

Yoğun Bakım Ünitesi'nden Gelen Hasta Örneklerinden İzole Edilen Kandida Türleri ve Antifungal Duyarlılıkları

The Isolation of Candida Species from the Samples That Come From the Patients at Intensive Care Unit and Antifungal Susceptibility

Hicran İzci Yıldız¹, Mustafa Berktaş², Görkem Yaman³, Hüseyin Güdücüoğlu², Aytekin Çıkman^{4*}

¹Halk Sağlığı, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Diyarbakır

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

³Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Erzincan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzincan

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi'nde gönderilen hastaların örneklerinden mayaların tanımlanması ve antifungal duyarlılığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Maya mantarları; germ tüp testi, mısıru tween 80 agar ve BBL CHROMagar besiyerleri ile API 20C AUX maya identifikasyon yöntemi kullanılarak tiplendirildi. Amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve itraconazole karşı antifungal duyarlılıkların saptanmasında ise ATB FUNGUS 2 INT agar mikrodilüsyon sistemi kullanıldı.

Bulgular: Mayaların %56.4'ü *C. albicans* olarak saptanırken, %12'si *C.parapsilosis*, %10.6'sı *C.tropicalis*, %9.3'ü *C.glabrata*, %5.3'ü *Trichosporon spp.*, %4'ü *C.famata*, %1.4'ü *C.utilis*, %1.4'ü *C.kefry* ve %1.4'ü *Rhodotorula glutinis* bulundu. Antifungal duyarlılık testlerine göre; flukanazole %14.6 ve itraconazole %26.6 oranında direnç saptanırken, Amfoterisin B ve Flusitazine ise direnç saptanmadı.

Sonuç: Yapılan çalışma sonucunda, hastanemiz yoğun bakım hastalarında *C. albicans*'ın en yaygın maya türü olduğu saptanmıştır. Genel olarak direnç gelişim oranındaki düşüklüğe karşın, ampirik tedavide sık kullanılan flukonazol ve itraconazol direncindeki artış, antifungal duyarlılık testlerinin önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yoğun bakım ünitesi, kandida türleri, antifungal duyarlılık

ABSTRACT

Objective: In this study; we aimed to determine the identification and the antifungal susceptibility testing of yeasts from the samples of the patients that were sent from Anesthesia Intensive Care Unit of Yuzuncu Yil University Education and Research Hospital.

Materials and Methods: The yeasts were identified by using germ tube test, cornmeal tween 80 media, BBL CHROMagar media and API 20C AUX yeast identification system. The antifungal susceptibility tests were performed for amphotericin B, flucytosine, fluconazole and itraconazole by using ATB FUNGUS 2 INT agar microdilution system.

Results: 54.6% of the yeasts were identified as *C.albicans* which was the most common yeast followed by; *C.parapsilosis* (12%), *C.tropicalis* (10.6%), *C.glabrata* (9.3%), *Trichosporon spp.*(5.3%), *C.famata* (4%), *C.utilis* (1.4%), *C.kefry* (1.4%) and *Rhodotorula glutinis* (1.4%). According to the results of antifungal susceptibility tests, the resistance rate for fluconazole and itraconazole were 14.6% and 26.6% respectively. However no resistance was detected against amphotericin B and flucytosine.

Conclusion: The results of this study show that *C.albicans* is the most common yeast isolated from the patients at intensive care unit in our hospital. Increase in the resistance of fluconazole and itraconazole which are frequently used for empirical treatment demonstrates the importance of antifungal susceptibility tests.

Key Words: Intensive Care unit, *Candida* species, antifungal susceptibility

Bu makale 14. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Poster no.15-04 (25-29 Mart 2009, Antalya)

*Sorumlu Yazar: Dr. Aytekin Çıkman, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 65100 VAN, Tel: 0 (432) 216 47 11, GSM: 0 (505) 691 82 00, E-mail: draytekin65@hotmail.com

Geliş Tarihi: 03.08.2011, Kabul Tarihi: 24.12.2015

Giriş

Son yıllarda tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere paralel olarak mantar infeksiyonlarının insidansında artış gözlenmektedir (1,2). Bu infeksiyonların neredeyse tamamı hastane infeksiyonu şeklindedir (3). En yüksek hastane infeksiyonu oranları yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) görülmektedir (4). YBÜ'lerinde bulunan hastalar; hastane infeksiyonlarının daha sık görülmesi, invaziv cihaz ve girişimlere daha fazla maruz kalınması, yüksek oranlarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması ve uzun süre yatış nedeniyle diğer bölümlerde yatan hastalara göre mantar infeksiyonları yönünden daha fazla risk taşımaktadır (4-7).

İnsanları etkileyen en yaygın fungal patojenler olan kandida türleri insan deri ve mukozasının flora elemanlarıdır. Normal bireylerin %30-50'sinin ağızında ve gastrointestinal kanalında bulunurlar. Bunlar içerisinde en sık karşılaşılan patojen tür *C.albicans*'tır (7).

Mantar infeksiyonunun sıklığının ve buna bağlı mortalite ve morbidite oranlarının yükselmesi, 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 (8). Her merkezin kendi hastanesinde yatmakta olan hastalardan soyutladığı suşlar için periyodik olarak duyarlılık paternlerini ve direnç oranlarını saptaması önerilmektedir (9).

Bu çalışmada, Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden laboratuvara gelen hasta örneklerinden üretilen maya mantarlarının tür tayininin saptanması ve flusitozin, amfoterisin B, flukonazol ve itraconazol gibi antifungal ajanlara karşı duyarlılıklarının değerlendirilmesi

planlanmış, elde edilen direnç profiline göre ampirik tedaviye yön verilebilmesi ve tedavide hekimlere daha rasyonel bir yaklaşım sunulabilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Ocak 2007- Aralık 2007 tarihleri arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden laboratuvarımıza gelen hasta örneklerinden izole edilen maya mantarları incelemeye alındı. Maya üremesi saptanan hasta örneklerinden Sabouraud Dextros Agar'a pasaj yapıldıktan sonra petri 37°C'de 24-48 saat inkübe edilerek saf kültür elde edildi. İzole edilen maya türlerinin tanımlanması amacıyla koloni görünümü ve yapısı, germ tüp testi, mısır unu tween 80 agardaki morfolojik görünümü ve BBL CHROMagar'daki (Becton Dickinson, USA) görünümü değerlendirildi. Daha sonra hızlı identifikasyonu sağlayan API 20C AUX ticari sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanıldı. Maya mantarlarının antifungal duyarlılıkları amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve itraconazol için ATB FUNGUS 2 INT agar mikrodilüsyon sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanılarak yapıldı. Çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları Etik Kurulu onayı alınarak (2007/02) yürütülmüştür.

Bulgular

İzole edilen toplam 75 maya suşunun 51'i idrar, 15'i trakeal, 5'i kateter, ve 4'ü kan olan örneklerden elde edildi. Klinik örneklerden izole edilen maya suşları arasında en sık saptanan tür *C.albicans* oldu. Non-*albicans* türler içerisinde en sık *C.parapsilosis* izole edildi. Kandida türlerinin klinik örneklere göre dağılımları Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Kandida türlerinin örneklere göre dağılımı.

Kandida türü	İdrar	Trakea	Kan	Kateter	Toplam	
					n	%
<i>C.albicans</i>	28	6	3	4	41	54.6
<i>C.parapsilosis</i>	6	3	-	-	9	12.0
<i>C.tropicalis</i>	4	3	1	-	8	10.6
<i>C.glabrata</i>	7	-	-	-	7	9.3
<i>Trichosporon spp.</i>	3	1	-	-	4	5.3
<i>C.famata</i>	1	1	-	1	3	4.0
<i>C.utilis</i>	1	-	-	-	1	1.4
<i>C.kefyr</i>	-	1	-	-	1	1.4
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1	-	-	-	1	1.4
Toplam	51	15	4	5	75	100

Tablo 2. İzole edilen bazı *Candida* türlerinin antifungal direnç oranları (%).

	<i>C.albicans</i> n=41 (%)	<i>C.parapsilosis</i> n=9 (%)	<i>C.tropicalis</i> n=8 (%)	<i>Trichosporon spp</i> n=4 (%)	<i>C.famata</i> n=3 (%)
Amfoterisin B	-	-	-	-	-
Flusitozin	-	-	-	-	-
Flukonazol	3 (7)	2 (22)	4 (50)	-	2 (67)
İtrakonazol	8 (20)	2 (22)	6 (75)	2 (50)	-

n: İzole edilen toplam suş sayısı

Çalışmada yer alan izolatların amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve itrakonazole karşı saptanan direnç oranları Tablo 2’de verilmiştir. Tüm izolatların antifungal duyarlılığı incelendiğinde ise amfoterisin B ve flusitozine karşı direnç görülmezken flukonazole %15, itrakonazole ise %27 oranında direnç saptandı. *C. glabrata* ve *C.kefyr* suşları çalışılan tüm antifungallere duyarlı bulunurken, *C.utilis* ve *Rhodotorula glutinis* suşları itrakonazole dirençli olarak tespit edildi.

Tartışma

Mantar infeksiyonları YBÜ’de görülen infeksiyonlar içerisinde önemli bir yer oluşturmakla birlikte, görülme sıklığı giderek artmaktadır (10). Son yıllarda kandida türlerinin neden oldukları infeksiyonların giderek arttığı tespit edilmiş ve bu infeksiyonlara neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlanmıştır. Endojen kaynaklı olması nedeni ile hala nozokomiyal fungal infeksiyonlarda ilk sırayı *C.albicans* almakla birlikte antifungal tedaviye daha zor yanıt verdiği bilinen *C.tropicalis*, *C.lusitaniae*, *C.crusei*, *C.parapsilosis*, *C.glabrata* gibi non-*albicans* türlerle karşılaşma oranı hızla artmaktadır (3,11,12).

Ulutürk ve ark. (13) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri kandida suşlarıyla yaptıkları çalışmada tür dağılımını; %61 *C.albicans*, %39’u non-*albicans* olarak tanımlanmıştır. Non-*albicans* mayalardan *C.tropicalis* ilk sırada yer alırken, bunu sırasıyla *C.glabrata* ve *C.parapsilosis* izlemiştir. Gültekin ve ark. (14) ise kan kültürlerinde candida türlerini sırasıyla; %49 *C.albicans*, %23 *C.parapsilosis*, %14 *C.tropicalis*, %12 *C.glabrata* olarak belirlenmiştir.

Çok merkezli yapılan yurt dışı kaynaklı çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. ARTEMIS Global Antifungal Sürveyans çalışmasında, 1997 ve 2003 tarihleri arasında *C.albicans* en sık karşılaşılan kandida türü olarak belirlenmiştir (%66.2). *C.albicans*’dan sonra en sık görülen türler *C.glabrata* (%10.2), *C.tropicalis* (%6.3)

ve *C.parapsilosis* (%5.6) olmuştur (15). Basetti ve ark. (16) çalışmalarında candida türlerinin yaklaşık yarısı *C.albicans* olarak belirlenmiştir. Non-*albicans* türler ise sırasıyla; *C.parapsilosis* (%28.4), *C.glabrata* (%9.5) ve *C.tropicalis* (%6.6) bulunmuştur.

Yerli ve yabancı literatüre bakıldığında, çoğunluğunu idrar, kan ve solunum örneklerinin oluşturduğu kültürlerden izole edilen kandida türleri içinde *C.albicans*’ın en yüksek oranda saptanan tür olduğu dikkati çekmektedir. Non-*albicans* türlerin sıklık sıralaması ise çalışmanın yapıldığı yıla ve coğrafik lokalizasyonuna göre değişiklik göstermekle beraber ikinci sıklıkta saptanan türler *C.parapsilosis*, *C.glabrata* ve *C.tropicalis* arasında değişiklik göstermektedir (10,12,17-19).

Fungal patojenlerin giderek artan problem oluşturmaları ve dirençli suşların görülmeye başlanması invitro duyarlılık testlerine ilginin ve gereksinimin artmasına neden olmuştur. Adiloğlu ve ark. (17) API ATB FUNGUS sistemi ile yaptıkları bir çalışmada flusitozin direncini %2.6 oranında bulurken, Ulutürk ve ark. (13) *C.albicans* için flusitozin direncini %2.4 tespit etmiştir. Almanya’da yapılan bir çalışmada flusitozin’e %4.5 oranında direnç görülürken, İtalya’daki bir çalışmada bu oran %4.2 olarak bulunmuştur (19,20). Flusitozinin etki spektrumunun dar olması, hepatotoksisite ve kemik iliği depresyonu gibi yan etkilerinden dolayı kullanımının kısıtlanması gibi sebeplerle direnç oranının düşük kalabileceği düşünülmektedir.

C.albicans suşlarında Amfoterisin B’ye karşı direnç gelişimi oldukça düşük olarak bildirilmektedir (2,17,21). Düşük direnç profiline sahip olan Amfoterisin B; geniş spektrumlu bir antifungaldir. Buna karşın infüzyona bağlı reaksiyonlar ve nefrotoksisite gibi ciddi yan etkileri bulunmaktadır (22).

Kuzucu ve ark. (23) YBÜ’nde izole ettikleri kandida suşlarında flukonazol direncini %14 olarak bulmuşlardır. Başka bir çalışmada çocuk hastalardan izole edilen kandida türlerinde flukonazol direnci %23 bulunmuştur (21). İzole

ettiğimiz mayaların %14.6'sında flukonazol direncine rastlandı. *C.albicans*'da %7.3'lük direnç oranına karşın, non-*albicans* türlerde bu oran %23.5 olarak bulundu. Bir tane maya izolatu ise orta duyarlı saptandı. Tespit ettiğimiz direnç oranları bazı literatürlerle uyumlu bulundu (23,24). Flukonazol gibi azol grubu ilaçların profilaktik tedavide sık kullanılmaları, bunların diğer antifungal ajanlara göre daha yüksek oranda direnç geliştirmelerinin nedeni olabileceğini düşündürmüştür.

Kuzucu ve ark. (23) tarafından yapılan bir çalışmada tüm kandida izolatlarında %31 oranında itrakonazol direncine rastlanmıştır. 2006 yılında yapılan bir çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C.albicans* ve non-*albicans* türlerine karşı itrakonazol direnci sırasıyla %24.7 ve %20.4 bulunmuştur (25). Basetti ve ark. (16) çalışmalarında itrakonazol direncini *C.albicans* ve *Candida spp* için sırasıyla; %11.9 ve %31 olarak belirlemişlerdir. Maya izolatlarında itrakonazol direncini %26.6 olarak bulduğumuz çalışmada *C.albicans* ve non-*albicans* türlerinde direnç oranları sırasıyla, %19.5 ve %35.2 olarak saptandı. İtrakonazolün direnç oranındaki bu yüksekliğin son zamanlarda profilaktik kullanımının artmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Kandida infeksiyonlarında kullanılan antifungallere karşı direnç oranları; etkenin türüne, antifungal ilaçların kullanım sıklığına ve bölgesel coğrafik farklılıkları gibi sebeplere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Direnç oranlarının bilinmesi infeksiyonda ilk tercih edilecek antifungal ilaç seçimini de kolaylaştıracaktır. Antifungal duyarlılık testi için kullandığımız ATB FUNGUS 2 INT agar mikrodilüsyon sistemi ise referans metodlarla benzer bir sistem olup, rutin kullanım için uygun ve kolaydır.

Sonuç olarak, hastanemiz yoğun bakım hastalarında en sık mantar etkeni olarak *C.albicans* (%55) saptanmıştır. Genel olarak direnç gelişim oranındaki düşüklüğe karşın ampirik tedavide sık kullanılan flukonazol ve itrakonazol direncindeki artış, antifungal duyarlılık testlerinin önemini ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

- Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. Clin Infect Dis 2009; 48(12): 1695-703.
- Ruhnke M, Rickerts V, Cornely OA, Buchheidt D, Glöckner A, Heinz W, et al. Diagnosis and therapy of Candida infections: joint recommendations of the German Speaking Mycological Society and the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy. Mycoses 2011; 54(4): 279-310.
- Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin Microbiol Rev 1996; 9(4): 499-511.
- Weinstein RA. Nosocomial infection update. Emerg Infect Dis 1998; 4(3): 416-420.
- Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. Infect Dis Clin North Am 1997; 11(2): 479-496.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Woods GL, et al. Mycology, In: Koneman EW, Editor. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA: Williams and Wilkins Publishers, 2006: 1151-1144.
- Tümbay E. Candida türleri. In: S Ustaçelebi Editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 1081-1086.
- Espinel-Ingroff A, White T, Pfaller MA. Antifungal Agents and Susceptibility Test Methods. In: Murray PR, Baron EJO, Tenover FC, Tenover RH, editors. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press, 2003: 1859-1880.
- Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG. Antifungal susceptibility testing: Technical advances and potential clinical applications. Clin Infect Dis 1997; 24(5): 776-784.
- Kocazeybek B, Ordu A, Ayyıldız A, Aslan M, Bayındır O, Sönmez B. Yoğun bakım Ünitesindeki Hastalardan izole edilen mayalar. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2000; 30(1): 38-40.
- Doğruman Al F, Aktaş AE, Tuncel E, Ayyıldız A, Uslu H, Aktaş O. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Mikrobiyoloji laboratuvarında klinik örneklerden izole edilen maya türleri. İnfeksiyon Derg 2002; 16(2): 205-210.
- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA. International surveillance of bloodstream infections due to Candida species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. The SENTRY Participant Group. J Clin Microbiol 1998; 36(7): 1886-1889.
- Ulutürk R, İnci A, Fincancı M, Tanış M. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları, 14. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Poster no: 15-02, 2009.
- Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole

- edilen *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. ANKEM Derg 2010; 24(4): 202-208.
15. Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6,5 year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2005; 43(12): 5848-5859.
 16. Bassetti M, Taramasso L, Nicco E, Molinari MP, Mussap M, Viscoli C. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and outcome of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in Italy. *PLoS One* 2011; 6(9): 24198.
 17. Adiloglu AK, Şirin MC, Cicioğlu- Arıdoğan B, Can R, Demirci M. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. *ADÜ Tıp Fak Derg* 2004; 5(3): 33-36.
 18. Zer Y, Balcı İ, Meriç G. İdentification and antifungal susceptibility of *Candida* isolated from intensive care unit patients. *New Mikrobiol* 2002; 25(4): 489-494.
 19. Bedini A, Venturelli C, Mussini C, Guaraldi G, Codeluppi M, Borghi V, et al. Epidemiology of candidaemia and antifungal susceptibility patterns in an Italian tertiary-care hospital. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(1): 75-80.
 20. Borg-von Zepelin M, Kunz L, Rüchel R, Reichard U, Weig M, Gross U. Epidemiology and antifungal susceptibilities of *Candida* spp. to six antifungal agents: results from a surveillance study on fungaemia in Germany from 2004 to August 2005. *Antimicrob Chemother* 2007; 60(2): 424-428.
 21. Özkan S, Kaynak F, Abbasoğlu U, Gür D. Çocuk Hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin çeşitli antifungallere duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004; 34(4): 253-256.
 22. Odabaşı Z. Antifungal profilaksi, ANKEM Derg 2007; 21(Ek 2): 216-219.
 23. Kuzucu Ç, Yetkin G, Çalışkan A. Bir yıl içerisinde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *Erciyes Tıp Derg* 2007; 29(2): 115-119.
 24. 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 SCOPE Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 31(1): 327-332.
 25. Skrodeniene E, Dambrauskiene A, Vitkauskiene A. Susceptibility of yeasts to antifungal agents in Kaunas University of Medicine Hospital. *Medicina (Kaunas)* 2006; 42(4): 294-299.