

TIRNAK İNFEKSİYONU ETKENİ OLAN MAYALAR VE ANTİFUNGAL MADDELERE DUYARLIKLARI

Jaleh AZİMİ, Gülşen AKTAN, Meltem UZUN

ÖZET

Onikomikoz şüpheli 115 hastadan alınan tırnak örneklerinin 24'ünden etken olarak maya suşu üretilmiş, yedisi *Candida albicans*, altısı *Candida guilliermondii*, üçü *Candida utilis*, ikisi *Candida tropicalis*, ikisi *Trichosporon pullulans*, biri *Torulopsis glabrata*, biri *Candida stellatoidea* ve ikisi *Candida* spp. olarak tanımlanmıştır.

Suşların bifonazol, isokonazol, ketokonazol, klotrimazol, mikonazol, nistatin, oksikonazol, pimarisin, sulkonazol, tiyokonazol ve tolnaftata duyarlılıkları MİK değerleri saptanarak araştırılmış ve bu maddelerin deri düzeyleri ile karşılaştırılmıştır.

Suşların en yüksek oranda direnç gösterdiği antifungal maddelerin bifonazol, klotrimazol, pimarisin, tiyokonazol ve tolnaftat olduğu belirlenmiştir.

SUMMARY

Yeasts as causative agents of onychomycosis and their susceptibility to antifungal agents.

Twenty four yeast strains were isolated as infection agents from nail specimens of 115 onychomycosis suspected patients. Seven strains were identified as *C.albicans*, 6 as *C.guilliermondii*, 3 as *C.utilis*, 2 as *C.tropicalis*, 2 as *T.pullulans*, 1 as *T.glabrata*, 1 as *C.stellatoidea* and 2 as *Candida* spp.

Susceptibility of the strains to bifonazole, isoconazole, ketoconazole, clotrimazole, miconazole, nystatin, oxiconazole, pimarinic, sulconazole, tioconazole and tolnaftate were determined by microdilution technique and MIC values were compared with skin levels of antifungal agents.

High resistance ratios were obtained with bifonazole, clotrimazole, pimarinic, tioconazole and tolnaftate.

GİRİŞ

Tırnaklarda oluşan şekil bozukluğu ve renk değişikliğine genel olarak "onikoz" adı verilir. Onikoz çeşitli nedenlerle ortaya çıkar ve yaklaşık olarak % 25'inin etkeni mantarlardır. "Onikomikoz" adı altında toplanan tırnaktaki mantar infeksiyonlarında başlıca etkenler *Trichophyton*, *Microsporum* ve *Candida* türleridir.

Candida albicans infeksiyonlarda hala en sık rastlanan maya olmaya devam etmektedir. *C.parapsilosis*, *C.tropicalis* ve *C.lusitaniae* gibi diğer türler de son zamanlarda önemli fırsatçı patojenler olarak infeksiyonlarda etken olmaktadır.

İnfeksiyon etkeni olmadan florada bulunabilen, predispozan faktörler varlığında fırsatçı olarak infeksiyon oluşturan maya cinsleri *Candida*, *Torulopsis*, *Trichosporon*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Geotrichum*, *Saccharomyces* ve *Hansenula*'dır (6, 18, 31).

Mantar infeksiyonları çoğunlukla klinik bulgulara dayanılarak tedavi edilmektedir. Ancak bazı mantar infeksiyonlarının klinik bulguları birbirlerine benzer şekilde ortaya çıkmakta, bunların etkenleri farklılık göstermektedir. İnfeksiyon etkeninin maya veya küf oluşuna bağlı olarak veya türlere göre tedavide farklı antifungal maddeler kullanılması gerekmektedir. Bu şekilde yürütülmemiş bir tedavi sonucunda başarılı sonuç alınamamakta, aksine hastalık ilerlemektedir. Son yıllarda yapılan in-vitro duyarlık çalışmalarında mantar suşlarında antifungal ilaçlara karşı direnç saptanmaktadır. Zamana bağlı olarak ortaya çıkan yeni patojen mantar türleri ve antifungal maddelere karşı duyarlık farklılıkları nedeniyle mantar hastalıklarında tedavide başarıyı arttırmak amacıyla tür tanısı ve antifungal maddelere duyarlık deneylerinin uygulanmasının yararlılığı üzerinde durulmaktadır (2, 8, 10, 13, 16, 19, 22, 26, 30).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çoğunlukla el ve ayak tırnaklarında kırılma, renk değişikliği daha az sıklıkta ise kaşıntı, ağrı ve koku şikayeti ile gönderilen 115 hastadan alınan tırnak ve tırnak eti kazıntı örnekleri maya infeksiyonu araştırmak amacıyla incelenmiştir. İnfeksiyon etkeni olarak izole edilen maya hücrelerinin cins ve tür tanısı için germ tüpü oluşumu, klamidiospor oluşumu, karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu ve gerektiğinde diğer özellikleri (pigment oluşumu, üreaz enzim aktivitesi, aktidion direnci) incelenmiş, ayrıca antifungal maddelere duyarlıkları araştırılmıştır (1, 2, 4, 8, 9, 14, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 26, 31).

Antifungal madde duyarlığı:

Mayalara bağlı onikomikoz olgularının tedavisinde kullanılan bifonazol, isokonazol, ketokonazol, klotrimazol, mikonazol, nistatin, oksikonazol, pimarisin, sulkonazol, tiyokonazol ve tolnaftata duyarlık MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) değeri saptanarak araştırılmıştır. Duyarlık deneyinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır.

Deneyde steril, 96 çukurlu U tipi mikropleytlar ve besiyeri olarak Yeast Nitrogen Base (YNB, Difco) kullanılmıştır. Toplam olarak 210 µl'lik besiyeri+antifungal madde+maya süspansiyonu ile çalışılmıştır. Başlangıçta 200 µg/ml'lik antifungal madde konsantrasyonu 50 µg/ml'ye düşürülmüş ve seri dilüsyon uygulanmıştır (Deneye 10 µl halinde ilave edilen maya süspansiyonunun konsantrasyon saptanmasında ihmal edilebilir bir miktar olduğu çeşitli yayınlarda belirtilmektedir).

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 115 klinik örneğin 60'ında etken olarak mantarların ürettiği, 55'inde ise patojen mantar üremediği, üreyen mantarların 24'ünün maya ve 36'sının dermatofit suşu olduğu belirlenmiştir.

İzole edilen 24 maya suşundan yedisi *Candida albicans*, altısı *Candida guilliermondii*, üçü *Candida utilis*, ikisi *Candida tropicalis*, ikisi *Trichosporon pullulans*, biri *Torulopsis glabrata*, biri *Candida stellatoidea* ve ikisi *Candida spp.* olarak idantifiye edilmiştir.

Kültür sonucu izole edilen 24 maya suşu için antifungal maddelerin MİK değerleri tablo 1'de, çeşitli türlerde antifungal maddelere dirençli suş sayıları tablo 2'de gösterilmiştir.

Duyarlık sonuçları toplu olarak değerlendirildiğinde 24 maya suşundan 23'ünün tolnaftata, 17'sinin bifonazole, 17'sinin pimarisine, 14'ünün tiyokonazole, 16'sının klotrimazole, sekizinin mikonazole, yedisinin ketokonazole, altısının sulkonazole, yedisinin oksikonazole, ikisinin isokonazole ve birinin nistatine dirençli olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

TARTIŞMA

Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda maya infeksiyonlarından etken olarak en çok *C.albicans* izole edilmiştir.

Yüzeysel mantar infeksiyonlarında da en sık olarak etken olan maya *C.albicans*'tır. Farklı araştırma grupları tarafından yüzeysel mantar infeksiyonunda % 19.2 - % 7 arasında *C.albicans* izolasyon oranları bildirilmiştir. İzolasyon sıklığının sayısal olarak belirtilmediği diğer çalışmalarda yine *C.albicans*'ın en sık izole edilen tür olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda infeksiyon etkeni olarak izole edilen diğer maya türleri, *C.guilliermondii*, *C.tropicalis*, *C.krusei*, *C.stellatoidea*, *C.parapsilosis* ve *T.glabrata*'dır (2, 3, 12, 20, 25, 27, 28, 29).

Çalışmamızda *C.albicans* izolasyon oranı % 6 olup, izole edilen 24 maya suşunun yedisi *C.albicans*, altısı *C.guilliermondii*, üçü *C.utilis*, ikisi *C.tropicalis*, ikisi *Trichosporon pullulans* biri *Torulopsis glabrata*, biri *C.stellatoidea* ve ikisi *Candida spp.* olarak tanımlanmıştır.

Son yıllarda antifungal maddelerle yapılan çalışmalar maya ve dermatofitlerde direnç saptandığını göstermektedir. Etkenin belirlenmesi için kültür yapılması ve etkenin antifungal maddelere duyarlıklarının saptanması gerekliliği artık literatürde sık olarak yer almaktadır (5, 7, 9, 10, 11, 14, 16, 22, 26, 30).

Antimikotik maddelerle yapılan deneyler antibakteriyel antibiyotiklerle yapılan deneylere kıyasla daha başlangıç safhadadır; son yıllarda fırsatçı mantar infeksiyonlarındaki artış ve buna karşı yeni antifungal maddelerin denenmesi, bu deneylerin standartlaştırılmış olmaması ve in-vitro şartlarla in-vivo şartların uyumsuzluğu gibi olumsuzluklar, in-vitro deneylere daha özenle yaklaşılmasını gerektirmektedir. İn-vitro duyarlık sonuçlarına gereksinim nedeniyle National Committee on Clinical Laboratory Standardization (NCCLS) bir alt komisyon oluşturarak in-vitro deneylerde standardizasyon, deneysel in-vivo etkinlik ve klinik olgularda etkinlik konularında geniş ve çok merkezli bir araştırma başlatmıştır. Ekim yoğunluğu, etüvde bekleme süresi ve derecesi, deneyin yapıldığı besiyerinin bileşimi ve pH gibi etkenlerin, sonuçları önemli derecede değiştirebileceği dikkate alınmıştır. Ülkemizde de özellikle son yıllarda mantarlara karşı antifungal maddelerin duyarlıklarının araştırıldığı çalışmalar sürdürülmektedir (2, 4, 11, 13, 20).

Tablo 1. İzole edilen 24 maya suşunun antifungal maddelere duyarlılığı.

| Antifungal madde | Doku düzeyleri (µg/ml) | MIK değerleri (µg/ml) | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|---------------------------|-----------------------|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---|---|---|---|
| | | 50 | 25 | 12.5 | 6.25 | 3.13 | 1.56 | 0.78 | 0.39 | 0.20 | 0.10 | 0.05 | | | | |
| Bifonazol | 2-3 | 14 | 1 | 1 | 1 | 4 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Isokonazol | 2-3 | 1 | 1 | - | - | 3 | 9 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 6 |
| Ketokonazol | 5 | 2 | 1 | 4 | - | 1 | - | 2 | 2 | 4 | 4 | 4 | 1 | 1 | 7 | - |
| Klotrimazol | 0.5-1 | 3 | 7 | 1 | - | 3 | 2 | 3 | 1 | 4 | 4 | 1 | 4 | - | - | - |
| Mikonazol | 3 | - | 4 | 3 | 1 | 2 | 2 | 5 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | - | 2 | 2 |
| Nistatin | 5 | - | - | 1 | - | 2 | 4 | 8 | 9 | - | - | - | - | - | - | - |
| Oksikonazol | 2-3 | - | 3 | 1 | - | 1 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | - | 9 | - |
| Pimarisin | 5 | - | 2 | 4 | 10 | 8 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sulkonazol | 2-3 | 1 | - | 3 | 2 | 5 | 2 | 1 | 1 | 7 | 2 | 1 | 1 | 1 | 3 | 5 |
| Tiyokonazol | 2-3 | 7 | 6 | 1 | 1 | 1 | - | 2 | 1 | - | - | 2 | 1 | 1 | 1 | 5 |
| Tolnaftat | 3 | 21 | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - |

Tablo 2. Antifungal maddelere dirençli bulunan maya suşlarının sayısal dağılımı.

| | C. albicans (n= 7) | C. guilliermondii (n= 6) | C. utilis (n= 3) | C. tropicalis (n= 2) | Candida spp. (n= 2) | C. stellatoidea (n= 1) | T. pullulans (n= 2) | T. glabrata (n= 1) | Toplam (n= 24) |
|-------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------|-------------------|
| Bifonazol | 6 | 6 | 2 | 2 | - | - | 1 | - | 17 |
| Isokonazol | 1 | - | - | 1 | - | - | - | - | 2 |
| Ketokonazol | 3 | 3 | - | 1 | - | - | - | - | 7 |
| Klotrimazol | 6 | 4 | 2 | 2 | - | - | 1 | 1 | 16 |
| Mikonazol | 5 | - | 1 | 2 | - | - | - | - | 8 |
| Nistatin | - | - | - | 1 | - | - | - | - | 1 |
| Oksikonazol | 3 | 2 | - | 2 | - | - | - | - | 7 |
| Pimarisin | 4 | 3 | 3 | 2 | 2 | - | 2 | 1 | 17 |
| Sulikonazol | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | - | - | - | 6 |
| Tiyokonazol | 5 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | - | 1 | 14 |
| Tolnaftat | 7 | 6 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 23 |

Yüzeysel mikozlarla ilgili yapılan çeşitli çalışmalar mayaların epidermise kadar indiğini göstermektedir. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan deneylerde deri düzeyleri bifonazol, isokonazol, oksikonazol, sulkonazol ve tiyokonazol için 2-3 µg/ml, ketokonazol, pimarisin ve nistatin için 5 µg/ml, mikonazol ve tolnaftat için 3 µg/ml ve klotrimazol için 0.5-1 µg/ml olarak bildirilmiştir (13, 19, 21, 26).

Antifungal maddelere duyarlılık deneylerinde elde edilen MİK değerleri, yukarıdaki düzeylerle karşılaştırılarak denenen mantar suşlarının duyarlılıkları belirlenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Aheram DG, McGlohm MS: In-vitro susceptibilities of sucrose negative *Candida tropicalis*, *Candida lusitanae* and *Candida norvegensis* to amphotericin B, 5-fluorocytosine, miconazole and ketoconazole, *J Clin Microbiol* 19: 412 (1984).
2. Akgün Y, Akşit E: Klinik olgulardan izole edilen kandidaların antimikotiklere duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bült* 15: 112 (1981).
3. Aksungur L, Demirörs E: Orta Anadolu'da onychomycosis florası ve bunların yaş ve cinsiyete göre dağılımı, *Ankara Tıp Fak Mecm* 19: 820 (1966).
4. Aktan G: Gebe olan ve olmayan kadınlarda maya infeksiyonlarının araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Tıp Fakültesi (1988).
5. Braude AI, Davis CE, Fierer J: *Medical Microbiology and Infectious Diseases*, WB Saunders Co, Philadelphia-London (1981).
6. Chandler FW, Kaplan W, Ajello L: *A Colour Atlas and Textbook of Histopathology of Mycotic Diseases*, 2. baskı, Wolf Medical Publ Lid, Netherlands (1989).
7. Deacon JW: Introduction to modern mycology, "JF Wilkinson (ed): *Basic Microbiology*, Vol 7" kitabında s.1, Blackwell Scientific Publ, Oxford (1980).
8. Espinel Ingroff A, Kerkering TM, Goldson PR, Shadomy S: Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests, *J Clin Microbiol* 29: 1089 (1991).
9. Galgiani JN: Antifungal susceptibility tests, *Antimicrob Agents Chemother* 31: 1867 (1987).
10. Horowitz BJ: Antifungal therapy in the management of chronic candidiasis, *Am J Obstet Gynecol* 158: 986 (1988).
11. Kasımoğlu Ö, Anđ Ö: Çeşitli *Candida* ve dermatofit suşlarının mikonazole hassasiyetleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 4: 101 (1974).
12. Kasımoğlu Ö, Öke N: *Tinea unguium* vakalarından izole edilen mantarlar, *İst Tıp Fak Mecm* 40: 524 (1977).
13. Kiraz M, Kasımoğlu Ö, Aktan G, Kaya D: *Trichophyton mentagrophytes* suşlarının antifungal maddelere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 8: 10 (1994).
14. Kwon Chung KJ, Bennet JE: *Medical Mycology*, Lea-Febiger, Philadelphia-London (1992).
15. McAleer R: Fungal infections of the nails in Western Australia, *Mycopathologia* 73: 115 (1981).
16. McGinnis MR, Rinaldi WG: Antifungal drugs: Mechanisms of action, drug resistance, susceptibility testing and assays of activity in biological fluids, "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2. baskı" kitabında s.223, Williams and Wilkins, London (1986).

17. Merz WG, Roberts GD: Detection and recovery of fungi from clinical specimens, "WJ Hausler, KL Herrmann, HD Isenberg, HJ Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 5. baskı" kitabında s.588, Am Soc Microbiol, Washington (1991).
18. Moore GS, Jaciow DM: *Mycology for the Clinical Laboratory*, 1. baskı, Reston Publ Co, Reston (1979).
19. Odds FC, Milne LJR, Gentles JC, Ball EH: The activity in-vitro and in-vivo of a new imidazole antifungal, ketoconazole, *J Antimicrob Chemother* 6: 97 (1980).
20. Özalp M, Yuluğ N: Yüzeysel mikozlarda etken olan *Candida* türleri ve bazı imidazol türevlerine duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 4: 645 (1990).
21. Patzchke K, Ritter W, Siefert HM, Weba H, Wegner A: Pharmacokinetic studies following systemic and topical administration of ¹⁴C bifonazole in man, *Arzneim Forsch Drug Res* 33: 745 (1983).
22. Powderly WG, Kobayashi GS, Herzig GP, Medoff G: Amphotericin B resistant yeast infection in severely immunocompromised patients, *Am J Med* 84: 826 (1988).
23. Rippon JW: *Medical Mycology. The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*, 3. baskı, WB Saunders Co, Philadelphia-London (1988).
24. Roberts GD: Laboratory methods in basic mycology, "EJ Baron, M Finegold (eds): *Diagnostic Microbiology*, 8. baskı" kitabında s. 681, The CV Mosby Co, St Louis-Baltimore (1990).
25. Şahin M, Yuluğ N: Ankara ve çevresinde rastlanan yüzeysel mantar bulaşı etkenlerinden dermatofit ve *Candida* türleri, *Mikrobiyol Bült* 11: 35 (1975).
26. Tauber J, Rzedkiewicz M: Bioavailability of isoconazole in the skin, *Mykosen* 22 (6): 201 (1979).
27. Todaro F, Germano D, Griseo G: An outbreak of tinea pedis and tinea cruris in a tyre factory in Messina, Italy, *Mycopathologia* 83: 25 (1983).
28. Tümbay E, Bilgehan H, Kınacıgil R, Tanç O, Güner Y: Onikomikoz olgularında direkt mikroskopi ve kültürel yöntemler ile alınan sonuçların karşılaştırılması ve etken mantarlar, *İzmir Devlet Hast Mecm* 17: 652 (1979).
29. Tütün B, Kiraz M, Kaygusuz A, Kasımoğlu Ö: Diabetes mellitusta ayak tırnağı mantar florası, *Deri Hast Freng Arş* 25: 283 (1991).
30. Warnock DW: Amphotericin B. An Introduction, *J Antimicrob Chemother (Suppl)* 28: 27 (1991).
31. Warren NG, Shadomy HJ: Yeasts of medical importance, "WJ Hausler, KL Herrmann, HD Isenberg, HJ Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 5. baskı" kitabında s.617, Am Soc Microbiol, Washington (1991).