

Candida Türlerinin
İdentifikasyonunda
Fermentasyon-Asimilasyon
Testleri ve Otomatize Sistemler

Dr Beyza Ener
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

Maya ve Maya Benzeri Mantarlar

- *Ascomycota*
 - *Hemiascomycetes*
 - *Saccharomycetales*
 - *Candida* türleri ve *Candida* türlerinin teleomorfları
 - *Saccharomyces cerevisiae*
 - *Geotrichum* türlerinin teleomorfları
- *Basidiomycota*
 - *Hymenomycetes*
 - *Tremellales*
 - *Trichosporon* türleri
 - *Malassezia* türleri
 - *Cryptococcus* türleri ve *Cryptococcus* türlerinin teleomorfları
 - *Uredinomycetes*
 - *Sporodiales*
 - *Rhodotorula* türlerinin teleomorfları
 - *Sporobolomyces* türlerinin teleomorfları

Candida Türleri

- *Issatchenkia orientalis*
 - *Debaryomyces hansenii*
 - *Pichia guilliermondii*
 - *Pichia fermentans*
 - *Pichia (Hansenula) anomala*
 - *Pichia norvegensis*
 - *Pichia jadinii*
 - *Clavispora lusitaniae*
 - *Kluyveromyces marxianus*
 - *Yarrowia lipolytica*
 - *Galactomyces geotrichum*
 - *Dipodascus capitatus*
- C krusei*
 - C famata*
 - C guilliermondii*
 - C lambica*
 - C pelliculosa*
 - C norvegensis*
 - C utulis*
 - C lusitaniae*
 - C kefyr*
 - C lipolytica*
 - G candidum*
 - G capitatum*

Candida Türleri

- *C albicans*
- *C glabrata*
- *C parapsilosis*
- *C tropicalis*

İdentifikasyon Basamakları

- Üreme özellikleri
- Koloni morfolojisi
- Mikroskobik morfoloji

Çimlenme borusu testi

Üremeden Sonra Hızlı İdentifikasyon (<24 saat)

- Enzimatik aktivitenin belirlenmesi
 - *C albicans*
 - β -galactoaminidaz
 - L-proline aminopeptidase
 - Diğer *Candida* türleri
- Mab kullanarak yapılan lateks aglütinasyon testleri
 - *C albicans* ve *C krusei*
- Hızlı asimilasyon testleri
 - *C glabrata*
 - Trehalose asimilasyonu
- PNA FISH Candida

Enzimatik Aktivitenin Belirlenmesi

- **MUREX CA 50** (Murex Diag, USA)
 - 30 dak
 - Kolorometrik
- **Albicans-Sure** (Clinical Standards Laboratories, USA)
 - 5-10 dak
 - Florometrik (BGAL) ve kolorometrik (LPRO)
- **BactiCard Candida** (Remel, USA)
 - 5-10 dak
 - Florometrik (BGAL) ve kolorometrik (LPRO)
- **Albistrip** (Lab M. Ltd., United Kingdom)
 - 5-10 dak
 - Florometrik (BGAL) ve kolorometrik (LPRO)
- **Rapidec albicans** (bioMerieux, France)
 - 2 saat
 - Florometrik

- **Fungiscreen 4H** (Sanofi Diagnostics Pasteur, France)
- **RapID Yeast Plus System** (Innovative Diagnostic, USA)
- **Uni-Yeast Tek** (Flow Lab, Remel, USA)
- **YeastIdent** (Analytab Products, USA)
- **Microscan Rapid Yeast ID** (Baxter Microscan, Inc., USA)

Enzimatik Aktiviteye Dayanan Besiyerleri

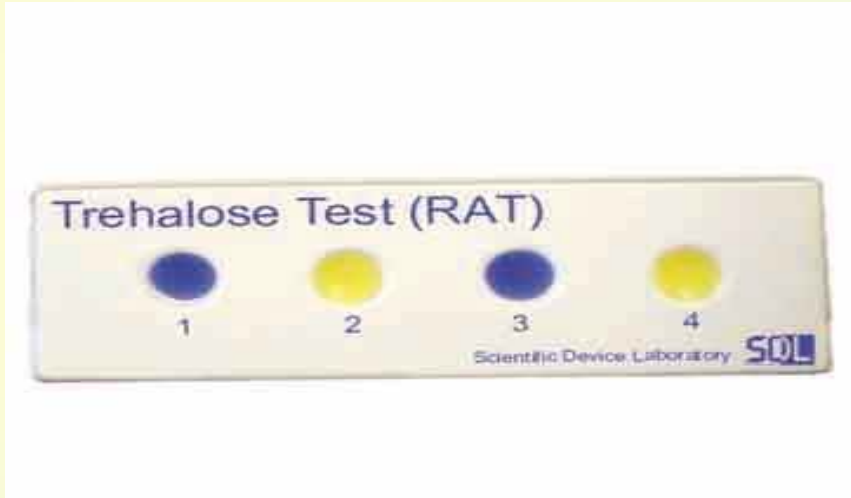
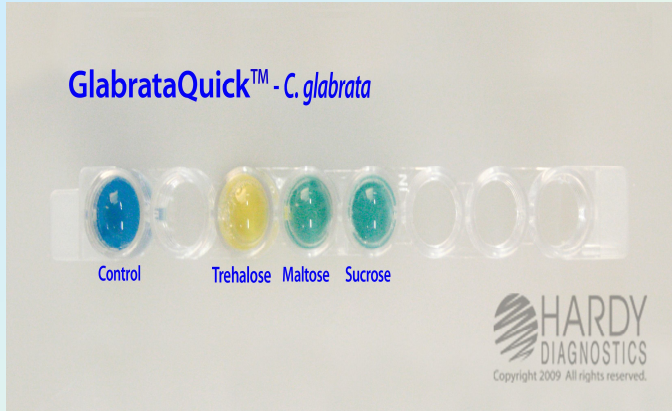
- Fluoroplate Candida agar (Merck, France)
- MUAG (Biolife, Italy)
- Albicans ID (bioMerieux, France)
- Candichrom albicans (International Microbio, France)
- Candiselect (Bio-Rad, France)
- CHROMagar Candida (CHROMagar, France / BBL-BD)
- Oxoid Chromogenic Candida Agar (OCCA, UK)
- HiChrome Candida (HiMedia Lab, Hindistan)

Mab Kullanarak Yapılan Lateks Aglütinasyon Testleri

- Bichro-lateks albicans test (Fumouze,France)
 - *C albicans* hücre duvarında bulunan >200kd glikoprotein
 - Kırmızı lateks partiküller
 - Lateks partiküller-yeşil boyada = kahverengi
- Bichro-lateks krusei test (Fumouze,France)

Hızlı Trehaloz Asimilasyon Testi

- *C glabrata*'nın 3 saatte tanımlanması
 - CLSI M35-A
 - YNB + Bromkresol yeşili + %40 trehaloze
 - 42°C'da inkübasyon
- Ticari sistemler (Maltoz ve sukrozo beraber kullanılmaktalar)
 - GlabrataQuick (Hardy Lab, USA)
 - Trehalose Test=RAT Test (Scientific Device Lab, USA)
 - Glabrata RTT (Fumouze, France)



Karbon ve Nitrojenin Kullanılması (Asimilasyon Testleri)

- Maya identifikasyonunda esas basamak
- Değişik karbonlar kaynaklarının için
 - Yeast Nitrogen Base
- Değişik azot kaynaklarının kullanılması için
 - Yeast Carbon Base
- Sıvı (Wicherham-Burton yöntemi)ya da katı (auxanographic yöntem) ortamlar
 - 4 gün

Karbonhidrat Fermentasyonu

- Deney tüplerine 4.5 ml %2'lik şeker solüsyonundan konur
- Deney tüplerine ters olarak Durham tüpleri yerleştirilir
- Otoklavda steril edilerek Durham tüplerinin tamamen sıvı ile dolması sağlanır
- 7 ml YNB besiyerinde üretilen suştan 0.5 ml alınarak 4.5 ml üzerine eklenir
- 3 hafta 30°C'da inkübe edilir

Ticari Sistemler

- API 20 C AUX
- API ID 32 C
- Vitek 2 yeast cards (YST)=Kolorimetrik
 - 53 tür, 14 cins
- Vitek 2 yeast cards (ID-YST)=Florimetrik
 - 50 tür, 11 cins
 - 20 karbonhidrat asimilasyon
 - 6 organik asit asimilasyon
 - Oksidaz aktivitelerini göstermek için 8 substrat
 - Arilamidaz aktivitesi için 9 substrat
 - 4 adet farklı testler
- BBL Minitek
- Microbial Identification System (MIDI)

Sonuç

- *Candida* türlerinin idetifikasyonunda biyokimyasal reaksiyonlar çok önemli
- Biyokimyasal sonuçlar mutlaka morfoloji ile desteklenmeli
- Çok fazla ticari sistem bulunmakta
- Genellikle özgüllük ve duyarlılıkları >%90
- Hiçbiri klasik sistemlerle tamamen uyumlu değil
- Enzimatik reaksiyonlara dayanan hızlı sistemler olası tanı sağlamakta; **Raporlarken dikkat !!!!!**
- Laboratuvarların kapasitesi ile uyumlu en ucuz sistem kullanılmalı