

20.11.2015

08:43:41

**BURCU
DALYAN CİLO**

3. Ulusal
Klinik Mikrobiyoloji
Kongresi-2015

18-22 Kasım 2015
Dünya Kongre Merkezi
Beşiktaş, İstanbul

Konvansiyonel Tanıda Klinik Örneklerin Deęeri ve Anlamlılığı

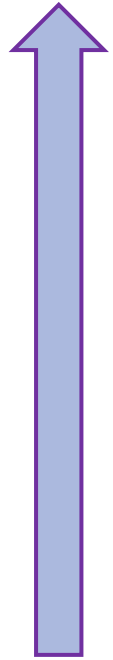
Uzm.Dr. Burcu Dalyan Cilo

Uludaę Üniversitesi Tıp Fakóltesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Giriş

- Mantarların neden olduğu enfeksiyonlar
 - tedavideki gelişmelere bağlı
 - immünsüpresif hasta sayısının artması
 - geniş spektrumlu antibiyotikler
 - invazif kateter uygulamaları
 - major cerrahi girişimler
 - fırsatçı hastane enfeksiyonları arasında ilk sıralarda



Giriş

- Mantar Enfeksiyonları

- Yüzeyel
- Lokalize
- Yaygın invazif

Konağın bağışıklık durumu

- Mortalite ve morbiditenin azaltılması

ERKEN TANI

Konvansiyonel Tanı

- Direkt mikroskopik inceleme



- Kültür





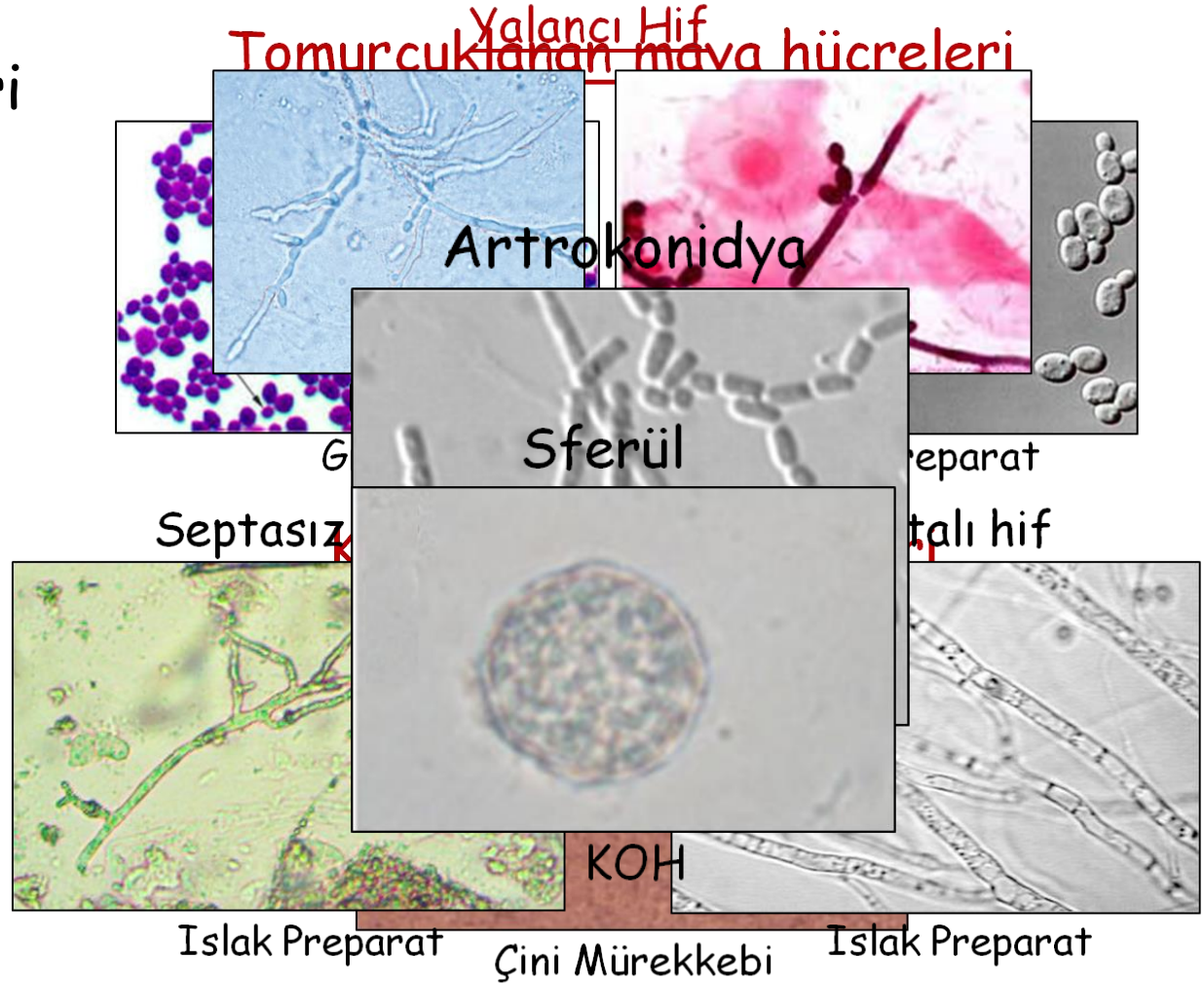
Direkt Mikroskopik İnceleme

- Islak preparat
 - Potasyum hidroksit ile ıslak preparat
 - Kalkoflor beyazı
 - Çini mürekkebi
- Gram boyama
- Metenamin gümüşleme
- Periyodik asit-Schiff

Direkt Mikroskopik İnceleme



- Maya hücreleri
- Yalancı hif
- Gerçek hif
 - Septasız
 - Septalı
- Artrokonidya
- Sferül





Direkt Mikroskopik İnceleme

AVANTAJ

- Hızlı, pratik
- Örnekte mantar elemanlarının saptanması ve incelenmesi **OLASI TANI**

- **Kesin tanı koydurmaz**
 - cins ve tür tanımlaması
 - antifungal duyarlılık

KÜLTÜR



DEZAVANTAJ



Direkt Mikroskopik İnceleme

AVANTAJ

- Mikroskopi (+) → ~~Kontaminasyon~~
- *Mucorales*

- Duyarlılık değişken
 - örnek miktarı
 - hazırlama tekniği
 - tecrübe

DEZAVANTAJ

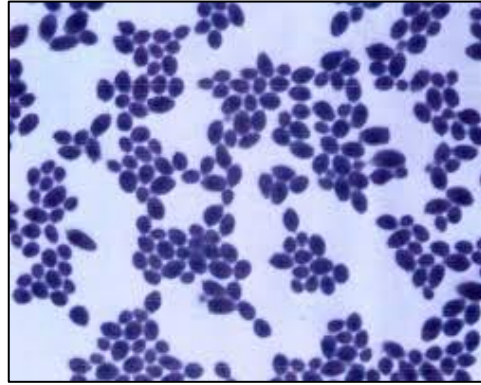


KÜLTÜR

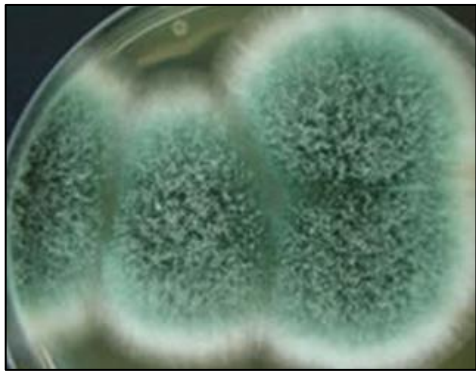
- Mantar enfeksiyonlarının tanısı
- Altın standart yöntem



Etken?



Kolonizasyon?



Kontaminasyon?

Etken? Kolonizasyon? Kontaminasyon?

- Altta yatan hastalık
- Kullanılan
 - antimikrobiyaller
 - tıbbi araçlar
- Coğrafik ortam
- Hastane ortamı
- Örneğin
 - türü
 - alım tekniği
 - işlenmesinin uygunluğu



Örnek Alma

- Uygun örnek
- Yeterli miktarda
- Steril koşullarda
- Kuruması önlenerek
- Hızlı transport
- Mümkün olan en kısa sürede işlem
- Klinik tanı
 - Klinik-laboratuvar işbirliği



KÜLTÜR

- Primer izolasyon besiyerleri

- Koyun kanlı agar
- Sabouraud dekstroz agar
- Antibiyotikli besiyeri
- Sikloheksimitli besiyeri
- Kromojenik besiyerleri



- İdentifikasyon besiyerleri

- Mısır unlu Tween 80'li agar
- Patates dekstroz agar
- Kromojenik besiyerleri



Kan Kültürü

Manuel Sistemler

- Broth besiyerleri
- Bifazik (broth/agar) sistemler
 - Castenada
 - Septi-Chek® (BD Diagnostic Systems, Spark, MD)
- Lizis sentrifügasyon sistemi (The Isolator®)

Otomatize Sistemler

- Bact/ALERT 3D® (BioMeriux Inc., Hazelwood, MD)
- BACTEC® System (BD Diagnostic Systems, Spark, MD)
- VersaTREK® System (TREK Diagnostic Systems, Cleveland, OH)

Kan ve Steril Vücut Sıvıları

- Otomatize kan kültür sistemleri
 - Mantarların izolasyon şansı
 - Sürekli üreme monitorizasyonu nedeniyle fungeminin erken tespiti

İnkübasyon süresi

- Üretici firma önerileri
 - Standart kan kültürü şişesi → 5 gün
 - Fungal kan kültürü şişesi → 3-4 hafta

Kan ve Steril Vücut Sıvıları

- Kan kültürü
 - *Candida*
 - *Fusarium*
 - *Scedosporium*
 - Termal dimorfik endemik mikoz etkenleri
 - *Saprocaete, Rhodotorula ve Trichosporon*
 - *Aspergillus* spp. → Kontaminasyon

Kan Kültürü

- *Candida* türleri
- Kan dolaşımı enfeksiyonlarından
 - İzole edilen patojenler arasında → 4. sırada (%8-10)
 - Fungal etkenler arasında → İlk sırada
- *Candida* türlerinin saptanmasında
 - Duyarlılık %50-70
 - Etken *Candida* türü
 - Kan kültür sistemi

Lizis Sentrifügasyon Yöntemi

- İzolator® kan kültür şişesi
 - Saponin (kan hücreleri lizisi)
 - Fagosite edilen maya ve dimorfik mantarlar
- Sentrifügasyon
 - Konsantre örnek, artan üreme şansı
- Duyarlılık
 - Dimorfik mantarların saptanması
 - Lizis santrifügasyon yöntemi > kan kültürü
- Kontaminasyon riski



Otomatize Kan Kültürü Sistemleri

- Bact/ALERT 3D® (BioMeriux) - BACTEC® System (BD)
- Maya mantarlarının izolasyonunda etkinlikleri benzer
- *C. glabrata* izolasyonunda Bact/ALERT sistemi daha başarılı

Kandidemi Őüpheli hastalarda
BACTEC Plus Aerobic/F besiyerine Mycoses IC/F
besiyerinin eklenmesi faydalı olabilir

Fungal besiyeri kullanımı

- Fungal besiyeri

- BHI broth
- Sukroz
- Ferrik amonyum sitrat
- Kloramfenikol + tobramisin
- Saponin (hücre lizisi)



Mycoses IC/F kullanımı ile Plus Aerobic/F'e göre

- Mikst bakteri üremesi varlığında *Candida* türlerinin izolasyon oranı daha yüksek
- *C. glabrata* suşlarında izolasyon süresi daha kısa

Kan Kültürü Yönteminin Seçilmesi

- Lokal epidemiyolojik veriler
 - Dimorfik endemik mikoz etkenleri
 - *C. glabrata*
- Hedef hasta grubu
 - Yoğun bakım, immünsüpresif
 - Mikst bakteriyal enfeksiyon

Kan Kùltürü

- Kan kùltürlerinden izole edilen fungal etkenler
 - Tür düzeyinde tanımlanmalı
 - Antifungal duyarlılık
 - Duyarlılık türler arasında değişken
- Nadir görülen maya mantarları
 - fungemi etkenleri arasında ~%5
- İnvazif fusariyoz
 - kan kùltürü pozitiflięi %40-60

Solunum Yolu Örnekleri

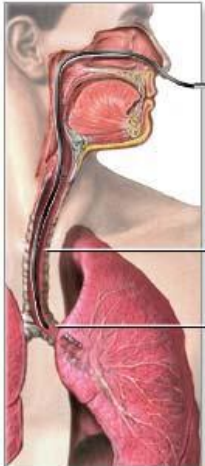


Biyopsi
örneđi

Direkt mikroskopi mantar yapıları
Kültürde üreme

KESİN TANI

Altta yatan hastalıklar- İnvazif işlem



Bronkoskop



Bronkoalveolar
lavaj



Bronş
lavajı



Korumalı
fırça



Transtrakeal
aspirat



Balgam

Solunum Yolu Örnekleri

- *Candida* türleri
 - mukozal membranlar
 - oral kavite
 - gastrointestinal sistem florası

Kontaminasyon- Kolonizasyon- Enfeksiyon

- Eşik koloni sayısı?
- Kabul görmüş ve kesinleşmiş kriterler?

Solunum Yolu Örnekleri

- Solunum yolu örneklerinde *Candida* spp. izole edilen hastalar
- Akciğer biyopsisi ve akciğer otopsi örneklerinde
- Enfeksiyon bulgusu yok



Candida kolonizasyonu ile invazif pulmoner kandidoz gelişimi arasında ilişki zayıf

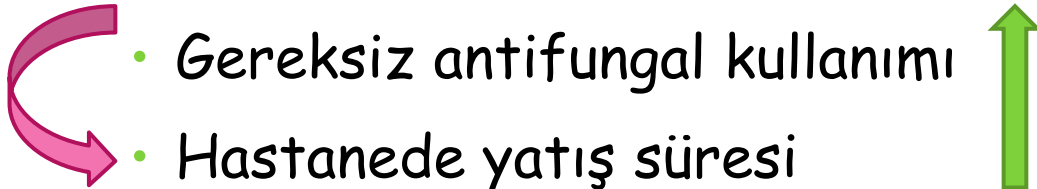
Solunum Yolu Örnekleri

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Dec. 2003, p. 5645–5649
0095-1137/03/\$08.00+0 DOI: 10.1128/JCM.41.12.5645–5649.2003
Copyright © 2003, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 41, No. 12

Improved Outcomes Associated with Limiting Identification of *Candida* spp. in Respiratory Secretions

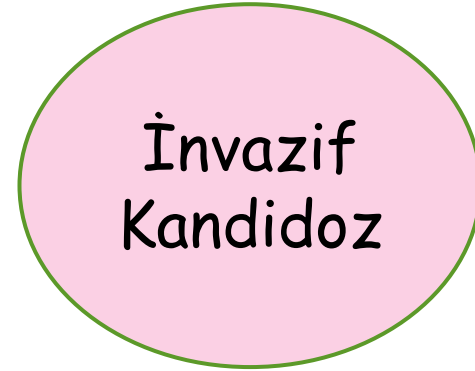
Joan Barenfanger,^{1*} Pushpalatha Arakere,² Rafael Dela Cruz,² Adil Imran,²
Cheryl Drake,¹ Jerry Lawhorn,¹ Steven J. Verhulst,³ and Nancy Khardori²

- Solunum yolu örneklerinden izole edilen *Candida* türleri
 - Tür düzeyinde tanımlama
 - Gereksiz antifungal kullanımı
 - Hastanede yatış süresi
- 

Solunum Yolu Örnekleri

- Risk grubu hastalar

- yoğun bakım
- immünsüpresif
- cerrahi



- *Candida* kolonizasyon indeksi

- *Candida* üremeleri raporlanmalı

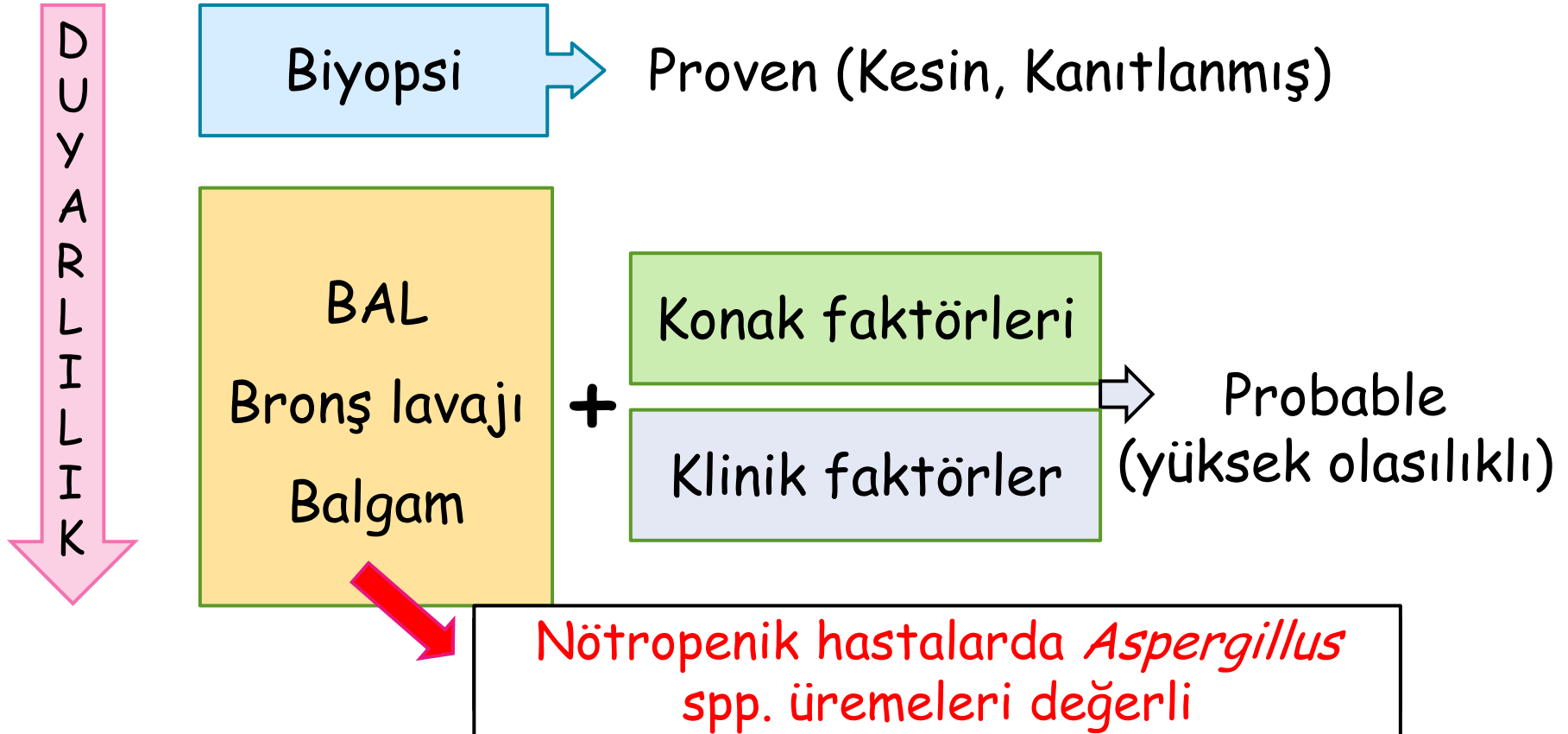
Solunum Yolu Örnekleri

- Küf mantarı
 - Direkt mikroskopik inceleme hif elemanları
 - Aynı türe ait birden fazla koloni
 - Besiyerinde mantarın ürediği yerin hasta örneğinin ekildiği yere olan yakınlığı
 - Tekrarlayan kültürlerde aynı etkenin saptanması
 - İzole edilen türün vücut ısısında üreyebilmesi

ETKEN

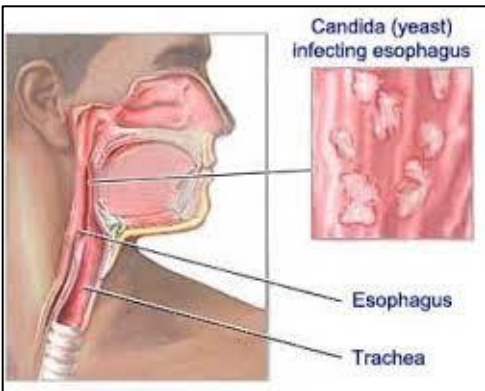
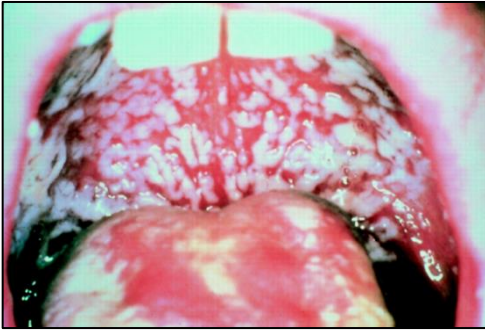
Solunum Yolu Örnekleri

- Fırsatçı küf mantarları
- *Aspergillus*, *Zygomycetes*, *Fusarium*, *Scedosporium*



Gastrointestinal Sistem

- *Candida* türleri GIS ve mukozal membran florası



- Oral kandidoz
 - Lezyondan swab
 - Yıkama sıvısı
- Özofageal ve gastrointesitinal kandidoz
 - Endoskopik olarak
 - Lezyondan örnek
- Dışkı örneğinden izolasyon
 - hastalık göstergesi değil

İdrar

- *Candida* türleri
 - *Candida albicans*
- Kandidüri
 - sağlıklı erişkinler %1
 - hastanede yatan %5

KANDİDÜRİ

- Hastanede yatan
- Üriner kateteri olan



Asemptomatik
ve
Tedavi gerektirmez

İdrar

- İdrardan *Candida* türlerinin izole edilmesi
 - Kontaminasyon (bayan hastalar vajen florası)
 - Kolonizasyon
 - Tedavi gerektiren alt üriner sistem enfeksiyonu
 - Piyelonefrit
 - Renal kandidoz
 - Kandidemi belirtici

Altta yatan
ciddi hastalık



İnvazif
Kandidoz

Yaşlı, debil hastalar → Mortalite

İdrar

- Diğer maya mantarları
 - *Saccharomyces cerevisiae*
 - *Rhodotorula*
 - *Trichosporon asahii*
 - *Saprochaete capitata*
 - *Blastomyces dermatitidis*
 - *Cryptococcus neoformans*

İdrar

Tür düzeyinde tanımlama



- sık rastlanmayan türler
- azollere dirençli türlerin tedavisi

Kolonizasyon?
Enfeksiyon?



• Güvenilir yöntem?



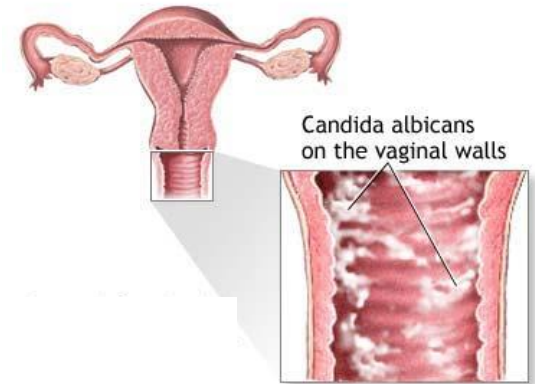
• Koloni sayımı
➤ Eşik değer?



• Püüri
➤ Kateterize hasta
➤ Mikst enfeksiyon

Vajinal Sekresyon ve Sürüntü Örnekleri

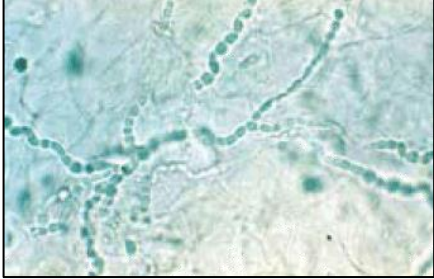
- *Candida* türleri
 - vajen florası → değerlendirilmesi zor
- Direk lama yayılarak mikroskopik olarak inceleme
- Sürüntü örneklerine göre daha değerli
- Tür düzeyinde tanımlanması
 - komplike ve tekrarlayan enfeksiyon
 - önceden azol tedavisi almış hastalar



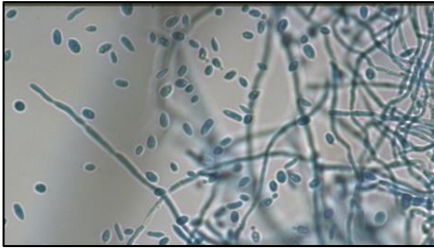
Deri ve Deri Ekleri

- Deri kazıntısı, saç ve tırnak
- Direkt mikroskopik inceleme
 - Pratik

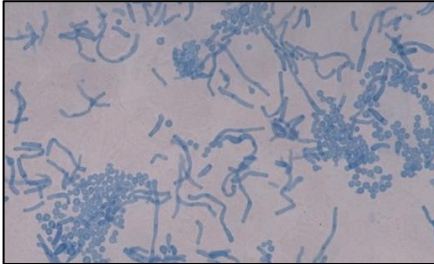
• Deri kazıntısı ve tırnak



Hiyalen hifler ve atrokonidyumlar → Dermatofitler



Pigmente filamentler → Dermatofit dışı etkenler



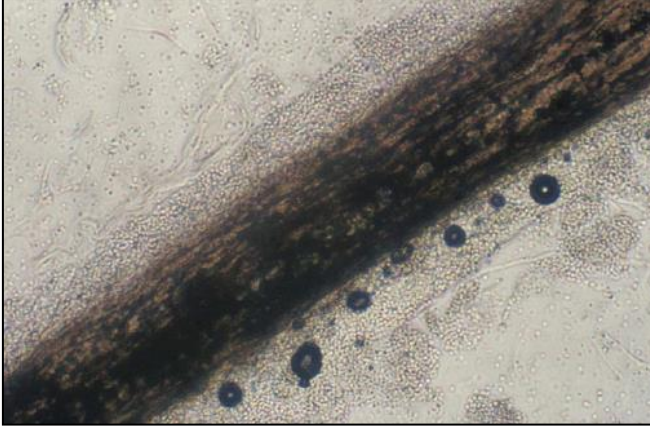
Septumlu, kısa, bazen dallanan hifler
Yuvarlak / oval tomurcuklanan
maya hücreleri (spagetti ve köfte) → *Malassezia*



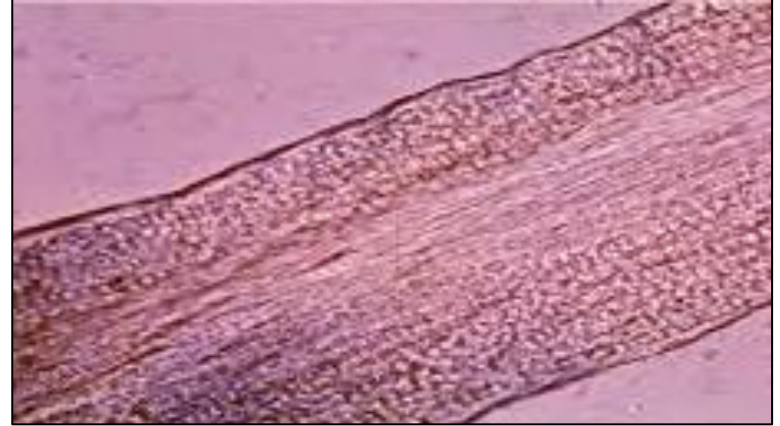
Tomurcuklanan maya hücreleri ve
yalancı hifler → Maya
mantarı

Saç örnekleri

- Endotriks veya ekzotriks yerleşimli atrokonidyumlar



Ekzotriks



Endotriks

Deri ve Deri Ekleri

- Direkt mikroskopik inceleme → Tedavi
- Kültür
 - Direkt mikroskopi ile görülemeyen etkenler
 - Dermatofit dışı etkenler
 - Tür düzeyinde tanımlama
 - sürveyans
 - kümelenme ve salgınların tespiti
 - Tedaviye verilen yanıtın değerlendirilmesi

Tırnak

- *Aspergillus*, *Fusarium* ve diğer hiyalohifomikoz etkenleri

ETKEN

- Direkt mikroskobide hif yapılarının görülmesi
- Kültür plağında aynı türe ait birden fazla koloni
- Birden fazla örnekte üreme
- Klinik bulguların varlığında dermatofitlerin kültürde üretilememiş olması

Sonuç

Konvansiyonel yöntemler

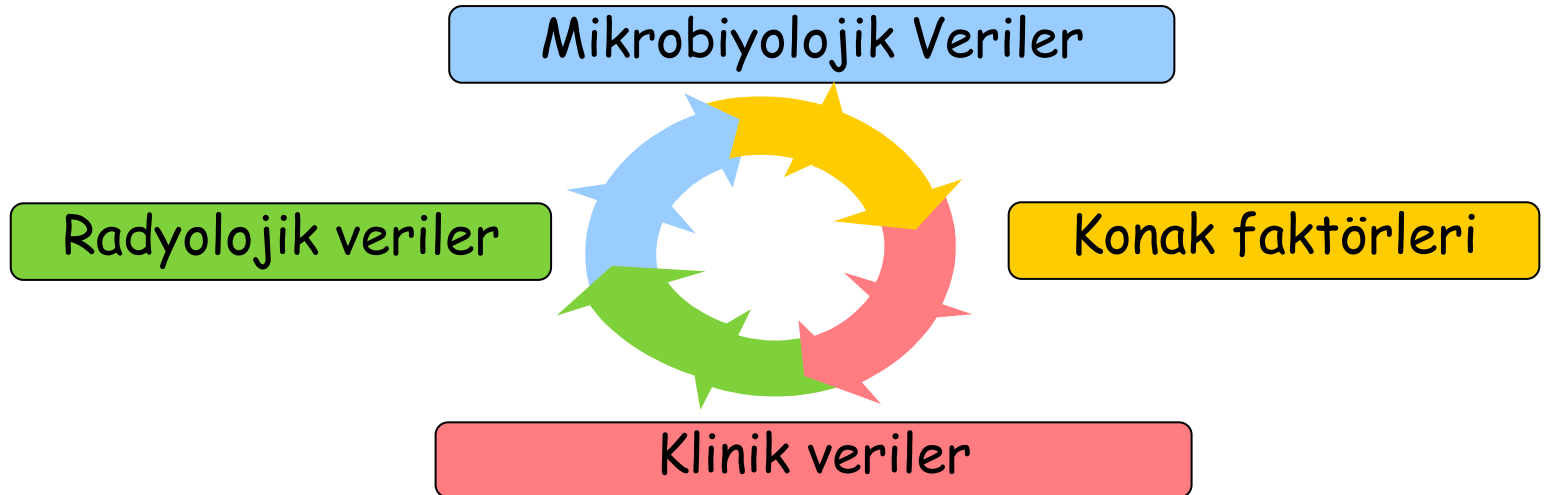
Temel ve altın standart yöntemlerdir

Fungal etkenlere bağlı kolonizasyon/kontaminasyon sık

Kültür sonuçlarının yorumlanması zor

Sonuç

- Enfeksiyon tanısının doğru konulması



Sonuç

Etkenin mikolojik olarak saptanması

Doğru örnek, yeterli miktarda, uygun koşullarda

Uygun örneklerin alınamadığı durumlar

Serolojik ve moleküler testler

TEŐEKKÜR EDERİM

