

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA KÖKENLERİNİN İDENTİFİKASYONU VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI***

**Ali K. ADILOĞLU¹, M. Cem ŞİRİN¹, Buket CİCİOĞLU-ARIDOĞAN¹, Rabia CAN²,
Mustafa DEMİRCİ¹**

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 38 maya suşunun tür tanımlaması ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Maya suşları API ID 32 C kiti ile tiplendirilmiş, API ATB Fungus kiti ile flusitozin, amfoterisin B, nistatin, mikonazol, ekonazol ve ketokonazola karşı in vitro antifungal duyarlılıkları saptanmıştır.

Bulgular: Suşların 18'i idrar, 8'i kan, 8'i balgam, 2'si abse, 1'i vajen, 1'i mide içeriği örneklerinden izole edildi. Suşların türlere göre dağılımında *C. albicans* (31, %81.6) ilk sırada yer alırken; bunu *C. glabrata* (5, %13.2), *C. tropicalis* (1, %2.6), *C. parapsilosis* (1, %2.6) izlemiştir. Yapılan incelemede flusitozin, amfoterisin B, nistatin ve mikonazola %2.6 oranında, ekonazola %47 oranında ve ketokonazola %45 oranında direnç saptandı.

Sonuç: *C. albicans* ve *C. glabrata* suşlarının ekonazola ve ketokonazola yüksek oranda dirençli olduğu saptandı. *Candida* kökenlerinin uygun tedavisi için etkenlerin tür tanımlaması ve antifungal duyarlılıklarının saptanmasının gerektiği önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: maya, tiplendirme, in vitro antifungal duyarlılık

Identification and Antifungal Susceptibilities of *Candida* Species Isolated from Various Clinical Specimens

SUMMARY

Objective: The aim of this study was to identify and determine antifungal susceptibility patterns of 38 yeast strains isolated from various clinical specimens.

Materials and Methods: Identification of the strains were determined by API ID 32 C kit and antifungal susceptibilities of these species to flucytosine, amphotericin B, nystatin, miconazole, econazole and ketoconazole were determined by API ATB Fungus kit.

Results: Of the 38 strains, 18 were isolated from urine, 8 from blood, 8 from sputum, 2 from abscess 1 from vagina and 1 from gastric contents. *Candida albicans* (31, 81.3%) was the most frequently isolated species, followed by *C. glabrata* (5, 13.2%), *C. tropicalis* (1, 2.6%), and *C. parapsilosis* (1, 2.6%). The antifungal resistance ratios of the strains were as follows; flucytosine 2.6%, amphotericin B 2.6%, nystatine 2.6%, miconazole 2.6%, econazole 47% and ketokonazole 45%.

Conclusion: High rates of resistance against econazole and ketokonazole were detected in *C. albicans* and *C. glabrata* species. It is suggested that for proper treatment of *Candida* species infections, identification and determinations of antifungal susceptibility pattern are mandatory.

Species definition and determination of antifungal susceptibility pattern are advised for the proper treatment of *Candida* infections.

Key Words: yeast, typing, in vitro antifungal susceptibility.

Mantar infeksiyonlarının sıklığı son yıllarda kanser, AIDS, organ transplantasyonu, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli nedenlere bağlı immün yetmezlikli hasta sayısının artması, invaziv girişimlerin yaygınlaşması ve klinik mikrobiyolojideki gelişmelere paralel olarak artış göstermektedir. Günümüzde *Candida* türlerinin klinik örneklerden sıklıkla izole edilen en önemli fırsatçı patojenlerden birisi olduğu bilinmektedir ve bu türler içinde *C. albicans* en sık izole edilen tür olarak bildirilmektedir.¹⁻⁴

Son yıllarda mantar hastalıklarının sıklığının giderek artması ve ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşması, dirençli mantar suşlarının ortaya

çıkmasına ve direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle uygun ve etkin antifungal tedavinin seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine gereksinim artmaktadır.^{5,6}

Bu çalışmada; klinik örneklerden izole edilen maya mantarlarının tiplendirilmesi ve antifungal ajanlara karşı in vitro duyarlılık paternlerinin araştırılarak ampirik tedavi planlamasına ışık tutulması ve enfeksiyon etkeni olan mantarlar arasında dirençli türlerin görülme sıklığının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Çalışmamız bir ön bildiri olup *Candida* türlerinin tür tanımlaması ve antifungal duyarlılık testleri devam etmektedir.

¹Bu çalışma, XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde (30 Eylül-5 Ekim 2002, Antalya) poster olarak sunulmuştur. Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

²Poster sunumunda, *C. dubliniensis*, *Sporobolomyces salmonicolor* olarak bildirilen suşlar sonraki tetkiklerde *C. albicans* olarak yeniden tiplendirilmiştir.

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde Kasım 2001-Haziran 2002 tarihleri arasında 36 hastadan elde edilen 38 klinik izolat maya mantarı açısından incelendi. Klinik örnekler Sabouraud Dekstroz Agar besiyerine ekildi. 25 °C'de ve 37 °C'de üç gün süreyle inkübe edildi ve her gün üreme olup olmadığı incelendi. Besiyerlerinde inkübasyon sonrası hamur kıvamında 0,5-1,0 mm çapında ve kendine özgü maya kokusu bulunan koloniler direkt mikroskopik ve Gram boyası ile incelendi. Mikroskopik olarak maya morfolojisi sergileyen ve besiyeri yüzeyinde en az 10 maya kolonisi olan örnekler değerlendirilmeye alındı.⁷⁻⁹

Dalmau plak tekniğiyle, saf kültür halinde elde edilen mantar kolonilerinden iğne uçlu öze ile mısırunlu Tween 80 agar yüzeyine çizgi ekimler yapıldı. Ekim çizgileri üzerine steril lamel kapatılarak plaklar 26° C'de üç gün tutuldu. Ardından besiyerinin yüzeyindeki ekim çizgilerinden alınan koloniler hif, yalancı hif, blastospor, klamidiospor yönünden incelendi. Pseudohif, blastospor ve çok sayıda klamidiospor bulunan ve tavşan serumunda 37 °C'de 2 saat inkübe edildiğinde çimlenme borusu (germ tüp) oluşturan maya mantarları *C. albicans* olarak kabul edildi.⁷⁻¹⁰

Bu konvansiyonel yöntemlerin yanısıra izolatlar API ID 32 C (BioMerieux, France) yöntemiyle de tiplendirildi. ID 32 C kiti, her biri farklı dehidrate karbonhidrat substratı içeren 32 kuyucuktan oluşan striplerde mayaların karbonhidrat kullanma özelliklerini saptayan bir maya identifikasyon sistemidir. API ATB Fungus (BioMerieux, Fransa) ile suşların flusitozin, amfoterisin B, nistatin, mikonazol, ekonazol ve ketokonazol duyarlılığı üretici firmanın önerileri doğrultusunda araştırıldı. Flusitozinin 10 (0,25-128 mg/L), amfoterisinin B'nin 4 (1-8 mg/L), nistatinin 2 (4-8 mg/L), mikonazol, ekonazol ve ketonazolün 1 ve 8 mg/L'lik iki farklı konsantrasyonunu içeren hazır kuyucuklara üretici firmanın tarif ettiği şekilde hazırlanan maya süspansiyonundan 135 µL konuldu. Sonuçlar 30°C'de 24-48 saatlik inkübasyon sonrası bulanıklığın olup olmamasına göre değerlendirildi.^{3, 9} Çalışmada kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 90028 suşu kullanıldı.

BULGULAR

Suşların 18'i (% 47.4) idrar, 8'i (% 21.1) kan, 8'i (% 21.1) balgam, 2'si (% 5.2) abse, 1'i (% 2.6) vajen ve 1'i (% 2.6) mide içeriği örneklerinden izole edildi. API ID 32 C kiti ile tiplendirilen suşların türlere göre dağılımında *C. albicans*'ın (31, %81.6) ilk sırada yer aldığı gözlenmiştir; bunu *C. glabrata* (5, % 13.2), *C. tropicalis* (1, %2.6), *C. parapsilosis* (1, %2.6) izlemiştir. API ID 32 C kiti ile *C. albicans* olarak iplendirilen 31 suşun 29'unun (%93.5) serumda germ tüp, 28'inin (%90.3) mısırunlu Tween 80 agarda klamidiospor oluşturduğu gözlenmiştir. ATB Fungus kitiyle yapılan incelemede flusitozin, amfoterisin B, nistatin ve mikonazol %2.6 oranında (1 suş) , ekonazol %47.4 (18 suş) oranında ve ketokonazol %44.7 (17 suş) oranında direnç saptanmıştır. Suşların türlere göre antifungal duyarlılık sonuçları Tablo 1' de özetlenmiştir.

TARTIŞMA

Son yıllarda maya türlerinden özellikle *Candida*'ya bağlı infeksiyonlardaki artış ve türlerin antifungal ajanlara karşı farklı duyarlılıkları tedavi planlaması aşamasında in vitro duyarlılık testinin çok önemli bir yeri olduğunu göstermektedir. Bundan dolayı maya mantarlarının duyarlılığının saptanmasında hızlı ve güvenilir testlere artan bir gereksinim duyulmaktadır.^{5,11} Ancak antifungallere duyarlılık testlerinde laboratuvarlar arası farklılık göstermeyen standart bir yöntemin oluşum süreci devam etmektedir. Bütün teknikler pH, inokulum miktarı, sıvı ve katı besiyeri özelliği, inkübasyon ısısı ve zamanı gibi faktörlere bağlı olarak çok farklı sonuçlar vermektedir. Antifungal duyarlılık testi için önerilen referans yöntem olan sıvı makrodilüsyon yönteminin zaman alıcı ve uygulama güçlüğünden dolayı mikrobuyyon dilüsyon da standart yöntem olarak kabul edilmiştir.⁵ Ancak her iki yöntemin de rutin incelemelerde kullanım zorluğu bulunmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız API ATB Fungus otomatize antifungal direnç saptayan kit bu zorlukları ortadan kaldırırsa da sonuçların güvenilirliğinin tartışıldığı yayınlar olmakla birlikte NCCLS tarafından referans metod olarak kabul edilen M27-A metoduna farklı oranlarda (%75-%91) uygunluğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.^{3,5,6,12-14}

Çalışmamızda en sık saptanan tür *C. albicans*'tır

Tablo 1. ATB Fungus kiti ile suşların antifungal duyarlılığı

Suşlar	Flusitozin			Amfoterisin B			Nistatin			Mikonazol			Ekonazol			Ketokonazol		
	Du	AD	Di	Du	AD	Di	Du	AD	Di	Du	AD	Di	Du	AD	Di	Du	AD	Di
<i>C. albicans</i> (31)	31	-	-	31	-	-	30	1	-	26	5	-	16	2	13	19	-	12
<i>C. glabrata</i> (5)	4	-	1	4	-	1	4	-	1	4	-	1	-	-	5	-	-	5
<i>C. tropicalis</i> (1)	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (1)	1	-	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-

Du: Duyarlı AD: Az duyarlı Di: Dirençli

YAZIŞMA ADRESİ

*Yrd. Doç. Dr., Ali Kudret ADİLOĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
32100, ISPARTA*

*Tel : 0 246 211 3318
Faks : 0 246 237 1165
E-Posta : adiloglu@sdu.edu.tr;
aadiloglu@yahoo.com*

*Geliş Tarihi : 24.12.2003
Kabul Tarihi : 29.04.2004*