

İdrar Kültürlerinden Soyutlanan Candida Türlerinin Flukonazol ve Amfoterisin B'ye Duyarlılıkları

SUSCEPTIBILITY OF CANDIDA STRAINS ISOLATED FROM URINE CULTURES TO FLUCONAZOLE AND AMPHOTERICIN B

Mine YÜCESOY, Meral KARAMAN, Nuran YULUĞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Araştırma, kandiduri tablolarının sağaltımına yön verebilmek amacıyla gerçekleştirildi.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya idrar kültürlerinden soyutlanmış 77 candida suşu alındı ve suşlar çimlenme borusu testi, mısır-unu tween 80 agardaki görünümü ile Vitek identifikasyon sistemi kullanılarak tanımlandı. Suşların flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlılıkları ise NCCLS M27-A standartlarına uygun olarak mikrodilüsyon yöntemi ile çalışıldı.

Bulgular: Suşların 60'sı *C. albicans*, 13'ü *C. tropicalis*, 2'si *C. parapsilosis*, 1'i *C. kefyr*, 1'i de *C. rugosa* olarak saptandı. *C. albicans* izolatlarının flukonazol için belirlenen MIC_{50} ve MIC_{90} değerleri sırasıyla 0.50 ve 4 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunurken; *C. tropicalis* izolatları için bu değerler 1 ve 2 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlendi. *C. albicans* ve *C. tropicalis* suşlarının amfoterisin B için saptanan MIC_{50} ve MIC_{90} değerleri sırasıyla 0.06 ve 0.25 $\mu\text{g/ml}$ ile 0.25 ve 0.50 $\mu\text{g/ml}$ idi. Suşların tümünün NCCLS kriterlerine göre, çalışılan antifungal ajanlara duyarlı olduğu görüldü.

Sonuç: Bulgularımız doğrultusunda, sağaltım gerektiren kandiduri tablolarında flukonazol ve amfoterisin B'nin kullanılabilceği ve bu ajanlara henüz bir direnç gelişiminin söz konusu olmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Kandiduri, flukonazol, amfoterisin B, in vitro duyarlılık

SUMMARY

Objective: This study was designed to guide the treatment of candiduria cases which need therapy.

Material and Methods: Seventy seven Candida strains isolated from urine cultures were included in this study. The strains were identified by germ tube test, morphology on cornmeal tween 80 agar and Vitek identification system. Fluconazole and amphotericin B susceptibilities were determined by microdilution method according to NCCLS M27-A standards.

Results: Sixty of the strains were determined to be *C. albicans*, 13 to be *C. tropicalis*, 2 *C. parapsilosis*, one *C. kefyr* and one *C. rugosa*. Among *C. albicans* strains, MIC_{50} and MIC_{90} values obtained for fluconazole were 0.50 and 4 $\mu\text{g/ml}$, respectively whereas those for *C. tropicalis* were 1 and 2 $\mu\text{g/ml}$. MIC_{50} and MIC_{90} of amphotericin B were 0.06 and 0.25 $\mu\text{g/ml}$ against *C. albicans* and 0.25 and 0.50 $\mu\text{g/ml}$ against *C. tropicalis* strains, respectively. All strains were found to be susceptible to the tested antifungal agents according to the NCCLS standards.

Conclusion: It is concluded that fluconazole and amphotericin B can be used for the treatment of candiduria cases when since indicated antifungal resistance hasn't been detected against these agents, yet.

Key words: Candiduria, fluconazole, amphotericin B, in vitro susceptibility

Mine YÜCESOY
Dokuz Eylül Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mik.
Anabilim Dalı
Tel: 232 2595959 - 4501

Kandidüri, özellikle yatan hastalarda daha sık görülebilen ve klinisyenler açısından tanı ve sağaltım yönünden önemli sorunlara yol açan bir klinik tablo olup, basit bir kontaminasyondan yaşamı tehdit eden yaygın kandidoza kadar geniş bir spektrumdaki tanı olasılıklarını yansıtabilmektedir (1). Kandidürlü hastaların küçük bir bölümü hematojen yolla kazanılan ve böbreği de içine alan sistemik infeksiyonlara sahiptir. Kandidürün varlığı, invaziv renal parankimal hastalık, üriner kateterizasyon ile ilişkili alt üriner sistemin kandidal kolonizasyonu, tıkalı ureterde fungus topu gibi vücuttaki çeşitli patolojik tabloları gösterebilmektedir. Bunun yanında bazen de hastalık kendini asemptomatik kandidüri şeklinde ortaya koyabilmektedir (2).

Semptomatik kandidal üriner sistem infeksiyonlarının antifungal sağaltım gerektirdiği bilinmiştir. Buna karşılık asemptomatik kandidürün sağaltılıp sağaltılmaması konusunda zıt görüşler mevcuttur. Bu karışıklığın nedenlerinden biri, sağaltılmayan kandidürün doğal gidişi ve morbiditesi ile ilgili yapılan çalışmaların eksikliği, bir diğeri ise kandidürün eradikasyonunda antimikotik ajanların etkinliğinin bilinmemesidir (2).

Çalışmamızda, klinik ve laboratuvar bulguları değerlendirilerek sağaltım gerektiğine karar verilen tablolara antifungal seçiminde yardımcı olmak amacıyla idrar kültürlerinden soyutlanan çeşitli Candida türlerinin antifungal ajanlara duyarlılıkları araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Candida izolatları: Çalışmamıza Haziran 1999 ile Aralık 2000 tarihleri arasında yoğun bakım hastalarının idrar kültürü örneklerinden soyutlanmış (koloni sayımı 10^3 - 10^8 koloni oluşturan unite/ml) 77 Candida suşu alındı. Suşlar, çimlenme borusu testi, misir-una tween

80 aşadaki görünümü ve Vitek identifikasyon sistemi kullanılarak tanımlandı.

Duyarlılık testleri: Suşların amfoterisin B (Bristol-Myers Squibb) ve flukonazole (Pfizer) duyarlılıkları, 0.165 M morfolin-propan sulfonik asit (MOPS) ile tamponlanmış fenol kırmızısı, L-glutamini ve sodyum bikarbonatsız RPMI 1640 besiyeri kullanılarak "National Committee for Clinical Laboratory Standards" (NCCLS) M27-A kriterlerine uyularak mikrodilüsyon yöntemi ile incelendi (3). Kullanılan amfoterisin B ve flukonazol konsantrasyon aralığı sırasıyla 0.03-32 $\mu\text{g/ml}$ ve 0.06-64 $\mu\text{g/ml}$ şeklinde idi. Sonuçlar 48 saat sonra değerlendirildi.

Sonuçların değerlendirilmesi: MİK değeri olarak, amfoterisin B için üremenin tam inhibe olduğu (iç bulanıklığın olmadığı) en düşük konsantrasyon, flukonazol için +2 değeri (gözle okumada bulanıklığın belirgin olarak azaldığı çukur) kabul edildi. Ayrıca plaklar daha sonra 5 dakika çalkalanarak enzim immün assay okuyucusunda (Sorin Biomedical ET1 System Fast Reader) 492 nm dalga boyunda okutuldu. Amfoterisin B için belirlenen MİK değeri $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ olanlar duyarlı, $>1 \mu\text{g/ml}$ olanlar ise dirençli, flukonazol için MİK değeri $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ olanlar duyarlı, 16-32 $\mu\text{g/ml}$ olanlar doza bağımlı duyarlı, $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ olanlar ise dirençli olarak kabul edildi (3).

BULGULAR

Identifikasyon sonucunda; suşların 60'ı (%77.9) *C. albicans*, 13'ü (%16.9) *C. tropicalis*, 2'si *C. parapsilosis*, 1'i *C. kefyr* ve 1'i de *C. rugosa* olarak belirlendi.

Yetmiş yedi Candida suşunun tümü NCCLS kriterlerine göre amfoterisin B ve flukonazole duyarlı bulundu. Suşların çalışılan antifungal ajanlara karşı saptanan MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Suşların amfoterisin B ve flukonazole sem elde edilen MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri

	Flukonazol ($\mu\text{g/ml}$)			Amfoterisin B ($\mu\text{g/ml}$)		
	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀
<i>C. albicans</i>	0.06-8	0.50	4	0.03-0.50	0.06	0.25
<i>C. tropicalis</i>	0.25-4	1	2	0.125-0.50	0.25	0.50
<i>C. parapsilosis</i>	0.25-2			0.125		
<i>C. kefyr</i>	2			0.06		
<i>C. rugosa</i>	0.125			0.03		

TARTIŞMA

Candida türleri ile oluşan ciddi infeksiyonların insidansı hızla artmakta birlikte, çeşitli sağaltım protokolleri ile yapılan geniş kontrollü çalışmaların yetersizliğinden dolayı bu infeksiyonlar için en uygun yaklaşım ve sağaltım stratejileri kesin olarak bilinmemektedir (4). Kandidüri, Candida infeksiyonları arasında sağaltılıp sağaltılmaması konusunda en çok tartışılan infeksiyonlardan biridir (2). Bu hastalığın seyri çeşitli yayınlarda bildirildiği üzere diabetes mellitus, antibiyotik kullanımı, üriner kateterizasyon, radyasyon sağaltımı, immün sistem defektleri ve yoğun bakım ünitesinde yatış gibi risk faktörlerinin olup olmamasına bağlı olarak değişmektedir (4-6). Harris ve ark. (7), diabet, dişi cinsiyet ve antibakteriyel ajan kullanımının hem *C. albicans* hem de *C. glabrata* kandidürisi için önemli risk faktörleri olduğunu bildirmiştir. Risk faktörlerinin varlığına bağlı olarak kandidürünün spontan olarak düzelebildiği belirtilmiştir. Kateterli ve sağaltım almamış olgularda ise hastaların ancak %20'sinde iyileşme gözlemlendiği bildirilmektedir (2).

Hastane kökenli fungal infeksiyonlar, yoğun bakım ünitesine kabul edilen hastalarda önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olmaktadır. Febré ve ark. (5), yoğun bakım hastalarında üriner kateter ile ilişkili hastane kökenli kandidürünün insidansını saptamak amacı ile yaptıkları bir çalışmada, idrar kültürü olumlu olan kateterli 13 hastadan 9'unda üriner kateter uygulamasından 72 saat sonra idrarda maya varlığını saptamışlardır.

İdrarda mayanın bulunması durumunda, klinisyenler flukonazol ya da amfoterisin B başlayıp, başlamama ikilemini yaşamaktadırlar (1). Bunun bir nedeni, maya kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarının çeşitli antifungal ajanlara duyarlılıkları konusunda farklı araştırma sonuçlarının varlığı; diğer nedeni ise idrardan Candida izolasyonunun kontaminasyonun ya da sağaltım gerektirmeyen kolonizasyonun bir belirtisi olabileceği gibi, ciddi sağaltım gerektiren alt ve üst üriner sistem infeksiyonu hatta pyelonefrit ve renal kandidozu da gösterebilmesidir (6). Bu noktada henüz kolonizasyon ile infeksiyonu ayırt edebilecek güvenilir bir yöntemin söz konusu olmadığı bildirilmektedir (6).

Kozinn ve ark. (8) 10.000 KOU/ml üzerindeki koloni sayımlarının kateter bulunmayan olgularda infeksiyon ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak, koloni sayımı 10^3 KOU/ml olan klinik olarak ciddi renal kandidoz olguları da bildirilmiştir (9). Sonuçta piyürinin yokluğu ve düşük koloni sayımlarının Candida infeksiyonunu ekarte ettirebildiği ancak piyürinin düşük özgüllüğü nedeniyle 10^3 KOU/ml'nin üzerindeki koloni sayımlarının, hastanın kliniği ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği savunulmuştur (8,9). Burada önerilen bir diğer nokta da sağaltıma başlanmadan önce ikinci bir idrar örneğinin incelenmesi ve kandidürünün doğrulanmasıdır (6).

Çalışmamızda soyutlanan Candida türlerinin büyük çoğunluğunu *C. albicans* oluştururken, ikinci sırayı *C. tropicalis* almıştır. Kauffman ve ark.'nın (10) yaptığı çok merkezli bir çalışmada da 861 fungüri olguların 446'sında (%51.8) *C. albicans* saptanırken ikinci sırada *C. glabrata* izlenmiştir. Bizim sonucumuz bu çalışmamızın benzer niteliktedir.

Çalışmamızda, idrardan soyutlanan *C. albicans* ve *C. tropicalis* suşlarının flukonazol için elde edilen MIC_{50} değerleri sırasıyla $0.5 \mu\text{g/ml}$ ($0.06-8 \mu\text{g/ml}$) ile $1 \mu\text{g/ml}$ ($0.25-4 \mu\text{g/ml}$); amfoterisin B için saptanan değerler ise sırasıyla $0.06 \mu\text{g/ml}$ ($0.03-0.50 \mu\text{g/ml}$) ve $0.25 \mu\text{g/ml}$ ($0.125-0.50 \mu\text{g/ml}$) şeklindedir. Tüm bu değerler her iki antifungal ajan için de duyarlı olarak kabul edilmektedir. Baran ve ark.'nın (11) tarafından, 1994 ile 1998 yıllarında toplanan 80 üriner sistem Candida izolasyonunun yıllara göre antifungal ajanlara duyarlılıklarına bakılmış bir çalışmada, *C. albicans* suşlarının MIC_{50} değerleri flukonazol için 1994'de $0.25 \mu\text{g/ml}$ ($0.125- >64 \mu\text{g/ml}$), 1998'de $0.50 \mu\text{g/ml}$ ($0.25- >64 \mu\text{g/ml}$), *C. tropicalis* suşlarının ise 1994'de $1 \mu\text{g/ml}$ ($0.5-4$), 1998'de $2 \mu\text{g/ml}$ ($1- >64 \mu\text{g/ml}$) olarak belirlenmiştir. *C. albicans* ve *C. tropicalis* suşlarının amfoterisin B için elde edilen değerleri ise 1994'de $0.5 \mu\text{g/ml}$ ($0.5-1 \mu\text{g/ml}$) ve $1 \mu\text{g/ml}$ ($1 \mu\text{g/ml}$); 1998'de $1 \mu\text{g/ml}$ ($0.5-1 \mu\text{g/ml}$) ve $1 \mu\text{g/ml}$ ($1-2 \mu\text{g/ml}$) şeklindedir (11). Sonuçlarımız bu çalışmamızın ile karşılaştırıldığında MIC_{50} değerlerin flukonazol için benzer, amfoterisin B için ise daha düşük olduğu görülmektedir. Öte yandan farklı olarak bizim suşlarımızda her iki antifungal ajan

için de doza bağımlı duyarlı veya dirençli kategorisine girecek bir durum izlenmemiştir. Bu durum suşların soyutlandığı hastalara ve farklı hastanelerdeki antifungal ajanların kullanım politikasına bağlı olabilir. Aynı çalışmada *C.albicans* ve *C. tropicalis* türlerinde söz konusu 4 yıl içinde flukonazol MİK değerlerinde bir artış eğilimi olduğu ve daha fazla dirençli suş ile karşılaştığı ancak amfoterisin B ve vorikonazol MİK değerlerinde benzer artışın söz konusu olmadığı bildirilmiştir (11).

Yukarıda bildirilen çalışmada flukonazol direncinde artış olduğu ortaya konmakla beraber, çeşitli araştırmalarda bu ilacın üriner sistem fungal infeksiyonlarının sağaltımında hala güvenilir ve oldukça etkili olduğu bildirilmektedir (2,12). Yine Jacobs ve ark. (13) 95 fungürili yatan hastaya ortalama 5 gün boyunca amfoterisin B ile mesane irrigasyonu uyguladıklarında fungürinin %80 ortadan kalktığını, diabet gibi risk faktörüne sahip olgularda da bu oranın değişmediğini gözlemlemişlerdir (13).

Bulgularımız doğrultusunda; klinik ve laboratuvar sonuçları değerlendirilerek sağaltım gerektiğine karar verilen kandiduri tablolarında, konak ve ilacın farmakolojik özellikleri de uygun ise, flukonazol ve amfoterisin B'nin kullanılabilmesi ve bu ajanlara karşı hastanemiz suşlarında henüz bir direnç gelişiminin söz konusu olmadığı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Fisher JF, Newman CL, Sobel JD. Yeast in the urine: Solutions for a budding problem. *Clin Infect Dis* 1995;20:183-189.
2. Sobel JD, Kauffman CA, McKinsey D, et al. Candiduria: A randomized, double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. *Clin Infect Dis* 2000;30:19-24.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. NCCLS document M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
4. Edwards JE. International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections. *Clin Infect Dis* 1997;25:43-59.
5. Febre N, Silva V, Medeiros EAS, et al. Microbiological characteristics of yeast isolated from urinary tracts of intensive care unit patients undergoing urinary catheterization. *J Clin Microbiol* 1999;37:1584-1586.
6. Lundstrom T, Sobel J. Nosocomial candiduria: A review. *Clin Infect Dis* 2001;32:1602-1607.
7. Harris AD, Castro J, Sheppard DC, et al. Risk factors for nosocomial candiduria due to *Candida glabrata* and *Candida albicans*. *Clin Infect Dis* 1999;29:926-928.
8. Kozinn PJ, Taschdjian CL, Goldberg PK, et al. Advances in the diagnosis of renal candidiasis. *J Urol* 1978;119:184-187.
9. Schoenbeck J. Asymptomatic candiduria: prognosis, complications, and other clinical considerations. *Scand J Urol Nephrol* 1972;6:136-146.
10. Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, et al. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2000;30:14-18.
11. Baran J, Klauber E, Barczak J, et al. Trends in antifungal susceptibility among *Candida* sp. urinary isolates from 1994 and 1998. *J Clin Microbiol* 2000;38:870-871.
12. Tacker JR. Successful use of fluconazole for treatment of urinary tract fungal infections. *J Urol* 1992;148:1917-1918.
13. Jacobs I.G, Skidmore EA, Cardoso LA, et al. Bladder irrigation with amphotericin B for treatment of fungal urinary tract infections. *Clin Infect Dis* 1994;18:313-318.