

# Otomatize İdentifikasyon Sisteminin İmmün Trombositopenili Bir Hastadaki Fungemi Etkeni *Candida lusitaniae*'yi *Candida famata* Olarak Hatalı Biçimde Tanımlaması

*Misidentified Candida lusitaniae, Causative Agent of Fungemia, as Candida famata by Automated Identification System in a Patient With Immune Thrombocytopenia*

Oktay Yapıcı<sup>1</sup>, Halil Er<sup>2</sup>, Zübeyde Eres-Sarıtaş<sup>2</sup>, Betil Özhak-Baysan<sup>2</sup>, Meral Dilara Öğünç<sup>2</sup>, Gözde Öngüt<sup>2</sup>, Alparslan Merdin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Manisa Devlet Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Manisa, Türkiye

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

<sup>3</sup>Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji Kliniği ve Kemik İliği Nakli Ünitesi, Ankara, Türkiye

## Özet

*Candida* türleri arasında antifungal direnç farklılıkları görüldüğünden, *C. albicans*'ın yanı sıra albicans dışı türlerin doğru biçimde tanımlanması, mortalitesi yüksek olan *Candida* infeksiyonlarının tedavisi için önemlidir. Bu yazıda, immünoşüprese hastalar için fırsatçı patojen olan *C. lusitaniae*'nin, VITEK® 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize identifikasyon sistemiyle hatalı biçimde *C. famata* olarak tanımlandığı bir fungemi olgusu sunulmuştur. İzolatın konvansiyonel yöntemlerle *C. lusitaniae* olarak adlandırılması üzerine, tanımlama gerek MALDI-TOF/MS (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) gerekse Phoenix 100 (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi kullanılarak doğrulanmıştır. Bu olgu da göstermektedir ki klinik önemi olan *Candida* türlerinin çoğunun konvansiyonel yöntemlerle tanımlanabilmesine karşılık, otomatize sistemlerle, özellikle nadir görülen türler her zaman doğru biçimde tanımlanamaz. Bu nedenle tanımlamada otomatize sistemlerle birlikte konvansiyonel tanı yöntemleri de kullanılmalı, gerektiğinde daha ileri moleküler tanı yöntemlerine başvurulmalıdır. *Klimik Dergisi* 2017; 30(3): 149-52.

**Anahtar Sözcükler:** *Candida lusitaniae*, *Candida famata*, identifikasyon, fungemi.

## Abstract

Since *Candida* species have different antifungal resistance characteristics, accurate identification of non-albicans *Candida* besides *C. albicans* is important for treatment of *Candida* infections with high mortality. In this report, a case of fungemia due to *C. lusitaniae* an opportunist pathogen for immunosuppressed patients, misidentified as *C. famata* by VITEK® 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) automated identification system was presented. Since isolate was identified as *C. lusitaniae* by conventional methods, its identification was confirmed using both MALDI-TOF/MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) and Phoenix 100 (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) automated system. This case demonstrated that even though most of the clinically important *Candida* species can be identified by conventional methods, automated systems do not always make accurate identifications for rare species in particular. For this reason, conventional diagnostic methods should also be used together with automated systems, and further molecular diagnostic methods should be applied if necessary. *Klimik Dergisi* 2017; 30(3): 149-52.

**Key Words:** *Candida lusitaniae*, *Candida famata*, identification, fungemia.

**Cite this article as:** Yapıcı O, Er H, Eres-Sarıtaş Z, et al. [Misidentified *Candida lusitaniae*, causative agent of fungemia as *Candida famata* by automated identification system in a patient with immune thrombocytopenia]. *Klimik Derg.* 2017; 30(3): 149-52. Turkish.

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:**

Oktay Yapıcı, Manisa Devlet Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Manisa, Türkiye

E-posta/E-mail: yapicio@hotmail.com

(Geliş / Received: 15 Haziran / June 2017; Kabul / Accepted: 16 Eylül / September 2017)

DOI: 10.5152/kd.2017.36



## Giriş

*Candida* türleriyle fungemi sıklığı giderek artan önemli bir sorundur. Bu artışın sebepleri arasında kanser, organ nakli nedeniyle alınan immünoşüpresif tedaviler ve HIV ile infekte hasta popülasyonundaki artışın yanı sıra intravenöz kateter kullanımındaki, invazif uygulamalardaki, total parenteral beslenme ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımındaki artışın da etkili olduğu görülmektedir (1,2). 150'den fazla *Candida* türünden yalnızca küçük bir kısmı insanlar için patojendir. *Candida* türleri arasında antifungal direnç farklılıkları görüldüğünden, *C. albicans*'ın yanı sıra *albicans* dışı türlerin doğru biçimde tanımlanması, mortalitesi yüksek olan *Candida* infeksiyonlarının tedavisi için önemlidir (3,4).

Bu yazıda, immünoşüpre hastalar için fırsatçı patojen olan *C. lusitaniae*'nin, otomatize identifikasyon sistemiyle hatalı biçimde *C. famata* olarak tanımlandığı bir fungemi olgusu sunulmuştur.

## Olgu

Dokuz yıl önce kolon adenomu nedeniyle operasyon ve üç yıldır immün trombositopeni nedeniyle steroid kullanımı öyküsü olan 80 yaşında erkek, üşüme, titreme, bulantı, halsizlik ve oral alımda bozulma şikayetleriyle acil servise başvurdu. Fizik muayenesinde genel durumu orta, bilinci açık, vücut sıcaklığı 36.7°C, nabız 90/dakika, TA 110/80 mmHg, solunum sayısı 20/dakikaydı.

Başvurusunda tokluk kan glukozu 346 mg/dl, C-reaktif protein 281 mg/lt, kreatinin 1.3 mg/dl, üre 41 mg/dl, eritrosit sedimentasyon hızı 40 mm/saat, alanin aminotransferaz 63 Ü/lt, aspartat aminotransferaz 35 Ü/lt, total protein 5.2 gr/dl, albümin 2.5 gr/dl, alkalin fosfat 125 Ü/lt, hemoglobin 16.5 gr/dl, lökosit 27 200/mm<sup>3</sup> (%84 polimorfonükleer lökosit), trombosit 157 000/mm<sup>3</sup> bulundu. İdrar incelemesinde pyüri

saptandı. Transtorasik ekokardiyografisinde vejetasyon saptanmadı. Karın ultrasonografisinde, sağ böbrekte en büyüğü 8 mm çaplı taş, sol böbrekte 2 cm kistle uyumlu görünüm saptandı. Karaciğer ve dalak normal boyutlardaydı.

Hastanın tekrarlayan idrar yolu infeksiyonu öyküsü dikkate alınarak kan ve idrar kültür örnekleri alındıktan sonra intravenöz ertapenem başlandı. Alınan kan kültürleri BacT/Alert® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize sisteminde inkübe edildi. Gerek kan gerekse idrar kültürünün yapıldığı besiyerlerinde maya hücreleri üredi. Göz dibi muayenesi normal olan, nötropeni, klinik olarak sepsis tablosu ve önceden flukonazol kullanımı olmayan hastaya, kandidemi ön tanısıyla, 12 mg/kg yükleme sonrası 6 mg/kg flukonazol ampirik olarak başlandı. İzolat, VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize sistemiyle *C. famata* (%88) olarak tanımlandı ve antifungal duyarlılık testinde flukonazol ve mikafungine dirençli olduğu saptandı. Bunun üzerine hastanın tedavisi 3 mg/kg lipozomal amfoterisin B olarak değiştirildi.

İzolat, tür tanımlamasının doğrulanması için incelendiği Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Bölümünde Columbia kanlı agar ve Sabouraud dekstroz agarına ekildi. 37°C'de 24-48 saat inkübe edilen besiyerlerinde krem rengi düzgün yüzeyleli maya kolonileri üredi (Resim 1). Germ tüp oluşturmadığı saptanan izolat, CHROMagar *Candida* Medium (CHROMagar, Paris, Fransa)'da mavi-yeşil renkli koloniler, mısır unu Tween® 80 agarında ise ince dallanmış yalancı hiflerin yanı sıra kısa zincirler yapan blastokonidyumlar oluşturdu (Resim 2 ve 3).

"Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry" (MALDI-TOF/MS, Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) kullanılarak, izolat *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*'nin telemorf ismi); Phoenix 100 (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemiyle de *C. lusitaniae* olarak tanımlandı.



**Resim 1.** Sabouraud dekstroz agarındaki *Candida lusitaniae* kolonileri.



**Resim 2.** CHROMagar *Candida* Medium'daki *Candida lusitaniae* kolonileri.



**Resim 3.** *Candida lusitanae*'nin mısır unu Tween® 80 agarında oluşturduğu ince dallanmış yalancı hifler.

Etest® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile flukonazol ve amfoterisin B için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sırasıyla 0.25 µg/ml ve 16 µg/ml olarak belirlendi. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerilerine göre izolatin flukonazole dirençli olduğu kabul edildi.

*C. lusitanae*'de amfoterisin B için klinik sınır değerinin ve epidemiyolojik "cut-off" değerlerinin olmamasına karşın, ampirik olarak başlanan tedaviye klinik ve laboratuvar yanıtın olması nedeniyle lipozomal amfoterisin B uygulamasına devam edildi. Antifungal tedavi, metastatik bir komplikasyon saptanmadığından, steril kan kültürü sonrası 14 güne tamamlandı. Hasta şifayla taburcu edildi.

### İrdeleme

*Candida* türleri, memelilerin deri, gastrointestinal ve genital sistemlerinin mikrobiyotasında yer alan mikroorganizmalardır. Kandidemi gelişmesinde total parenteral beslenme, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, kortikosteroid tedavisi, abdominal cerrahi, akut böbrek yetmezliği, granülositopeni, diabetes mellitus, malignite ve fungal kolonizasyon, en sık gözlenen risk faktörleri arasında sayılabilir (5). Sunulan olguda risk faktörü olarak geçirilmiş abdominal cerrahi ve steroid kullanımı bulunmaktadır.

*Candida* türlerinin tanımlanmasında sistematik yaklaşım önem taşımaktadır. Günümüzde çok sayıda maya identifikasyon sistemi bulunmaktadır. Bunlarla sık izole edilen maya türleri kolayca tanımlanabilmektedir; ancak bazen tanımlamanın doğrulanması gerekmektedir. Mısır unu Tween® 80 agarı veya benzeri besiyerlerinde mayaların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi tanımlamada esastır. Sorunlu izolatlarda tanımlamanın DNA sekans analizi veya MALDI-TOF/MS ile doğrulanması gereklidir.

Bu olguda üretilen mikroorganizmanın tanımlanmasında ilkin VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize sistemi kullanılmış ve bu suş *C. famata* olarak tanımlanmıştır. Ancak izole edilen suşun doğrulama amacıyla yapılan ileri incelemesinde, dizi analizi yapılamamışsa da,

uygulanan konvansiyonel yöntemler, Phoenix 100 otomatize sistemi ve MALDI-TOF/MS yöntemiyle *C. lusitanae* olduğu anlaşılmıştır. VITEK® 2, biyokimyasal parametrelere göre tanımlama yapan bir sistemdir. Karabıçak ve arkadaşları (6) VITEK® 2'nin sık izole edilen türleri (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*) doğru tanımlayabildiğini göstermiştir (6).

MALDI-TOF/MS, son yıllarda bakteri ve maya mantarlarının tanımlanmasında da kullanılmaya başlanmıştır. Kültürde üreyen maya mantarlarının tür düzeyinde tanımlanması konvansiyonel ve otomatize yöntemlerle birkaç günde, kütle spektrometresiyle ise dakikalar içinde gerçekleştirilmektedir. MALDI-TOF/MS ile maya mantarlarının identifikasyonunda kolay, güvenilir (%85-100) ve hızlı sonuç alındığına ilişkin çok sayıda yayın yapılmıştır (7,8).

Kim ve arkadaşları (9), olgumuza benzer şekilde, VITEK® 2 otomatize identifikasyon sistemiyle *C. famata* olarak yanlış tanımlanan, daha sonra MALDI-TOF/MS ve gen dizi analiziyle doğrulamaları yapılan iki *C. parapsilosis* ve bir *C. lusitanae* izolatinin etken olduğu üç kandidiyaz olgusu bildirmiştir. Güney Kore'de yapılan diğer bir çalışmada klinik *Candida* izolatlarının tür düzeyinde tanımlanmasında VITEK® 2, Phoenix otomatize identifikasyon sistemleri, iki farklı MALDI-TOF/MS sistemi ve gen dizi analizi sonuçları karşılaştırılmıştır. Gen dizi analiziyle, VITEK® 2 sisteminin *C. famata* olarak tanımladığı *Candida* izolatlarından hiçbirinin *C. famata* olmadığı belirlenmiştir (10). Castanheira ve arkadaşları (11), SENTRY ve ARTEMIS surveians programlarından toplanan ve VITEK® 2, MicroScan (Siemens AG FWB, Almanya), API (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ve AuxaColor (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, Fransa) tanımlama sistemleriyle *C. famata* olarak tanımlanmış 53 suşun dizi analizini yapmış ve 19'unun *C. guilliermondii*, 14'ünün *C. parapsilosis*, beşinin *C. lusitanae*, dördünün *C. albicans*, üçünün *C. tropicalis* ve beşinin diğer *Candida* türleri olduğunu belirlemiştir. Hatalı tanımlanan üç izolatin ise *Kodomaea ohmeri*, *Debaryomyces nepalensis* ve *Debaryomyces fabryi* olduğu bildirilmiştir (11).

*C. lusitanae* kandidemilerin %1-2'sine sebep olmaktadır. *C. famata*'dan farklı olarak *C. lusitanae* azollere duyarlıyken, amfoterisin B'ye yüksek düzeyde doğal direnç gösterebilmektedir (4). *C. lusitanae*'nin *C. famata* olarak sonuç vermesi antifungal tedaviyi yanlış yönlendirebilir. *C. lusitanae*'nin amfoterisin B'ye maruz kaldıktan sonra da yüksek sıklıkta fenotipik dönüşüm göstererek duyarlı iken dirençli hale gelebildiği gösterilmiştir. Bu nedenle, persistan infeksiyonu olan hastalar için amfoterisin B duyarlılık testinin tekrarlanması gerektiği vurgulanmaktadır (12). Alp ve arkadaşları (13), 212 *Candida* suşunun amfoterisin B'ye duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada, 53 *C. lusitanae* izolatinin tamamına yakınının amfoterisin B'ye duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. *C. lusitanae*'nin etken olduğu ve flukonazolla başarıyla tedavi edildiği kandidemi olgusunun ve literatür derlemesinin sunulduğu bir diğer çalışmada, amfoterisin B'nin *in vitro* duyarlılık testi sonuçlarının hasta tedavi başarısını öngörmediği bildirilmiştir (14).

Klinik önemi olan *Candida* türlerinin çoğu klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında konvansiyonel yöntemler ve otomatize sistemlerle tanımlanabilmektedir; ancak nadir görülen

suşların tanımlamasında otomatize sistemlerin her zaman doğru tanımlamayı yapmadığı unutulmamalıdır. Nadir görülen bu türlerinin doğru saptanması, tedavi seçiminde belirleyici olabilmektedir. Bu nedenle, otomatize sistemlerle birlikte konvansiyonel tanı yöntemleri de kullanılmalı, gerektiğinde daha ileri moleküler tanı yöntemlerine başvurulmalıdır.

#### Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

#### Kaynaklar

- Ortega M, Marco F, Soriano A, *et al.* Candida species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. *J Hosp Infect.* 2011; 77(2): 157-61. [\[CrossRef\]](#)
- Nucci M, Queiroz-Telles F, Tobón AM, Restrepo A, Colombo AL. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clin Infect Dis.* 2010; 51(5): 561-70. [\[CrossRef\]](#)
- Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis.* 2011; 11(2): 142-51. [\[CrossRef\]](#)
- Cruciani M, Serpelloni G. Management of Candida infections in the adult intensive care unit. *Expert Opin Pharmacother.* 2008; 9(2): 175-91. [\[CrossRef\]](#)
- McKinnon PS, Goff DA, Kern JW, *et al.* Temporal assessment of Candida risk factors in the surgical intensive care unit. *Arch Surg.* 2001; 136(12): 1401-8. [\[CrossRef\]](#)
- Karabıçak N, Uludağ Altun H, Karatuna O, *et al.* Mikrobiyoloji laboratuvarlarında maya türlerinin tanımlanmasında sık kullanılan ticari sistemlerin değerlendirilmesi: çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyol Bül.* 2015; 49(2): 210-20. [\[CrossRef\]](#)
- Bizzini A, Greub G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16(11): 1614-9. [\[CrossRef\]](#)
- Lacroix C, Gicquel A, Sendid B, *et al.* Evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of Candida species. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20(2): 153-8. [\[CrossRef\]](#)
- Kim HY, Huh HJ, Choi R, Ki CS, Lee NY. Three cases of candidiasis misidentified as Candida famata by the Vitek 2 system. *Ann Lab Med.* 2015; 35(1): 175-7. [\[CrossRef\]](#)
- Kim TH, Kweon OJ, Kim HR, Lee MK. Identification of uncommon Candida species using commercial identification systems. *J Microbiol Biotechnol.* 2016; 26(12): 2206-13. [\[CrossRef\]](#)
- Castanheira M, Woosley LN, Diekema DJ, Jones RN, Pfaller MA. Candida guilliermondii and other species of Candida misidentified as Candida famata: assessment by Vitek 2, DNA sequencing analysis, and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in two global antifungal surveillance programs. *J Clin Microbiol.* 2013; 51(1): 117-24. [\[CrossRef\]](#)
- Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20(1): 133-63. [\[CrossRef\]](#)
- Alp Ş, Sancak B, Arkan S. Candida türlerinin amfoterisin B duyarlılığının E-test ve iki farklı besiyeri ile önerilmiş olan direnç sınır değerlerine göre araştırılması. *Mikrobiyol Bül.* 2008; 42(2): 293-30.
- Hawkins JL, Baddour LM. Candida lusitanae infections in the era of fluconazole availability. *Clin Infect Dis.* 2003; 36(2): 14-8. [\[CrossRef\]](#)