

DEĞİŞİK KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE ANTİFÜNGAL DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI*

Nurten ALTANLAR,¹ Ali ERDEMOĞLU², Gürol EMEKDAŞ²,
Ömer KOCABEYOĞLU², Ahmet AKIN¹

ÖZET

Günümüzde fırsatçı mantar infeksiyonları morbidite ve mortalite nedeni olarak önemli hale gelmiştir. Mantarlar için antifungal duyarlılık testleri pratikte seyrek yapılmaktadır. Bu çalışmada idrar ve vaginal sürüntü örneklerinden izole edilen 117 *Candida* suşunun identifikasyonu API ID 32 C kitleri (bioMerieux) ile ve antibiyotik duyarlılıkları ATB fungus kitleri (bioMerieux) ile araştırılmış, sonuçlar API sisteminde (bio-Merieux) değerlendirilmiştir. Suşların 51'i *C. albicans*, 36'sı *C. glabrata*, 16'sı *C. kefyr*, 13'ü *C. krusei* ve 1'i *C. parapsilosis* olarak tanımlanmıştır. *Candida* suşlarına en etkili antifungal % 95 oranıyla 5-fluorositosin olup, bunu yüksek duyarlılık oranları ile izleyen antifungaller nistatin (% 92) ile amfoterisin-B ve mikonazol (% 91) olmuştur. Fakat ketokonazol (% 25) ve ekonazole (% 15) daha yüksek oranda direnç saptanmıştır. Sonuçlarımız, fırsatçı *Candida* infeksiyonlarında empirik tedavide uygun antifungal seçiminde hastane florasında bulunan *Candida* türlerinin antifungal duyarlılıklarının bilinmesinin yararlı olacağını ortaya koymaktadır.

SUMMARY

Identification and antifungal susceptibility of Candida strains isolated from various clinical material.

Nowadays, opportunistic fungal infections became an important cause of morbidity and mortality. The antibiotic susceptibility testing of fungal isolates are done rarely in practice. In this study, the identification of 117 *Candida* strains isolated from urine and vaginal secretion were investigated by API ID 32 C kits (bioMerieux) and the antifungal susceptibility of these strains were investigated by ATB fungus kits. The results were evaluated by API system (bioMerieux). The 117 *Candida* strains were identified as; 51 *C. albicans*, 36 *C. glabrata*, 16 *C. kefyr*, 13 *C. krusei* and one *C. parapsilosis*. The 5-fluorocytosine (95%) was found as the most effective antifungal agent. The other effective antifungal agents with high susceptibility rates were nystatine (92%), amphotericin B and miconazole (91%). But, 25% and 15% of the *Candida* strains were found resistant to ketoconazole and econazole, respectively. Our results show that, for the empiric therapy of the opportunistic *Candida* infections, the antifungal susceptibility of the *Candida* strains in the flora of the hospitals must be achieved.

GİRİŞ

Son yıllarda fırsatçı mantar infeksiyonları daha sık olarak ortaya çıkmakta, morbidite ve mortalite nedeni olarak günümüzde önem taşımaktadır. Çoğunlukla sistemik infeksi-

* XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde sunulmuştur (4-9 Ekim 1998, Antalya).

1- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

2- GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul.

yonlar şeklinde ortaya çıkan fırsatçı mantar infeksiyonlarının tedavisi de bu artışa bağlı olarak daha sık gündeme gelmekte, kullanılan antifungallere karşı direnç oluşumu nedeniyle yeni antifungallere gereksinim duyulmaktadır (8,13,26). Klinik örneklerden mantar türlerinin izolasyonu ve antifungallere duyarlılıklarının belirlenmesi erken tanı ve tedaviyi önemli ölçüde etkilemekte, direnç gelişiminin takibi ve ampirik tedavi yaklaşımlarında yol gösterici olması bakımından önem taşımaktadır (17).

Sistemik etkili antifungal ilaçlardaki artış ve dirençle ilgili artan bildirimler en uygun tedavi seçeneklerini ve antifungal duyarlılık testlerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada değişik klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin identifiye edilmesi ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi laboratuvarlarına gönderilen toplam 117 idrar ve vaginal sürüntü örneği Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerine ekilip 30°C'de 2-5 gün üretilerek *Candida* yönünden incelenmiştir. Besiyerlerinde üreyen kolonilerden hazırlanan preparatlar Gram yöntemi ile boyanmış ve *Candida* görünümüne uyanlar API ID 32 C sistemiyle identifiye edilmişlerdir. API ID 32 C özel hazırlanan veri tabanıyla, standardize ve minyatürize edilmiş özümleme testleri kullanan bir maya tanımlama sistemidir. ID 32 C striplerinin her biri dehidrate karbonhidrat maddesi içeren kuyucuklardan oluşmaktadır. Test edilecek şüpheli mayanın süspansiyonu hazırlanarak yarı katı, kimyasal tanımı yapılmış olan mini besiyerlerine inoküle edilir. 24-48 saatlik inkübasyon dönemi sonunda kuyucuklardaki reaksiyon mini API sisteminde izlenip, bilgisayar programıyla değerlendirilmiştir.

API ID 32 C kitiyle *Candida* tür tayini yapılan suşların antifungal duyarlılıkları ATB fungus kitleri kullanılarak araştırılmış ve mini API sisteminde değerlendirilmiştir. ATB fungus kiti mayaların antifungal duyarlılığının saptandığı yarı katı bir ortamdır. Kit kapsamında yer alan ATB fungus stripleri 16 çift kuyucuk içerir. Bu kuyucuklardan 4 çifti kontrol için kullanılır. Diğer çiftler 2 ayrı çözünürlükte antifungal içermektedir. İki ayrı çözünürlükte bulunmasından amaç, MIC belirlenmesinde yardımcı olmaktır (24).

SDA'dan alınan kolonilerin McFarland 2 bulanıklığında süspansiyonu yapıldıktan sonra test prosedürü gereği striplere inoküle edilmiş ve 24-48 saat 30°C'de inkübasyondan sonra mini API sisteminde duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

İzole edilen 117 *Candida* suşunun 51'si (% 44) *C. albicans*, 36'sı (% 31) *C. glabrata*, 16'sı (% 14) *C. kefyr*, 13'ü (% 11) *C. krusei* ve 1'i (% 1) *C. parapsilosis* olup, bunların amfoterisin-B, 5-fluorositosin, nistatin, mikonazol, ekonazol ve ketokonazole duyarlılık oranları % olarak tabloda gösterilmiştir.

Tablo . *Candida* suşlarının antifungal duyarlılık oranları (%).

Tür (suş sayısı)	5-fluorositosin	Amfoterisin-B	Nistatin	Mikonazol	Ekonazol	Ketokonazol
<i>C.albicans</i> (51)	96	94	90	92	86	76
<i>C.glabrata</i> (36)	94	94	97	92	86	78
<i>C.kefyr</i> (16)	94	87	94	94	81	69
<i>C.krusei</i> (13)	92	85	85	85	85	77
<i>C. parapsilosis</i> (1)	(1)*	(0)	(1)	(1)	(1)	(0)
Toplam (117)	95	91	92	91	85	75

*Suş sayısı

Candida suşlarına en etkili antifungal 5-fluorositosin (% 95) olup, bunu % 92 ile nistatin ve % 91 ile amfoterisin-B ve mikonazol izlemiştir. Ekonazole % 15 ve ketokonazole % 25 oranında direnç saptanmıştır.

TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan in-vitro duyarlılık çalışmalarında mantar suşlarında antifungal ilaçlara karşı direnç saptanmaktadır. Zamana bağlı olarak ortaya çıkan yeni patojen mantar türleri ve antifungal maddelere duyarlılık farklılıkları nedeniyle mantar hastalıklarında tedavide başarıyı artırmak amacıyla tür tanısı ve antifungal maddelere duyarlılık deneylerinin uygulanmasının yararlılığı üzerinde durulmaktadır. Bu nedenlere bağlı olarak infeksiyon etkeni olan mantar suşlarının antifungal maddelere duyarlılığını ortaya çıkarmayı amaçlayan deneyler daha sık olarak uygulanmaktadır (7,9,22,23,25,27).

Antifungal maddelerin in-vitro ve in-vivo etkinliklerinin belirlenmesinde standardizasyon sorununu ortadan kaldırmak için yoğun çalışmalar yürütülmekte ve laboratuvarların genel kurallar içinde kendi standart koşullarını oluşturmaları önerilmektedir. NCCLS'in mikrodilüsyon yöntemi için bildirdiği sonuçlar, makrodilüsyon yöntemiyle yapılan çalışma sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur. Antifungal testlerde kullanılmak üzere bu iki yöntem dışında E-test, ATB fungus, Autobac, API, Alamar-blue gibi ticari sistemler de geliştirilmiştir (7,9,23,29).

Değişik klinik örneklerden izole ettiğimiz *Candida* suşlarının 51 (% 44)'i *C. albicans* olarak belirlenirken, 2.ci sırayı *C. glabrata* (% 31) almıştır. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da maya infeksiyonlarından etken olarak en çok *C. albicans* izole edilmiştir. Bu çalışmalarda infeksiyon etkeni olarak izole edilen diğer maya türleri; *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. stellatoidea*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata*'dır. Demirel (6) yaptığı bir çalışmada % 76.7 oranında *C. albicans* izole ederken, Bahuka ve arkadaşları (3) % 80.7 oranında, Özyurt ve arkadaşları (20) % 70 oranında *C. albicans* izole etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre *Candida* türleri içerisinde *C. albicans*'ın en sık izole edilen tür olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan *Candida* suşlarına en etkili antifungal % 95'lik duyarlılık oranı ile 5-fluorositosindir. Favel ve arkadaşları (10) 5-fluorositosine % 92'lik bir duyarlılık oranı bulgularımızla uyumludur. Amfoterisin-B için saptadığımız % 91'lik duyarlılık oranı bulgularımızla uyumludur. Perera ve arkadaşlarının (21) nistatin için belirledikleri % 92'lik duyarlılık oranı da Perera ve arkadaşlarının (21) verileriyle uyum göstermektedir. Oldacay ve arkadaşları (18) vajinitli hastalardan izole ettikleri 52 *Candida* suşunun % 76.9'unu *C. albicans*, % 9.6'sını *C. stellatoidea* ve % 5.7'sini de *C. tropicalis* olarak tanımladılar. *C. tropi-*

calis suşlarının % 20'si ketokonazole, *C. albicans* suşlarının % 2.5'i nistatine, % 5'i ekonazole ve % 7.5'i ketokonazole dirençli bulunmuştur (18).

Gürer ve arkadaşları (12) vajinitli hastalardan izole edilen 47 maya suşunun tür tayinini API 20 C sisteminde yapmışlar ve in-vitro duyarlılık tayininde de makrodilüsyon yöntemi kullanarak flukonazole % 10.6, nistatine % 19.1 ve klotrimazole % 21.2 oranında direnç saptamışlardır.

Vural ve arkadaşları (28) kan kültürlerinden izole ettikleri *C. albicans* suşlarının tümünün flusitozin, amfoterisin B, nistatin ve mikonazole duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Son yıllarda, maya ve dermatofitlerde antifungal maddelere direnç geliştiği görülmektedir. Etkenin belirlenmesi için kültür yapılması ve antifungal duyarlılığının saptanması gerekliliği artık literatürde sık olarak yer almaktadır (4,5,11,14). Son yıllarda fırsatçı mantar infeksiyonlarındaki artış ve buna karşı antifungal maddelerin denenmesi, bu deneylerin standartlaştırılmış olmaması in-vitro deneylere özenle yaklaşımı gerektirmektedir. NCCLS bir alt komisyon oluşturarak in-vitro deneylerde standardizasyon için çok merkezli bir araştırma başlatmıştır. Ülkemizde de özellikle son yıllarda mantarlara karşı antifungal duyarlılıklarının araştırıldığı çalışmalar artmaktadır (1,2,15,16,19).

Sonuç olarak mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen *Candida* türleri için antifungal duyarlılık testinin her zaman yapılamadığı gerçeğinden hareketle, bulgularımızın *Candida* spp. ile oluşan infeksiyonların ampirik tedavisinde dikkate alınmasının tedavide başarı oranını artıracakı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- 1- Akgün Y, Akşit E: Klinik olgulardan izole edilen kandidaların antimikotiklere duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bül* 15: 112 (1981).
- 2- Aktan G: Gebe olan ve olmayan kadınlarda maya infeksiyonlarının antimikotiklere duyarlılıkları, *Doktora Tezi*, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1988).
- 3- Bahukova TA, Dobrodeeva LK: Role of fungi belonging to the genus *Candida* in the etiology of nonspecific pulmonary diseases, *Antibiot Chemother* 41 (6): 44 (1996).
- 4- Braude A, Davis CE, Fierer J: *Medical Microbiology and Infectious Diseases*, WB Saunders Co, Philadelphia-London (1981).
- 5- Deacon JW: Introduction to modern mycology, "JF Wilkinson (ed): *Basic Microbiology*, vol. 7" kitabında s. 1, Oxford (1980).
- 6- Demirel A H: Enstitümüzde izole edilen *Candida*'lar üzerinde bir çalışma, *Uzmanlık Tezi*, GATA, Ankara (1976).
- 7- Denning D W, Baily G G, Hood SW: Azole resistance in *Candida*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 16: 261 (1997).
- 8- Dick JD, Merz WG, Saral R: Incidence of polyene-resistant yeast recovered from clinical specimens, *Antimicrob Agents Chemother* 18: 158 (1980).
- 9- Espinel-Ingroff A, Kerkering T M, Goldson PR, Shadomy S: Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility test, *Clin Microbiol* 29: 1089 (1991).
- 10- Favel A, Michel-Nguyen A, Chastin C, Trousson F, Penaud A, Regli P: In vitro susceptibility pattern of *Candida lusitanae* and evaluation of the E-test method, *J Antimicrob Chemother* 39: 591 (1997).

- 11- Galgiani JN: Antifungal susceptibility test, *Antimicrob Agents Chemother* 31: 1867 (1987).
- 12- Gürer ÜS, Çevikbaş A, İmamoğlu Ç, Daşdelen N, Yıldırım A, Dericci K: Vajinitli hastalardan izole edilen maya türlerinin antifungallere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 11: 482 (1997).
- 13- Holt R J, Azmi A: Miconazole resistant Candida, *Lancet* 7: 50 (1978).
- 14- Horowitz BJ: Antifungal therapy in the management of chronic candidiasis, *Am J Obstet Gynecol* 158: 986 (1988).
- 15- Katırcıoğlu İ, Nemut T, Karadenizli A, Balıkcı E, Bingöl R: Vajinal akıntı örneklerinden izole edilen mayaların tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılıkları, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı Bildiri No. 22-369*, Antalya (1998).
- 16- Kiraz M, Kasımoğlu Ö, Aktan G, Kaya D: Trichophyton mentagrophytes suşlarının antifungal maddelere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 8: 10 (1994).
- 17- Kwon C, Chung KJ, Bennet J E: *Medical Mycology*, Lea-Febiger, Philadelphia-London (1992).
- 18- Oldacay M, Taşçıoğlu J, Kayaalp S, Dönmez-Demir G: Vajinit etkeni olarak izole edilen mayaların tür ayrımı ve bazı antifungallere duyarlılıkları, *XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* s. 188, Antalya (1996).
- 19- Özalp M, Yuluğ N: Yüzeysel mikozlarda etken olan Candida türleri bazı imidazol türevlerine duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 4: 645 (1990).
- 20- Özyurt M, Haznedaroğlu T, Gün H, Kubar A, Gönlüm A: Fluconazole ve amphotericin B'nin RPMI-1640 medium kullanılarak broth makrodilüsyon yöntemiyle bazı kandida türlerine etkinliklerinin mukayeseli çalışması, *25. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı 1*, s. 80, Bursa (1992).
- 21- Perera J, Clayton Y: Incidence species distribution and antifungal sensitivity pattern of vaginal yeast in Sri Lanka women, *Mycoses* 37: 357 (1994).
- 22- Pfaller MA, Barry AL: Evaluation of a novel colorimetric broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of yeast isolates, *J Clin Microbiol* 32: 1992 (1994).
- 23- Pfaller MA, Bate M, Buschelman B, Lancaster M, Espinel-Ingroff A, Rex JH, Rinaldi MG: Selection of candidate quality control isolates and tentative quality control ranges for in vitro susceptibility testing of yeast isolates by National Committee for Clinical Laboratory Standards proposed standard methods, *J Clin Microbiol* 32: 1650 (1994).
- 24- Quindos G, Salesa R, Carrillo-Munoz AJ, Lipperheide V, Jaudenes L, Millan RS, Torres-Rodriguez JM, Ponton J: Multicenter evaluation of ATB fungus: A standardized micromethod for yeast susceptibility testing, *Chemotherapy* 40: 245 (1994).
- 25- Radetsky M, Wheeler R C, Roe M H, Tod JK: Microtiter broth dilution method for yeast susceptibility testing with validation by clinical outcome, *J Clin Microbiol* 24: 600 (1986).
- 26- Rippon J W: *Medical Mycology. The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*, 3. baskı, WB Saunders Co, Philadelphia-London (1988).
- 27- Shadomy S: In vitro and in vivo evaluation of antifungal agents, *J Clin Microbiol* 8: 352 (1989).
- 28- Vural T, Çolak D, Celeboğlu N, Felek R, Öngüt G, Er D, Şekercioğlu AO, Tuncer D, Saygan MB, Gökay B: Kan kültürlerinden izole edilen Candida türleri ve antifungal duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 12: 75 (1998).
- 29- Yuluğ N: Antifungal duyarlılık testlerinde standardizasyon girişimleri, *XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* s. 126, Antalya (1996).