

Nötropenik Hasta Örneklerinden İzole Edilen Mayaların Tiplendirilmesi ve Flukonazole Karşı Direncin Araştırılması

Demet Kaya¹, Sena Kaptanoğlu², Zeki Üstüner³, Osman Ertör⁴

Özet: Malign hastalıkların tanısı ve tedavisinde son yıllarda sağlanan gelişmelere paralel olarak ortalama yaşam süreleri uzamakla birlikte, immünoşüpresyonlu hastaların sayısında da artış meydana gelmiştir. Bu nedenle bağışıklık sistemleri basılanmış hastalarda ortaya çıkan fırsatçı infeksiyonların erken dönemde tanınması ve tedavi edilmesi gerekmektedir. Fırsatçı mantar infeksiyonlarının önde gelen etkenlerinden olan *Candida* türlerinde antifungal ilaçlara direnç gelişimi önemli bir klinik sorundur. Çalışmamızda, profilaktik amaçla flukonazol uygulanan hematolojik maligniteli nötropenik hastaların çeşitli vücut bölgelerinden izole edilen 138 maya, tür düzeyinde identifiye edilmiş ve izolatların flukonazole duyarlılığı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. İzole edilen mayaların 53 (%38.4)'ünün *Candida krusei*, 41 (%29.7)'inin *Candida glabrata*, 32 (%23.2) 'sinin *Candida albicans*, 5 (%3.6)'inin *Candida kefir*, 5 (%3.6)'inin *Candida tropicalis* ve 2 (%1.5)'sinin *Candida parapsilosis* olduğu belirlenmiştir. İzole edilen *C.albicans* suşlarının %68.7'si flukonazole dirençli, %9.4'ü doza bağımlı duyarlı ve %21.9'u duyarlı bulunmuştur. *C.albicans* dışı izolatların duyarlılık profilinin türlere göre dağılımı incelendiğinde, direnç oranları *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.kefir*, *C.tropicalis* ve *C.parapsilosis* için sırasıyla %53.6, %69.8, %60, %80 ve %50, doza bağımlı duyarlılık oranları ise sırasıyla %46.4, %30.2, %40, %20 ve %50 bulunmuş, izolatların hiçbirisinde flukonazole duyarlılık saptanmamıştır. Sonuç olarak, hematolojik maligniteli nötropenik hastalardan izole edilen kolonizasyon ya da infeksiyon etkeni mayalarda, *C.albicans* dışı suşlarda daha belirgin olmak üzere yüksek oranda *in vitro* flukonazol direnci saptanmıştır. Azol türevi antifungal ilaçlara direnç gelişiminin yaratacağı klinik problemler göz önüne alınarak immünoşüpresyonlu hastalarda profilaktik amaçlı, yaygın ve uzun süreli flukonazol kullanımının irdelenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Candida*, flukonazol, direnç.

Summary: Typing of yeasts isolated from the specimens of neutropenic patients and investigation of fluconazole resistance. In recent years, the number of immunocompromized patients has increased in parallel to different therapy approaches to prolong human life and many investigations are being performed about the opportunistic infections and their therapy. *Candida* species that are the most common fungal agents of opportunistic infections, started to acquire resistance to some antifungal agents. In this study, from the specimens of neutropenic patients with haematological malignancies using fluconazole prophylactically, isolation and typing studies of yeasts were done and *in vitro* susceptibility patterns of the isolates to fluconazole were determined. For this purpose, patient samples were processed and 138 yeast isolates were typed and fluconazole susceptibility was determined by microdilution method. The distribution of the isolates was as follows: 53 (38.4%) *Candida krusei*, 41 (29.7%) *Candida glabrata*, 32 (23.2%) *Candida albicans*, 5 (3.6%) *Candida kefir*, 5 (3.6%) *Candida tropicalis* and 2 (1.5%) *Candida parapsilosis*. Of the *C.albicans* strains, 68.7% were resistant to fluconazole, 9.4 % were susceptible dependent upon dose (S-DD) and 21.9 % were susceptible. Evaluation of non-*C.albicans* strains revealed the resistance rates for *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.kefir*, *C.tropicalis* ve *C.parapsilosis*, respectively as 53.6%, 69.8%, 60%, 80%, 50%. S-DD rates respectively as 46.4%, 30.2%, 40%, 20%, 50% and none of the isolates were found susceptible to fluconazole. As a result, in this study colonization or infection due to many fluconazole-resistant yeasts were determined and this resistance was higher in non-*C.albicans* strains. As resistance to fluconazole can cause many important problems, wide use of this agent must be discussed.

Key Words: *Candida*, fluconazole, resistance.

Giriş

Son yıllarda, malign hastalıkların tedavisinde sitostatik kemoterapiye sıkça başvurulması immünoşüpresyonlu hasta sayısında artışa neden olmakta ve böyle hastalar doğal savunma mekanizmalarındaki çeşitli defektler nedeniyle oportünist patojenlerin etken olduğu ağır seyirli infeksiyon-

larla karşı karşıya kalmaktadır. Hematolojik malignite nedeniyle uygulanan sitostatik tedaviye bağlı nötropenin yanı sıra, bu hastalarda oluşan flora denge bozuklukları, mukoza bütünlüğünün kaybolması ile birlikte tanı ve tedavi amaçlı invazif girişimler de infeksiyon riskini artırmaktadır (1-3).

Nötropenik hastalarda, bakterilerin etken olduğu infeksiyonların yanı sıra, mantar, virus ve parazitler tarafından oluşturulan fırsatçı infeksiyonlar da gelişmektedir. Fırsatçı mantar infeksiyonlarının önde gelen etkeni *Candida albicans* başta olmak üzere diğer *Candida* türleridir. Yeni antifungal ajanların düşük istenmeyen etki profilleri nedeniyle profilaksi amacıyla yaygın ve uzun süreli kullanımı bu ajanlara karşı direnç sorununu gündeme getirmiş ve direnç gelişimi ilk kez *C. albicans*'ın flukonazole karşı direncinin ortaya konması ile tanımlanmıştır (4,5).

- (1) Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Düzce Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Düzce
- (2) Serbest Hekim, Eskişehir
- (3) Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir
- (4) Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Düzce Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Düzce

sis için sırasıyla %53.6, %69.8, %60, %80 ve %50 olarak bulunmuştur. Doza bağımlı duyarlılık oranları ise sırasıyla %46.4, %30.2, %40, %20 ve %50'dir.

İrdeleme

Flukonazol sistemik ve yüzeysel mikozların tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu bir triazol bileşimidir. Flukonazolin profilaksi veya tedavi amacıyla yaygın kullanımını sonucu *Candida* türlerinde flukonazole karşı direnç gelişimi çeşitli araştırmalarda klinik bir sorun olarak ortaya konmuştur (8,9). Antifungal direnç gelişimi ile ilgili olarak hastanın immünoşüpresyon durumu ve daha önce azol türevlerini kullanmış olmasının risk faktörü olduğu; direnç gelişiminin hastanın aldığı total flukonazol miktarı ile de ilişkili bulunduğu bildirilmektedir (5,10). Çalışma grubumuzda yer alan tüm hastaların immünoşüpre olması ve örneklerin alındığı sırada profilaksi amacıyla flukonazol kullanmakta olması direnç gelişimine katkıda bulunan risk faktörleridir.

Çalışmamızda izole edilen mayaların klinik örnekler göre dağılımı incelendiğinde izolatların %50'sinin dışı, %29.7'sinin boğaz ve %2.9'unun balgamdan ayrılmış olduğu, dolayısıyla flora üyeleri olduğu; diğer izolatların da %15.9 oranında idrar, %1.5 oranında kandan ayrıldığı ve infeksiyon etkeni olduğu görülmektedir. Nötropenik hastaların çeşitli vücut bölgelerinde kolonize olan mikroorganizmaların infeksiyon etkeni olabildikleri bilinmektedir. Bu nedenle örneklerin %82.6'sından izole ettiğimiz ve kolonizasyon olarak yorumladığımız mayalar ileride gelişebilecek infeksiyonların etkenlerinden olabilecektir. Kolonize olan maya türlerinde flukonazole direnç %95, infeksiyon etkeni olanlarda %100 olarak bulunmuştur. Kolonize olan mayalardaki flukonazole direnç oranı yüksekliği, nötropenik hastalarda gelişebilecek olası infeksiyonlarda tedavi yanıtızlığına neden olacaktır.

Çalışmamızda, incelenen örneklerden *C. albicans*'ın %23.2, *C. albicans* dışı suşların ise %76.8 oranlarında izole edildiği görülmektedir. Flukonazol direncinin türlere göre dağılımı incelendiğinde, *C. albicans* dışı suşlarda direnç literatürle de uyumlu olarak daha yüksek bulunmuştur (8-12). Yapılan çeşitli çalışmalarda *C. albicans* dışı suşlarda flukonazolin MİK değerinin yükseldiği bildirilmektedir. Flukonazol profilaksisi uygulanan hastalarda infeksiyon etkenlerinin genellikle *C. glabrata* ve *C. krusei* suşları olduğu rapor edilmektedir (11-14). Çalışmamızda bu bilgiler ile uyumlu olarak, flukonazol direnci ve doza bağımlı duyarlılık oranları *C. albicans* suşlarında %68.7 ve %9.4, *C. albicans* dışı izolatlarda ise %63.2 ve %36.8 olarak bulunmuştur.

Flukonazol direncinin *C. albicans* dışı türlerden özellikle *C. glabrata* ve *C. krusei* suşlarında belirgin olarak yüksek olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Pfaller ve arkadaşları (15) çalışmalarında *C. glabrata* ve *C. krusei* suşlarında flukonazole duyarlılıkta azalmayı ortaya koymuşlardır. Bizim sonuçlarımızda da direnç ve doza bağımlı duyarlılık oranları *C. krusei* suşları için sırasıyla %69.8 ve %30.2, *C. glabrata* suşları için sırasıyla %53.6 ve %46.4 bulunmuş olup, duyarlı izolat saptanmamıştır. Bu oranlar diğer çalışma sonuçlarıyla benzer olmakla beraber *C. kefyr*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* suşlarında da flukonazole duyarlılık belirlenmemiştir. Bu bulgumuz nötropenik hastalarda *C. glabrata* ve *C. krusei* dışı izolatların da flukonazole direnç geliştirdiğini ve tedavi sorunları yaratabileceğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, nötropenik hastalar konak savunması zayıflayan ve birçok infeksiyon etkenine duyarlılığı yüksek olan bir hasta grubunu oluşturmaktadır. Bu hastalara düşük yan etki profili nedeniyle profilaksi amacıyla flukonazol sıklıkla uygu-

lanmaktadır. Bizim çalışma sonuçlarımızın da ortaya koyduğu gibi, bu kişilerde flukonazole direnç kazanmış birçok maya türü ile kolonizasyon ya da infeksiyon gelişmekte ve ardından tedavi problemleri ortaya çıkmaktadır. Flukonazolin özellikle profilaksi amacıyla bu derece yaygın ve indikasyon dışı kullanımını konusunun, yarar ve zarar dengesinin bir kez daha sorgulanarak gözden geçirilmesi gerektiği kanısındayız.

Kaynaklar

1. Schimpff SC. Infections in the cancer patient-Diagnosis, prevention, and treatment. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2666-75
2. Hopkin JM. Respiratory disease in the immunocompromised host. Non-AIDS. In: Brewis RAL, Gibson GJ, Gedds DM, eds. *Respiratory Medicine*. Philadelphia: WB Saunders, 1990: 961-73
3. Bodey G. Overview of the problem of infections in the immunocompromised host. *Am J Med* 1985; 79:56-61
4. Odds FC. Resistance of yeast to azole-derivate antifungals. *J Antimicrob Chemother* 1993;31:463
5. Sanguineti A, Carmichael K, Campbell K. Fluconazole resistant *C.albicans* after long-term suppressive therapy. *Arch Intern Med* 1993; 153:1122-4
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*. Approved Standard. NCCLS Document M27A. Wayne, Pa: NCCLS, 1997
7. Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Lancaster M, Rinaldi MG, Walsh TJ, Barry AL. Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro-in vivo correlation data for fluconazole, itraconazole and *Candida* infections. *Clin Infect Dis* 1997; 24:235-47
8. Nyugen MH, Peacock JE, Morris AJ, Tanner DC, Nguyen DR, Snyderman DR, Wagener MM, Rinaldi MG, Yu VL. The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med* 1996; 100:617-23
9. Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of *Candida* other than *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30:121-9
10. Sangeorzan JA, Bradly SF, He X, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN, Kauffmann CA. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment and emergence of fluconazole resistance. *Am J Med* 1993; 97:339-46
11. Abi-said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1997; 24:1122-8
12. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE, Saral R. Increase of *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med* 1991; 325: 1274-7
13. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Miller CB, Karp JE, Saral R. Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1847-9.
14. Sandven P, Bevanger L, Digranes A, Gaustad P, Haukland HH, Steinbakk M. Constant low rate of fungemia in Norway, 1991 to 1996. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3455-9
15. 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. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1886-9