Özofagus Cerrahisi Sonrası Gelişen *Candida hellenica* Kandidemisi

Candida hellenica Candidemia Occurred After Esophagus Surgery

Ufuk ATEŞ¹(ID), Aynur GURBANOVA¹(ID), Fatma Nur YİĞİTOĞLU²(ID), Ayşe KALKANCI²(ID)

¹ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Bilim Dalı, Ankara

¹ Ankara University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Surgery, Ankara, Turkey.

² Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

Makale Atfı: Ateş U, Gurbanova A, Yiğitoğlu FN, Kalkanca A. Özofagus cerrahisi sonrası gelişen *Candida hellenica* kandidemisi. Mikrobiyol Bul 2020;54(2):334-338.

ÖZ

Bu olgu raporunda *Candida hellenica* kaynaklı kandidemi olgusu sunulmuştur. Yirmi yaşında erkek hastaya Ekim 2018 tarihinde özofagus operasyonu sonrasında kandidemi tanısı nedeniyle flukonazol ve lipozomal amfoterisin B tedavisi başlanmıştır. Hastanın geçmişte çok sayıda özofagus operasyonu öyküsü bulunmaktadır. Tedaviyi takiben son 24 saat içinde ateşi olmaması, genel durumunun düzelmesi ve kan kültürlerinde üreme olmaması nedeniyle hasta taburcu edilmiştir. Kan kültüründe üreyen *Candida* izolatının çimlenme borusu testi negatif, mısır unu-tween 80 agardaki morfolojisi tanımlayıcı bulunmamıştır. Hasta izolatı karbonhidrat asimilasyonu temelli ID32C® (bioMérieux, Fransa) yönteminden elde edilen profile göre *C.hellenica* olarak tanımlanmıştır. Tür tanımlamasının doğrulanması amacıyla rRNA üzerindeki hedef ITS gen bölgeleri uygun primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmış ardından dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen DNA dizileri “National Center for Biotechnology Information (BLAST)” sistemi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) kullanılarak gen kütüphanesi kayıtları ile karşılaştırılmış ve %99 uyumla *C.hellenica* olarak tanımlanmıştır. Maya tanımlaması MALDI-TOF (Vitek MS, bioMérieux) ile yapılamamıştır. Antifungal duyarlılığın test edilmesi amacıyla “Clinical and Laboratory Standards Institute” önerilerine uygun olarak referans mikrodilüsyon yöntemi gerçekleştirilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonu değerleri 24 saat inkübasyon sonrasında amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve itraconazol için sırasıyla 0.25 µg/ml, 8 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.25 µg/ml olarak bulunmuştur. Olgumuz gastrointestinal sistem operasyonu öyküsü olan bir hasta olması nedeniyle, kandideminin endojen kaynağının mukozal yapının bozulmasına bağlı gastrointestinal sistem olduğu ve bu hasarın *Candida*’nın yayılımını kolaylaştırdığı düşünülmüştür. Kandidemi etkeninin tür düzeyinde tanımlanmasında kullanılan karbonhidrat asimilasyon testi, ID32C® ile bu olguda tanımlama yapılabilmektedir. Ancak, yaygın olmayan veya daha önceden tanınmayan organizmalar ticari sistemler tarafından yanlış tanımlanabilmektedir. Rutin mikrobiyolojide fenotipik tanımlama yeterli bulunurken, bu olguda olduğu gibi mikroorganizmanın tür tanımlamasının DNA dizi analizi ile kesinleştirilmesi zorunludur. Bu olgu raporunda, etkenin tür tanımlaması yapılarak kandidemi tanısı alan ve sonrasında antifungal tedavi ile iyileşen bir olgu

sunulmuştur. Bu olguda kandidemi mortal seyretmemiş olmakla birlikte, kandidemi mortalitesinin %50 olduğu unutulmamalıdır. Literatürde bir kandidemi, bir solunum yolu kolonizasyonu olgusu olmak üzere, toplam iki *C.hellenica* enfeksiyonu bildirilmiştir. Başarıyla tedavi edilmiş olan olgumuz bu nadir etkene dikkat çekmek üzere sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Kandidemi; *Candida hellenica*; özofagus cerrahisi.

ABSTRACT

In this study, a case of candidemia caused by *Candida hellenica* as the first report in our country was presented. Fluconazole and liposomal amphotericin B treatment was initiated in a 20-year-old male patient in October 2018 due to the diagnosis of candidemia following esophageal surgery. The patient had a history of multiple esophageal operations. The patient was discharged during the last 24 hours due to the lack of fever, improvement in general condition and lack of growth in blood cultures. Germination tube test of the *Candida* isolate grown in blood culture was negative and the colony morphology in corn meal tween 80 agar was not defining. It was identified as *C.hellenica* according to the profile obtained from the ID32C® (bioMérieux, France) method based on carbohydrate assimilation. The target ITS regions of the rRNA genes were amplified by polymerase chain reaction and sequenced using suitable primers for the confirmation of the identification on species level. The DNA sequences obtained were searched by using the “National Center for Biotechnology Information (BLAST)” (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) database and the isolate was identified as *C.hellenica* with a 99% homology with GenBank sequences. MALDI-TOF (Vitek MS, bioMérieux) could not identify the yeast isolate. The reference microdilution method was performed according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute in order to test the antifungal susceptibility. The minimal inhibitory concentrations for the isolate, determined after 24-hour incubation were 0.25 µg/ml for amphotericin B, 8 µg/ml for fluconazole, 0.25 µg/ml for voriconazole, and 0.25 µg/ml for itraconazole. As our case had a previous history of gastrointestinal tract surgery it was thought that gastrointestinal tract was the endogenous source of candidemia by leading to mucosal disruption and this mucosal disruption might facilitate the translocation of *Candida*. The carbohydrate assimilation test ID32C®, was able to identify the causative agent of candidemia at the species level in this case. However, uncommon or previously unrecognized organisms may be misidentified by commercial systems. While the phenotypic definition is sufficient in routine laboratories, it is mandatory to confirm the microorganism species definition by DNA sequence analysis, as done in this case. We have presented a correctly identified and successfully treated candidemia case. Although the candidemia was not mortal in our patient, the mortality rate of candidemia which is 50%, should be remembered. A total of two *C.hellenica* infections have been reported in the literature, including one candidemia and one respiratory tract colonization. Our successfully treated case was presented to draw attention to this rare infectious agent.

Keywords: Candidemia; *Candida hellenica*; esophagus surgery.

GİRİŞ

Candida türleri sağlık hizmeti ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının etkeni olarak son 20 yıldır giderek artan sıklıkta karşımıza çıkmaktadır. En sık *Candida albicans* türü etken olmakla birlikte, azollerin kullanımının artmasıyla diğer türlerin sıklığı da giderek artmaktadır^{1,2}. Kan kültüründe üreyen etkenin tür düzeyinde doğru tanımlanması ve antifungal duyarlılık özelliklerinin ortaya çıkarılması doğru tedavinin başlanması için zorunludur. *Candida*’ların tür düzeyinde tanımlanması için çimlenme borusu testi, mısır unu-tween 80 agarda oluşan morfolojik özellikleri, karbonhidrat asimilasyon özelliklerine göre çalışan ID32C ve API20C gibi yarı otomatize sistemler, son yıllarda kullanıma giren proteo- mik tanımlamaya dayalı “Matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass

spectrometer (MALDI-TOF)" bulunmaktadır. Rutin laboratuvarlarda bu sistemler tanımlama için yeterli kabul edilmekle birlikte, tür tanımlamasının doğrulanması rRNA geni üzerindeki ITS bölgesinin dizi analizi ile gerçekleşmektedir³.

Kandidemi gelişen hastalarda mortalite ile ilişkili risk faktörleri olarak santral venöz kateter varlığı, antibiyotik kullanımı, gastrointestinal sisteme yönelik uygulanan cerrahi işlemler, nötropenik durum ve yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü bulunmaktadır⁴.

Bu raporda, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Cerrahisi Kliniğinde yatan, özofagostomi cerrahi revizyonları geçirmiş bir hastada *C.hellenica* ile gelişen kandidemi olgusu sunulmuştur.

OLGU SUNUMU

Bu olgu raporunda, Ekim 2018 tarihinde özofagostomi bölgesinde gelişen fistüllerin onarımı amacıyla yapılan özofagostomi revizyonları sırasında ateşi yükselen 20 yaşında erkek hasta sunulmaktadır. İki buçuk yaşında çamaşır suyu içme öyküsü bulunan hasta 11 yaşındayken disfaji gelişmesi üzerine endoskopi takipleri sonrasında dilatasyon amacıyla gastrointestinal sistem cerrahisi işlemleri geçirmiştir. Son yapılan özofagus revizyonu sonrasında ateşinin yükselmesi nedeniyle alınan kan kültüründe tür düzeyinde tanımlanamayan bir *Candida* üremesi nedeniyle hastaya flukonazol ve lipozomal amfoterisin B tedavisi başlanmıştır. Ardışık iki kan kültüründe aynı etken üretilmiştir. Tedavi devam ederken hastanın ateşi düşmüş, genel durumu düzelmiş ve 28 Ekim 2018 tarihinde kan kültürlerinde üreme olmaması nedeniyle taburcu edilmiştir. Kan kültüründe üreyen *Candida* izolatu, tür tanımlaması amacıyla Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmiştir. Tanımlama amacıyla yapılan çimlenme borusu testi negatif saptanırken, mısır unu-tween 80 agardaki morfolojisi tanımlayıcı bulunmadı. İzolat, karbonhidrat asimilasyonu temelli ID32C® (bioMérieux, Fransa) yöntemi ile *C.hellenica* olarak tanımlandı (7571/7742/57; %ID 99.9). MALDI-TOF (Vitek MS, bioMérieux) yöntemi ile maya tanımlaması yapılamadı. Antifungal duyarlılığın test edilmesi amacıyla "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerilerine uygun şekilde L-glutaminli RPMI 1640 kullanılarak referans mikrodilüsyon yöntemi uygulandı. Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri 24 saat inkübasyon sonrasında amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol, itrakonazol için sırasıyla 0.25 µg/ml, 8 µg/ml, 0.25 µg/ml ve 0.25 µg/ml olarak bulundu.

Tür tanımlamasının doğrulanması amacıyla kültürde üreyen kolonilerden genomik DNA izole edilerek rRNA üzerindeki ITS gen bölgesine yönelik dizi analizi yapıldı. ITS1 5'-CTT GGT CAT TTA GAG GAAGTA-3' ve ITS4 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3' primerleri kullanıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürünleri BigDye® Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Perkin Elmer, Türkiye) kullanılarak boyandıktan sonra, ddNTP ile işaretli örneklerle ABI Prism™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazında kapiller elektroforez uygulandı. Hem ITS1 hem de ITS4 primerleri ile iki kez dizileme yapıldı. Elde edilen DNA dizileri "National Center for Biotechnology Information" BLAST sistemi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) kullanılarak gen kütüphanesi kayıtları ile karşılaştırıldı ve %99 uyumla *Candida hellenica* olarak tanımlandı.

TARTIŞMA

Kandidemi en sık *C.albicans* türü ile gelişen kan dolaşımı enfeksiyonudur. Diğer türler kandidemi olgularının yaklaşık %50'sini oluşturur⁵. Bu çalışmada, *C.hellenica* üreyen kandidemi olgusu sunulmaktadır. Bildiğimiz kadarıyla, bu olgu ülkemizden bildirilen ilk *C.hellenica* kandidemisi olgusudur.

C.hellenica türü *Zygoascus* cinsi içinden ayrılan bir türdür. *Zygoascus* cinsinin telemorfik formu (seksüel = eşeyli) 1986 yılında Maudy Th. Smith tarafından tanımlanmıştır. Bu cins içinden üç anamorfik (aseksüel = eşeysiz) tür; *C.hellenica*, *Candida inosiphila* ve *Candida steatolytica* ayrılmıştır⁶. Daha sonra *Zygoascus hellenicus* ve *Zygoascus meyeræ* sp. nov. olmak üzere iki yeni telemorfik tür tanımlanmıştır. *C.steatolytica* var. *steatolytica* ve *C.steatolytica* var. *inosiphila* türleri *Z.hellenicus* ile, *C.hellenica* var. *hellenica* ve *C.hellenica* var. *acidophila* türleri ise *Z.meyeræ* ile bağlantılı bulunmuştur^{7,8}.

Literatürde *Z.hellenicus*'un (anamorfu *C.hellenica*) çürük üzümlerden, bir siğir mastiti olgusundan ve çevresel kaynaklardan izole edildiği bildirilmiştir. İnsanlarda enfeksiyon etkeni olarak iki olguda *C.hellenica* bildirimi bulunmaktadır^{8,9}. Bunlardan ilki, allojeneik kök hücre nakli alıcısı olan bir hastada gelişen fungemi sonrası tanımlanmıştır. Bu olguda mayayı tanımlamak için öncelikle API20C kullanılmış ve yanlış bir şekilde *Candida ciferri* olarak tanımlanmıştır. DNA dizi analizinden sonra %99 uyumla *Z.hellenicus* olarak tanımlanmıştır. Tanımlamayı doğrulamak amacıyla başka bir merkeze gönderilen aynı izolat ID32C sistemi ile *C.hellenica* olarak tanımlanmıştır⁹. İkinci olguda, etken akut miyeloid lösemili bir çocuk hastada gelişen solunum yolu enfeksiyonu sırasında solunum yolu örneğinde üretilmiştir. Enfeksiyon etkeni olarak değil, kolonizasyon olarak düşünülmüştür. Bu merkezde yapılan tanımlamada ID32C kullanılmış ve *C.hellenica* olarak tanımlanmıştır. Tanımlamayı doğrulamak amacıyla ITS dizi analizi de yapılmış ve tanımlama moleküler olarak doğrulanmıştır⁸. Olgumuzda rutinde kullanılan ID32C sistemi etkeni *C.hellenica* olarak tanımlamıştır. Literatürdeki iki olgu ve olgumuzun tür düzeyinde tanımlanmasında ID32C sistemi yeterli ve doğru tanımlamayı yapabilmıştır.

Yaygın olmayan veya daha önceden tanınmayan organizmalar ticari sistemler tarafından yanlış tanımlanabilmektedir. *C.hellenica*, API20C veri tabanında olmayıp, ID32C veri tabanında bulunmaktadır. Fenotipik olarak karbonhidrat asimilasyon özelliklerini kullanan API20C, ID32C gibi sistemlerin veri tabanları güncellenmediği zaman, tür tanımlamalarında yanıltıcı olabilmektedir^{10,11}. Rutinde fenotipik tanımlama yeterliyken, olgu bildirimi yapılacak ise, mikroorganizma tür tanımının DNA dizi analizi ile kesinleştirilmesi zorunludur. Bizim olgumuzda ve diğer iki olguda *C.hellenica* tür tanımı DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır.

Olgumuz gastrointestinal sistem cerrahisi geçirmiş bir hastadır. Kandideminin kaynağı her zaman önemli bir tartışma konusu olmuştur. Nucci ve arkadaşları¹² bu konuya açıklık getirebilmek için 1966-2000 yılları arasında yayımlanmış çalışmaları MEDLINE veritabanını kullanarak incelemiştir. Bu çalışma sonucunda gastrointestinal sistem, kandideminin

önemli bir kaynağı olarak bulunmuştur. Gastrointestinal sistem cerrahisi sonrası sıklıkla gelişen bağırsak stazı *Candida*'nın aşırı çoğalmasına yol açmakta ve mukozaya hasarının gelişmesi sonucu *Candida*'nın yayılımı kolaylaşmaktadır¹³. Hastalarda cerrahi sonrası gelişen enfeksiyonlarda *Candida* son yıllarda görülen etkenlerden biridir. Bu hastalarda kandidemi nedeniyle yatış süresi uzamakta, mortalite oranları yükselmektedir¹⁴. Olgumuz kandidemi sonrası antifungal tedavi ile iyileşen bir hastadır. Ancak, kandidemili hastalarda %50 mortalite olabileceği akılda tutulmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. 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.
2. Wisplinghoff H, Ebbers J, Geurtz L, Stefanik D, Major Y, Edmond MB, et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Candida* spp. in the USA: species distribution, clinical features and antifungal susceptibilities. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 43(1): 78-81.
3. Alışkan HE, Bozkırlı ED, Çolakoğlu Ş, Demirbilek M. Evaluation of risk factors of *Candida albicans* and non-albicans *Candida* candidemia in a tertiary-care hospital for three years. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2016; 73(1): 15-24.
4. Erdem H, Erganiş S, Evren E, Aksakal FN, Çağlar K, Kalkancı A. Comparative analysis of different methods used for the identification of *Candida* on species level. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2017; 47(3): 114-24.
5. Kazak E, Akın H, Ener B, Sığırılı D, Özkan Ö, Gürcüoğlu E, et al. An investigation of *Candida* species isolated from blood cultures during 17 years in a university hospital. *Mycoses* 2014; 57(10): 623-9.
6. Smith MT. *Zygoascus hellenicus* gen. nov., sp. nov., the teleomorph of *Candida hellenica* (= *C. inositolophila* = *C. steatolytica*). *Antonie Van Leeuwenhoek* 1986; 52(1): 25-37.
7. Smith MT, Robert V, Poot GA, Epping W, de Cock AW. Taxonomy and phylogeny of the ascomycetous yeast genus *Zygoascus*, with proposal of *Zygoascus meyeriae* sp. nov. and related anamorphic varieties. *Int J Syst Evol Microbiol* 2005; 55(Pt 3): 1353-63.
8. Ioakimidou A, Vyzantiadis TA, Tragiannidis A, Arabatzis M, Papageorgiou T, Velegraki A, et al. *Candida hellenica* var. *hellenica* as a possible cause of respiratory infection in a child with acute myeloid leukemia. *Med Mycol* 2011; 49(7): 771-4.
9. Brandt ME, Kauffman CA, Pappas PG, Iqbal N, Arthington-Skaggs BA, Lee-Yang W, et al. Fungemia caused by *Zygoascus hellenicus* in an allogeneic stem cell transplant recipient. *J Clin Microbiol* 2004; 42(7): 3363-5.
10. Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, et al. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol* 2004; 42(4): 1519-27.
11. Kao AS, Brandt ME, Pruitt WR, Conn LA, Perkins BA, Stephens DS, et al. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. *Clin Infect Dis* 1999; 29(5): 1164-70.
12. Nucci M, Anaissie E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? *Clin Infect Dis* 2001; 33(12): 1959-67.
13. Shan YS, Sy ED, Wang ST, Lee JC, Lin PW. Early presumptive therapy with fluconazole for occult *Candida* infection after gastrointestinal surgery. *World J Surg* 2006; 30(1): 119-26.
14. Ala-Houhala M, Valkonen M, Kolho E, Friberg N, Anttila VJ. Clinical and microbiological factors associated with mortality in candidemia in adult patients 2007-2016. *Infect Dis (Lond)* 2019; 51(11-12): 824-30.