

YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE YATAN HASTALARIN KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA ALBICANS* SUŞLARINDA ANTİFUNGALLERE DUYARLILIK*

Gülgün YENİŞEHİRLİ, Yunus BULUT, Ebru GÜNDAY

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TOKAT

ÖZET

Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen 68 *Candida albicans* izolatının, amfoterisin B, flukonazol, itraconazol ve flusitozin duyarlılıkları belirlenmiştir. Tüm izolatlar amfoterisin B, flukonazol ve flusitozine duyarlı bulunmuştur. İki *C.albicans* izolatının itraconazole doza bağımlı duyarlı olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak hastanemiz yoğun bakımında yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *C.albicans* suşlarında antifungal direnci bulunmamaktadır.

Anahtar sözcükler: antifungal direnç, *Candida albicans*, yoğun bakım

SUMMARY

Antifungal Susceptibility of *Candida albicans* Isolates Recovered from Blood Cultures of Intensive Care Unit Patients

The *in vitro* activities of amphotericin B, fluconazole, itraconazole and flucytosine were determined against 68 *Candida albicans* isolates recovered from blood cultures of intensive care unit patients. All isolates were found to be susceptible to amphotericin B, fluconazole and flucytosine. Dose-dependent susceptibility to itraconazole was observed in only two *C.albicans* isolates. In conclusion, resistance is uncommon in *C.albicans* strains isolated from blood cultures of intensive care unit patients in our hospital.

Keywords: antifungal resistance, *Candida albicans*, intensive care

GİRİŞ

Son yıllarda yoğun bakım ünitelerinde, mantarların etken olduğu infeksiyonlar belirgin olarak artmaktadır. Kandidemi, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir^(1,2). Günümüzde kandidemi etkeni olarak izole edilen türler arasında *albicans* dışı *Candida* türlerinin giderek arttığının bildirilmesine rağmen, *Candida albicans* en sık izole edilen tür özelliğini korumaktadır⁽¹⁴⁾. İmmün sistemin baskılanmış olması, uzun süreli geniş spek-

trumlu antibiyotik veya steroid kullanımı, hastanede kalış süresinin uzaması veya hastaya uzun süreli katater takılmasının kandidemi gelişimi açısından risk oluşturdukları bilinmektedir⁽²⁴⁾. Kandidemi oranları coğrafik bölgelere göre değişiklikler göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde nozokomiyal kan yolu infeksiyonlarının etkenleri arasında *Candida* türlerine dördüncü sıklıkta rastlanmaktadır⁽¹¹⁾. İzlanda'da 1980-1996 yıllarını kapsayan araştırmada kandidemi insidansının önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir⁽⁴⁾. Benzer şekilde Hollanda'da, 1987-1995 yılları arasında kandidemi

Yazışma adresi: Gülgün Yenişehirli. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TOKAT
Tel.: (0356) 212 95 00/1269
e-posta: gulguny@mail.gop.edu.tr

Alındığı tarih: 06.06.2007, revizyon kabulü:10.09.2007

*22.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No.16 (29 Nisan-03 Mayıs 2007, Antalya)

insidansının iki katına çıktığı bildirilmiştir⁽²⁶⁾.

Kandidemi hayatı tehdit eden bir durum olduğundan, antifungal tedaviye uygun ajanlarla ve mümkün olan en kısa sürede başlanmalıdır. Bu nedenle bölgesel olarak kandidemi etkenlerinin antifungal duyarlılık durumlarının belirlenmesi uygun tedavinin seçilebilmesine olanak sağlayacaktır⁽⁶⁾.

Bu çalışma yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *C.albicans* suşlarında amfoterisin B, flusitozin, itrakonazol ve flukonazol duyarlılıklarını belirlemek, hastanemiz yoğun bakımında antifungal direnç profilini ortaya koymak ve ileri yıllarda direnç profilinde meydana gelebilecek değişiklikleri takip edebilmek amaçlarıyla planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

İzolatlar: Mart 2003-Şubat 2007 tarihleri arasında, Yoğun Bakım Ünitesi'nden (YBÜ) hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültürlerinden izole edilen ve *C.albicans* olarak tanımlanan 68 suş çalışmaya alınmıştır. *C.albicans* tanısı, germ tüp testi, mısır unlu Tween 80 içeren besiyerinde klamidospore oluşumu ve API 20C AUX ticari kiti (BioMerieux, Marcy-l'Etoile, France) kullanılarak yapılmıştır. Suşlar antifungal duyarlılık testleri uygulanana dek -70°C'de, % 20 gliserol içeren stok besiyerinde saklanmıştır.

Antifungal duyarlılık testleri: İzolatların amfoterisin B, flusitozin ve itrakonazolün minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir⁽¹⁶⁾. İzolatların flukonazol MİK değerleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda E-test yöntemiyle (AB Biodisk, Solna, Sweden) belirlenmiştir. İzolatlar; 0.5 McFarland bulanıklığa ayarlandıktan sonra, morfolinopropan sülfonik asitle (MOPS) tamponlanmış, % 2 glukoz ve % 1.5 agar içeren RPMI 1640 agar plaklarına steril eküvyonla yayılmıştır. E-test striplerinin yerleştirilmesinin ardından, plaklar 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Eliptik inhibisyon bölgesinin

E-test sribiyle kesiştiği nokta MİK değeri olarak okunmuştur. Her iki yöntemde de *C.albicans* ATCC 90028 kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

Amfoterisin B için MİK ≥ 1 µg/mL dirençli kabul edilmiştir⁽¹⁸⁾. Diğer antifungal ajanlar CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir: Flukonazol için MİK ≤ 8 µg/mL duyarlı, 16-32 µg/mL doza bağımlı duyarlı, ≥ 64 µg/mL dirençli; itrakonazol için MİK ≤ 0.125 µg/mL duyarlı, 0.25-0.5 µg/mL doza bağımlı duyarlı, ≥ 1 µg/mL dirençli; flusitozin için MİK ≤ 4 µg/mL duyarlı, 8-16 µg/mL orta duyarlı, ≥ 32 µg/mL dirençli.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 68 *C.albicans* izolatına amfoterisin B, flusitozin, itrakonazol ve flukonazolün MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri ve MİK aralıkları tablo 1'de gösterilmiştir. *C.albicans* suşlarının tümü flukonazol, amfoterisin B ve flusitozine duyarlı bulunurken, % 97'si itrakonazole duyarlı, iki izolat ise (MİK=0.5 µg/mL) itrakonazole doza bağımlı duyarlı olarak bulunmuştur. MİK aralıkları amfoterisin B için ≤ 0.03 -0.25 µg/mL, flukonazol için 0.06-1 µg/mL, itrakonazol için ≤ 0.03 -0.5 µg/mL ve flusitozin için 0.06-0.5 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Tablo 1: *C. albicans* izolatlarına antifungal ajanların MİK değerleri (µg/mL).

Antifungal	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK aralığı
Flukonazol	0.25	0.5	0.06-1
Amfoterisin B	≤ 0.03	0.125	≤ 0.03 -0.25
Itrakonazol	0.06	0.125	≤ 0.03 -0.5
Flusitozin	0.125	0.25	0.06-0.5

TARTIŞMA

Son yıllarda yayınlanan birçok çalışma yoğun bakım ünitelerinde kandidemi insidansının arttığına dikkat çekmektedir^(1,2,4). Antifungal direnç paternlerindeki değişikliklerin izlenmesi, antifungal ajanların akılcı kullanımının sağlanabilmesi için yatan hastalarda infeksiyon etkeni olan *Candida* türlerine antifungal duyarlılık test-

lerinin rutin olarak uygulanması önerilmektedir^(18,19).

Flukonazol, geniş etki spektrumu bulunması ve toksisitesinin az olması nedeniyle yaygın kullanım alanına sahip bir antifungal ajandır. Flukonazolün yanlış endikasyonlarda ve/veya uygun olmayan dozlarda kullanımı sonucu önceden duyarlı olduğu bilinen suşlarda direnç gelişimine sebep olmasının yanı sıra, primer flukonazol dirençli suşların etken olduğu infeksiyonların da artmasına neden olduğu bilinmektedir^(21,22). Kandidemi etkeni *C.albicans* izolatlarında flukonazol direncinin Latin Amerika'da % 0.3, İtalya'da % 2.7, ABD'de % 5, Tayvan'da % 20 olduğu bildirilmiştir^(7,15,17,23). Çalışmamızda tüm suşlar flukonazole duyarlı bulunmuştur. Ülkemizde Bakır ve ark.⁽⁵⁾'nin araştırmasında da *C.albicans* suşlarında flukonazol direnci saptanmamıştır. Benzer şekilde Arıkan ve ark.⁽³⁾ da flukonazol direnci tespit etmemiş, suşların % 1.8'inin flukonazole doza bağımlı duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Amfoterisin B polien bir antifungal ajandır. Amfoterisin B'ye karşı direnç gelişimi oldukça nadirdir⁽⁸⁾. Çalışmamızda *C.albicans* izolatlarında amfoterisin B direncine rastlanmamıştır. Benzer sonuçlar ABD, Avrupa ülkeleri, Latin Amerika ve Tayvan'dan da bildirilmiştir^(7,9,15,17). Ülkemizde Bakır ve ark.⁽⁵⁾ kandidemi etkeni olarak izole edilen 52 *C.albicans* izolatında amfoterisin B duyarlılığını % 100 olarak bildirmişlerdir.

Bu çalışmada *C.albicans* izolatlarında itrakonazol direnci saptanmamasına rağmen, 2 izolatın (MİK=0.5 µg/mL) itrakonazole doza bağımlı duyarlı olduğu gözlenmiştir. Tortorano ve ark.⁽²³⁾'nin araştırmasında kandidemi olgularından izole edilen *C.albicans* suşlarında itrakonazol direnci % 2.7, doza bağımlı duyarlılık % 1.6 olarak bulunmuştur. Ülkemizde Arıkan ve ark.⁽³⁾ *C.albicans* izolatlarında itrakonazol direncine rastlamazken, doza bağımlı duyarlılığı % 5.3 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *C.albicans* suşları flusitozine duyarlı bulunmuştur. Pfaller ve ark.⁽²⁰⁾ tüm dünyada 200'ü aşkın hastaneden topladıkları kan ve diğer derin dokulardan izole edilmiş *C.albicans* suşlarında flusitozin direncini % 3

olarak belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinden de bildirilmiştir^(4,10,13,23). Flusitozinin etki spektrumunun dar olması, hepatotoksisite ve kemik iliği depresyonu gibi ciddi yan etkilerinin olması nedenleriyle kullanım alanı kısıtlıdır^(12,25).

Sonuç olarak hastanemiz yoğun bakım ünitesinden kandidemi etkeni olarak izole edilen *C.albicans* suşlarında flukonazol, amfoterisin B, flusitozin ve itrakonazol direnci bulunmamaktadır. Bu nedenle, *C.albicans*'a bağlı kandidemi saptanan YBÜ hastasında flukonazol güvenle kullanılabilir. Ancak zaman içinde antifungal duyarlılık profillerindeki değişikliklerin ve direnç gelişiminin takip edilebilmesi açısından, antifungal duyarlılık testlerinin yapılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzowski H, Vartivarian S: The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species, *Clin Infect Dis* 1997;24(6):1122-8.
2. Aquino VR, Lunardi LW, Goldani LZ, Barth AL: Prevalence, susceptibility profile for fluconazole and risk factors for candidemia in a tertiary care hospital in southern Brazil, *Braz J Infect Dis* 2005;9(5):411-8.
3. Arıkan S, Arslan Ş, Haşçelik G, Günalp A: Hacettepe Üniversitesi hastanesinde kan kültürlerinden izole edilen mayaların antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bül* 2001;35(3):433-41.
4. Asmundsdottir LR, Erlendsdottir H, Gottfredsson M: Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland, *J Clin Microbiol* 2002;40(9):3489-92.
5. Bakır M, Cerikcioglu N, Barton R, Yagci A: Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital, *APMIS* 2006;114(9):601-10.
6. Basetti M, Righi E, Costa A et al: Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care, *BMC Infect Dis* 2006;6:21.
7. Colombo AL, Nucci M, Park BJ et al: Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers, *J Clin Microbiol* 2006;44(8):2816-23.
8. Colombo AL, Perfect J, DiNubile M et al: Global distribution and outcomes for *Candida* species

- causing invasive candidiasis, results from an international randomized double-blind study of caspofungin versus amphotericin B for the treatment of invasive candidiasis, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22(8):470-4.
9. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B et al: In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003, *J Antimicrob Chemother* 2005;55(2):194-9.
 10. Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH et al: Incidence of blood stream 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. Jarvis WR: Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species, *Clin Infect Dis* 1995;20(6):1526-30.
 12. Kauffman CA, Frame PT: Bone marrow toxicity associated with 5-fluorocytosine therapy, *Antimicrob Agent Chemother* 1977;11(2):244-7.
 13. Kibbler CC, Seaton S, Barnes RA et al: Management and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales, *J Hosp Infect* 2003;54(1):18-24.
 14. Leone M, Albanese J, Antonini F, Michel-Nguyen A, Blanc-Bimar MC, Martin C: Long-term epidemiological survey of *Candida* species: comparison of isolates found in intensive care unit and conventional wards, *J Hosp Infect* 2003;55(3):169-74.
 15. Lu JJ, Lee SY, Chiueh TS: In vitro antifungal susceptibility testing of *Candida* blood isolates and evaluation of the E-test method, *J Microbiol Immunol Infect* 2004;37(6):335-42.
 16. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard, 2nd ed. Document M27-A, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa (2002).
 17. Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG et al: Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(10):3149-54.
 18. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ, the SENTRY Participants Group: Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000, *J Clin Microbiol* 2002;40(3):852-6.
 19. Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP: National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program, *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;31(1):327-32.
 20. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Huynh H, Hollis RJ, Diekema DJ: In vitro activities of 5-fluorocytosine against 8,803 clinical isolates of *Candida* spp. Global assessment of primary resistance using National Committee for Clinical Laboratory Standards susceptibility testing methods, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(11):3518-21.
 21. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ et al: Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges, *Clin Microbiol Rev* 2001;14(4):643-58.
 22. Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM: Current and emerging azole antifungal agents, *Clin Microbiol Rev* 1999;12(1):40-79.
 23. Tortorano AM, Prigitano A, Biraghi E, Viviani MA, FIMUA-ECMM Candidaemia Study Group: The European Confederation of Medical Mycology (ECMM) survey of candidaemia in Italy: in vitro susceptibility of 375 *Candida albicans* isolates and biofilm production, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(4):777-9.
 24. Verduyn Lunel FM, Meis JF, Voss A: Nosocomial fungal infections: candidemia, *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;34(3):213-20.
 25. Vermes A, Guchelaar HJ, Dankert J: Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions, *J Antimicrob Chemother* 2000;46(2):171-9.
 26. Voss A, Kluytmans JG, Koeleman L et al: Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15(12): 909-12.