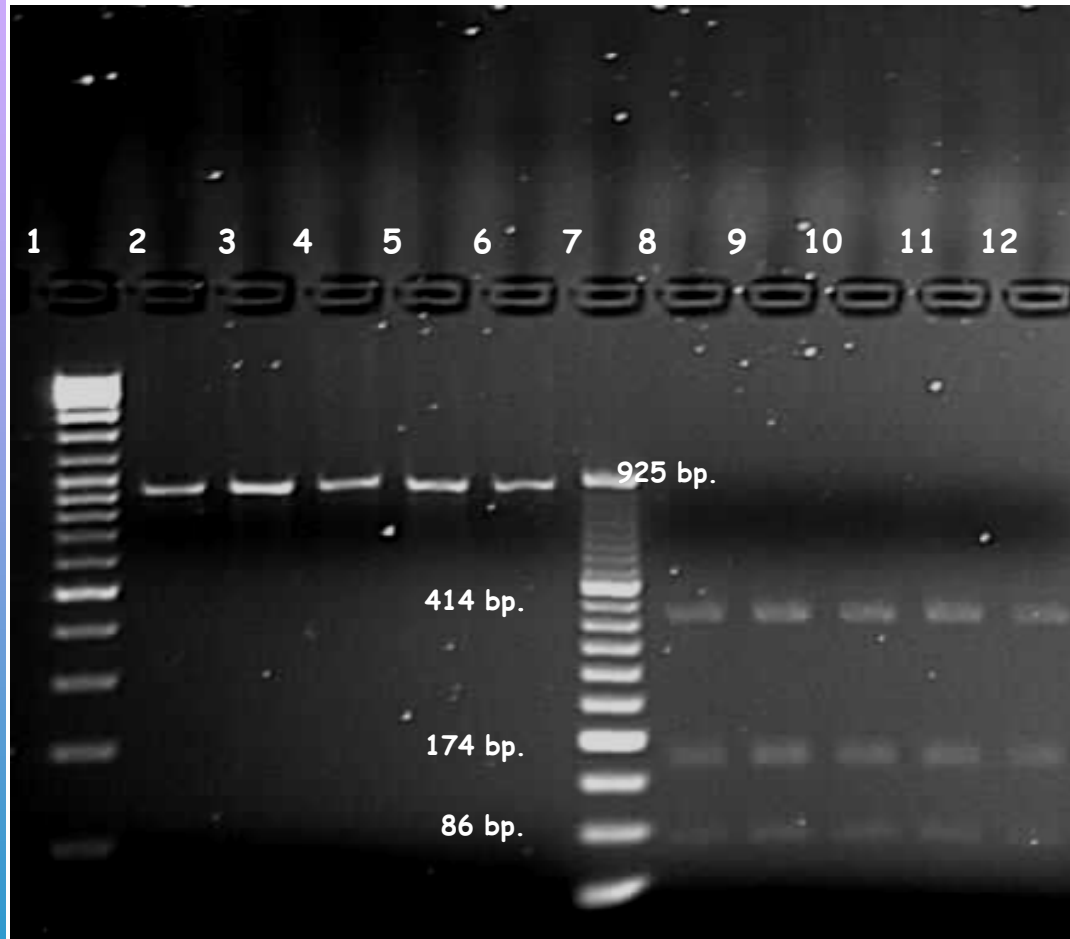
C. albicans

n: 40



- 1,13 ➤ 100 ve 50 bp'lik marker
- 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12 ➤ *C. albicans* PZT ürünleri
- 14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24 ➤ *MwoI* ile kesilen *C. albicans* suşları

C. glabrata n: 20



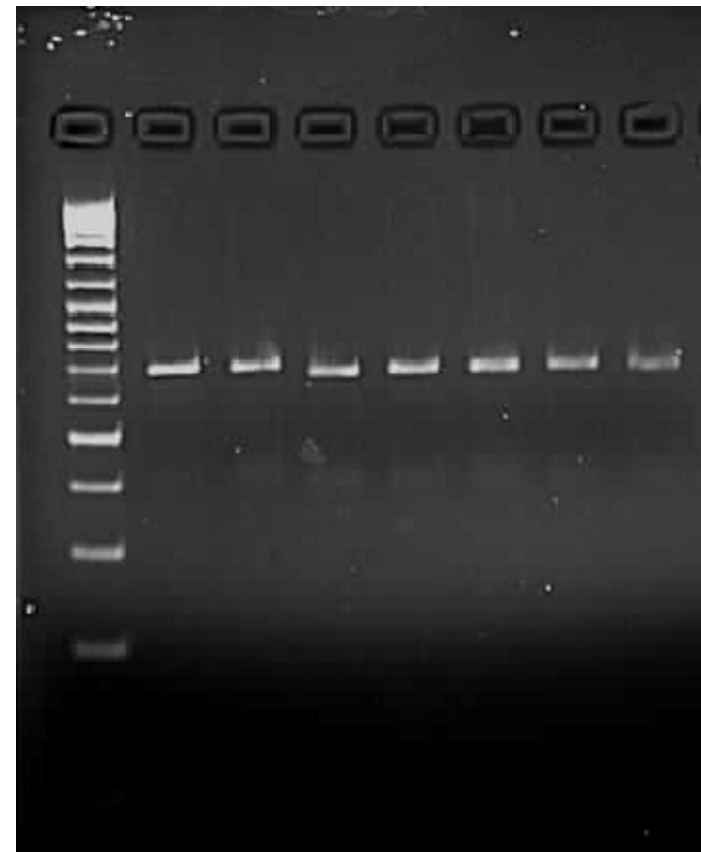
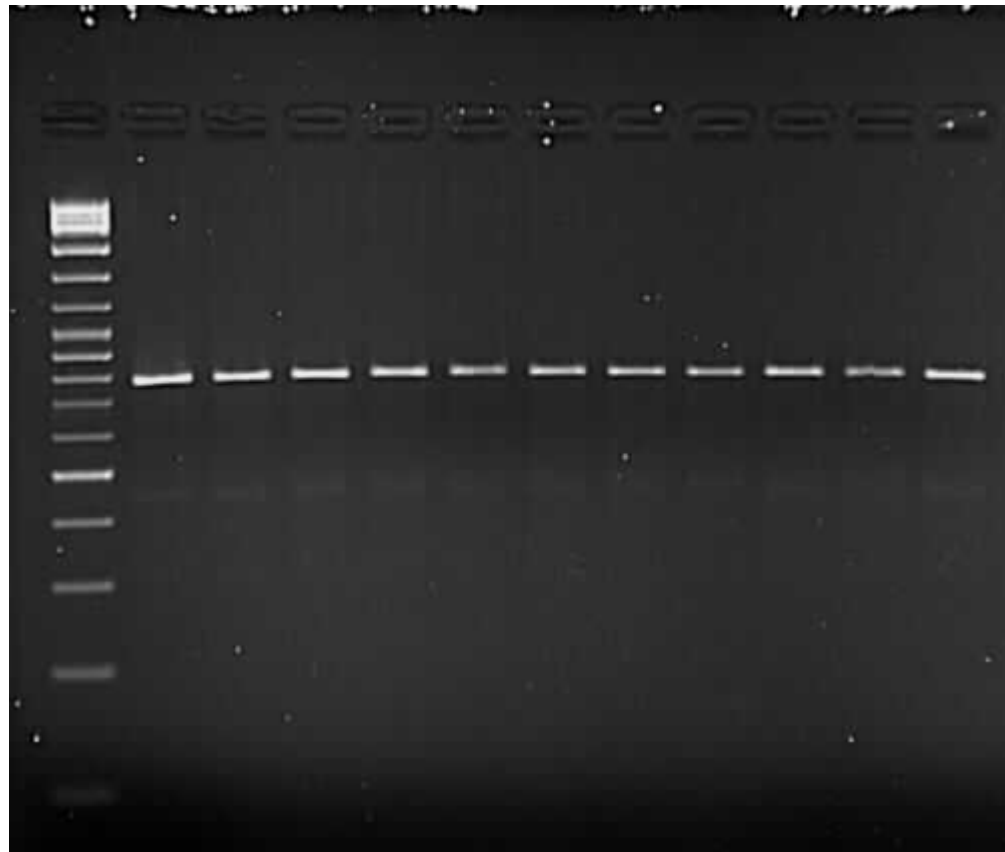
- 1 ➤ 100 bp.'lik marker
- 2,3,4,5,6 ➤ *C. glabrata* PZT ürünleri
- 7 ➤ 50 bp.'lik marker
- 8,9,10,11,12 ➤ *mwoI* ile kesilmiş *C. glabrata* suşları

C. krusei n: 10



- 1 ➤ 100 bp.'lik marker
- 2,3,4,5,6 ➤ *C. krusei* PZT ürünleri
- 8 ➤ 50 bp.'lik marker
- 9,10,11,12,13 ➤ *mwoI* ile kesilmiş *C. krusei* suşları

C. kefyr n: 11, *C. guilliermondii* n: 7



Multipleks PZT

- Öncüller genellikle ITS1-2, 5.8S bölgelerinden seçilir
- Birden fazla türün hızlı, aynı anda, daha kısa sürede identifikasyonunu sağlar
- Yakın türlerin ayırımında önemli
- Duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek

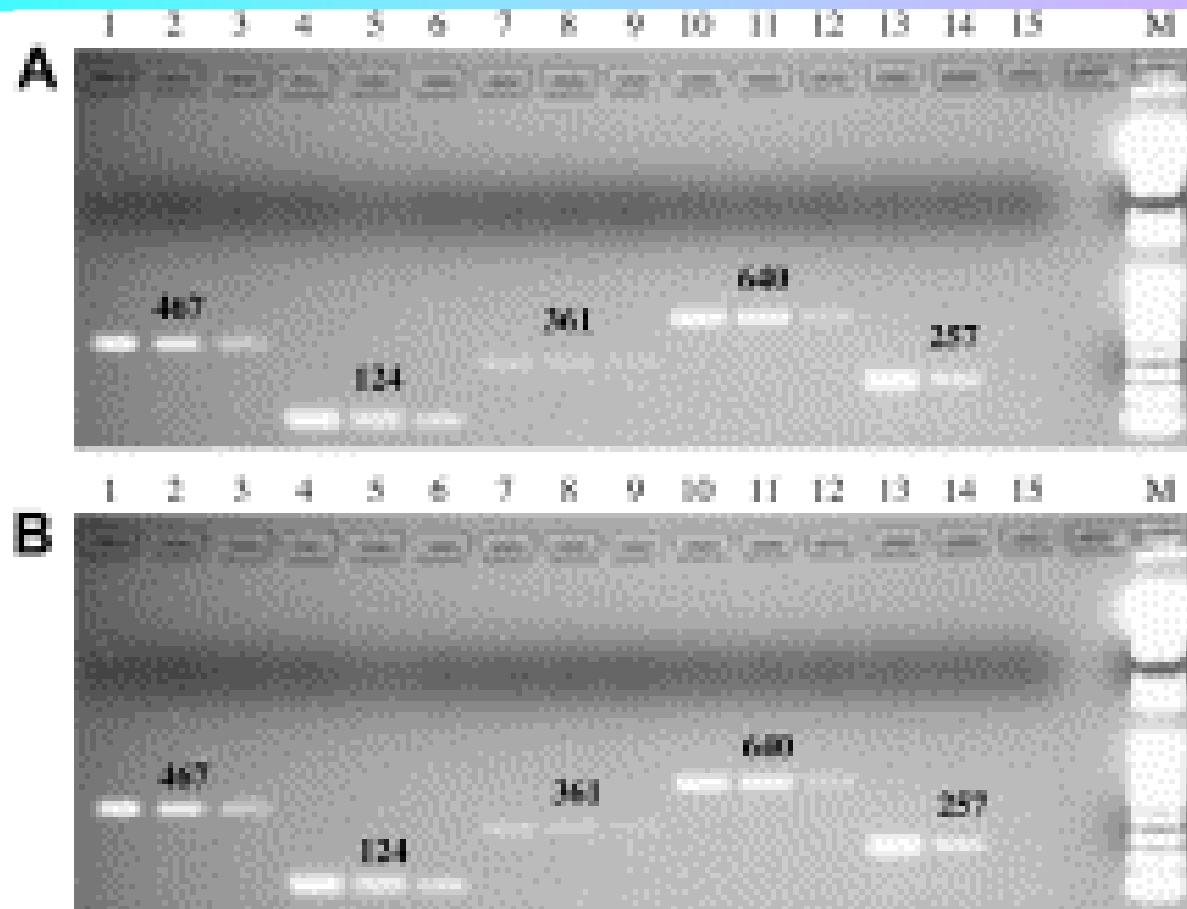
Liguori G, et al. *New Microbiologica* 2010; 33:63

Romeo O, et al. *J Microbiol Methods* 2009; 79:117

Multipleks PZT

- 65 kDa mannoprotein öncülleri
- Beş en sık karşılaşılan *Candida* türünü tanımlayabiliyor
- Tekrarlanabilir, basit, özgün
- Dört saatten daha kısa süren hızlı bir yöntem

Arancia S, et al. *Molecular Cellular Probes* 2009; 23:218

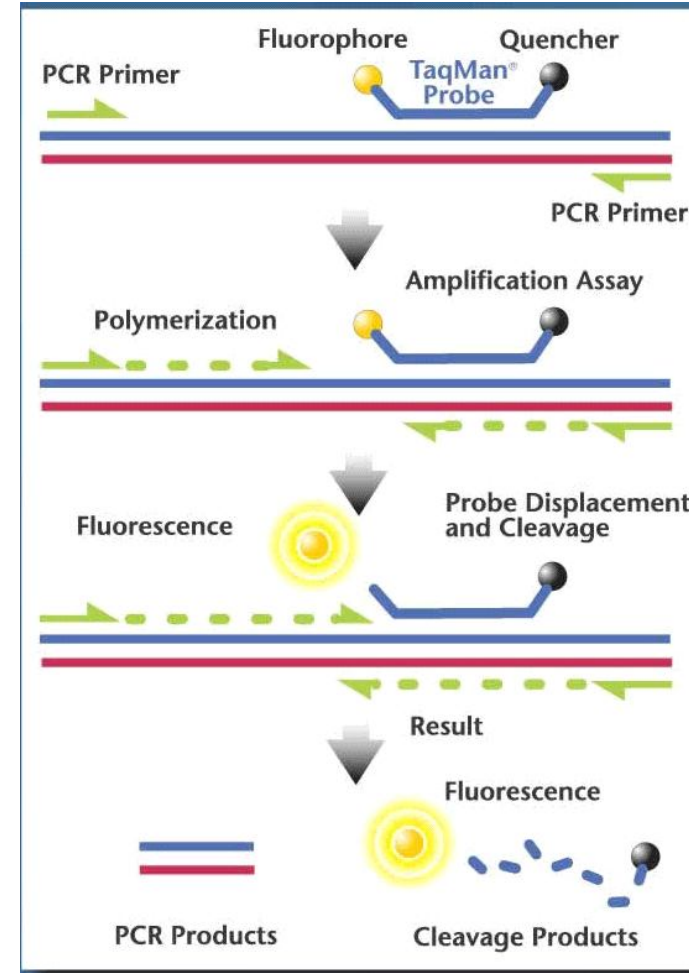


A: *C. albicans* (lanes 1-3), *C. parapsilosis* (lanes 4-6), *C. glabrata* (lanes 7-9), *C. guilliermondii* (lanes 10-12), *C. tropicalis* (lanes 13-15), 1 Kb plus DNA ladder (M).
B: *C. albicans* (lanes 1-3), *C. parapsilosis* (lanes 4-6), *C. glabrata* (lanes 7-9), *C. guilliermondii* (lanes 10-12), *C. tropicalis* (lanes 13-15), 1 Kb DNA ladder (M).

Arancia S, et al. *Molecular Cellular Probes* 2009; 23:218

"Real time" (Gerçek zamanlı) PZT

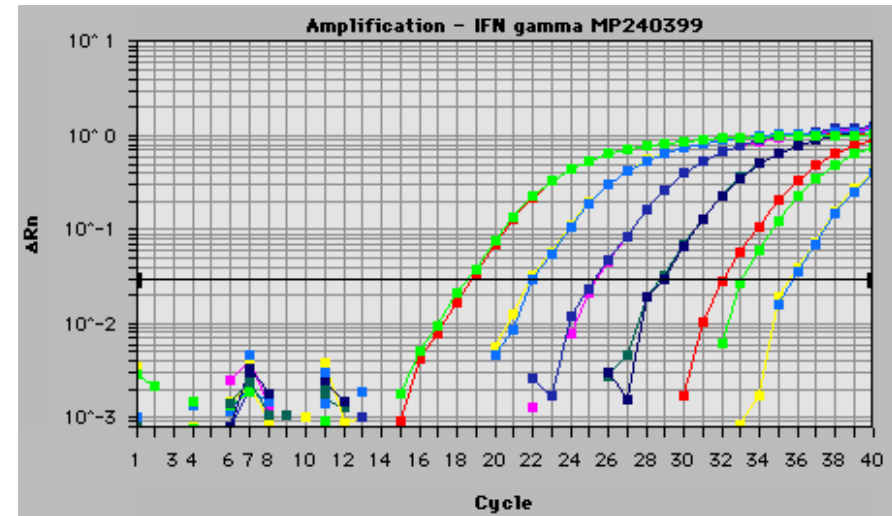
- Nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artan sinyalin ölçümüne dayanır
- Hedef DNA molekülü üzerinde öncüllerin bağlanmasını takiben işaretli "probe" da bağlanır



"Real time" (Gerçek zamanlı) PZT

- *Candida* türlerinin yüksek özgüllükte ve süresiz (< 6 saat) tanımlanmasını sağlar

Hızlı, güvenilir, kantitatif



Innings A, et al. J Clin Microbiol 2007; 45:874

White PL, et al. J Med Microbiol 2003; 52:229

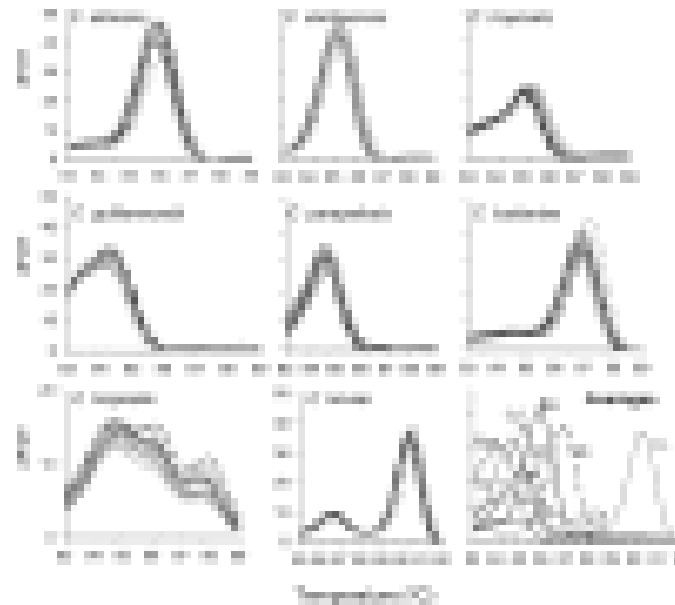
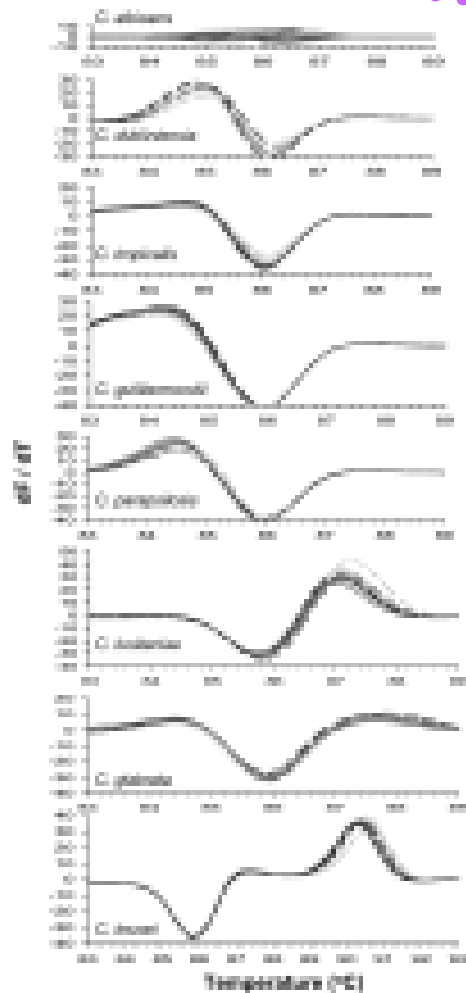
"Nested-Seminested" PZT

- İki aşamalı amplifikasyon yöntemi
- İlk aşamada iki adet dış öncül ile ⇒ hedef molekül üzerinde uzun bir bölgenin amplifikasyonu
- İç öncüller ⇒ dış öncüllerin bağlanma yerlerinin iç kısmında kalan kendilerine özgül bölgelere bağlanırlar ve tekrar amplifikasyon yapılır
- "Seminested" PZT'nin farkı, iç ve dış öncüllerin aynı yerden başlatılması

PZT-“high resolution derivative melt analysis”

- Panfungal rDNA'nın ITS bölgelerine özgü öncüller kullanılarak PCR amplifikasyonu sonrası amplifikatın türüne özgü olarak tanımlanabilmesi için geliştirilmiştir. En az 8 tür *Candida*'yı tanımlayabilen, direkt klinik örnekten de identifikasyon yapabilen, hızlı ve güvenilir bir yöntem.
- Erime eğrileri matematiksel olarak değerlendirilir.
- Erime eğrilerine göre daha fazla bilgi veren erime eğrilerinin şekilleri önemlidir.

PZT-“high resolution derivative melt analysis”



Mandviwala T, et al. J Mol Diagnostics 2010; 12:91

PZT-"electrospray ionization mass spectrometry"

PZT sonrası amplikonların mass spektrometresi ile kütle/yük oranları belirlenir



amplikon baz içeriğine paralel olan her amplikonun ön ve ters iplikçiklerinin moleküler kütlesi belirlenir



genetik parmak izleri bilinen DNA baz içerikleri verileriyle karşılaştırılır

Kaletta EJ, et al. J Clin Microbiol 2011; 49:345

PZT-"electrospray ionization mass spectrometry"

- Kültüre gerek kalmadan kan kültür şişelerinden direk identifikasyon
- Pozitif alarm sonrası 5-6 saat içinde identifikasyon
- Hem klasik yöntemlerle uyumlu, hızlı sonuç verebilen bir yöntem
- Cins ve tür düzeyinde sırasıyla %99 ve %97 oranlarında sırasıyla doğru identifikasyon

Kaletta EJ, et al. J Clin Microbiol 2011; 49:345

SONUÇ

- Klinik örneklerden soyutlanan *Candida* türlerinin prognostik, epidemiyolojik ve terapötik nedenlerle erken, hızlı ve doğru identifikasyonu kritik öneme sahiptir
- Kültür ve klasik yöntemler ile identifikasyon halen altın standart olarak kabul edilmektedir
- *Candida* türlerinin sadece kromojenik besiyerleri ve moleküler yöntemler ile identifikasyonu henüz klasik yöntemlerin yerini alabilecek durumda değildir
- Hızlı ve doğru identifikasyonun önemli olduğu durumlarda, klasik yöntemler ile tanımlamada sorun yaşanan türlerin identifikasyonunda moleküler yöntemler ve kromojenik besiyerleri hız ve doğruluk açısından identifikasyona ek kazanımlar getirecektir





Teşekkür ederim