

VAJİNİTLİ HASTALARDAN İZOLE EDİLEN MAYA TÜRKLERİNİN ANTİFUNGALLERE DUYARLILIKLARI*

Ümran SOYOĞUL GÜRER¹, Adile ÇEVİKBAŞ¹, Çiğdem İMAMOĞLU¹,
Nursal DAŞDELEN¹, Ayşegül YILDIRIM², Koray DERİCİ¹

ÖZET

Zeynep Kamil Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran vajinitli hastalardan izole edilen 47 maya suşunun tür tayinleri API-20C sistemi ile yapılmış ve bazı antifungallere in-vitro duyarlılıklar araştırılmıştır. Sırasıyla *Candida albicans* (37), *C. kefyr* (3), *C. glabrata* (3), *C. krusei* (1), *C. stellatoidea* (1), *Trichosporon beigelii* (2) türleri saptanmıştır.

Flukonazol, klotrimazol ve nistatinin MİK değerlerinde diğer çalışmaların sonuçlarına oranla yükselseme saptanmıştır. Flukonazolun MİK aralığı 0.10 - > 50, klotrimazolun MİK aralığı 0.02 - > 50, nistatinin MİK aralığı 0.20 - > 50 µg/ml olarak bulunmuştur. Bu çalışmada incelenen maya suşları mikonazole duyarlı kabul edilmiş ve MİK aralığının 0.02 - 25 µg/ml olduğu saptanmıştır.

SUMMARY

The susceptibility of yeast species isolated from vaginitis patients to antifungal agents.

Fourty-seven yeast strains isolated from vaginitis patients who attended Zeynep Kamil Hospital, Obstetrics and Gynecologic Department were identified with the API-20C yeast identification system and were investigated in-vitro susceptibility to antifungal agents. Strains were identified as *Candida albicans* (37), *C. kefyr* (3), *C. glabrata* (3), *C. krusei* (1), *C. stellatoidea* (1) and *Trichosporon beigelii* (2).

The MIC range values of fluconazole, clotrimazole and nystatin were found to be slightly higher than the values stated in some other studies. MIC range of fluconazole was 0.10->50; of clotrimazole was 0.02->50; of nystatin was 0.20->50 µg/ml. In our study all strains were found susceptible to miconazole with MIC range 0.02-25 µg/ml.

GİRİŞ

Son 10 yılda mayalarla olan fungal infeksiyonların insidansının artışına paralel olarak antifungal ilaç kullanımında da artma olmuştur. Ancak antifungal ilaçların artan oranda kullanılması infeksiyon etkeni mayalar arasında direnç gelişmesine neden olmaktadır (5).

Vajinal kandidiyaz şeker hastalığında, antibiyotik tedavisinde olanlarda ve hamilelikte en sık görülen infeksiyondur (24). Bugün için vajinal kandidiyazda topikal etkili antifungal ilaçlardan nistatin, imidazollerden mikonazol ve klotrimazol, triazollerden ise tek doz oral flukonazol tedavi amacıyla kullanılmaktadır (3,4).

* 12. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (2-6 Haziran 1997, Antalya).

1. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

2. Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastahıkları Hastanesi, İstanbul.

Mayaların in-vitro koşullarda antifungal duyarlılık testlerini standardize etme çabaları son yıllarda yoğunluk kazanmıştır. Bu amaçla yakın zamanda National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından tanımlanan ve maya mantarlarının antifungal duyarlığını belirlemeye kullanılan makrodilüsyon yöntemi pek çok çalışmada kullanılmaktadır (15). Ancak bu yöntemle elde edilen sonuçlar içinde yüksek minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) ile klinik başarısızlık arasında bir uyum saptanamaması önemli sakincalar yaratmaktadır (1,18,19). Buna karşın çeşitli zaman aralıklarında mayaların antifungallere in-vitro duyarlılıklarında bir değişiklik olup olmadığıın bilinmesinin gerekliliğini düşünerek, bu çalışmada vajinitli hastalardan izole edilen maya türlerinin antifungallere duyarlılıkları in-vitro araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Zeynep Kamil Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran vajinitli hastalardan izole edilen 47 maya suşu kullanılmış, tür tayinleri API-20C sistemi ile yapılmıştır (12).

Türleri belirlenen 47 maya suşunun flukonazol, mikonazol, klotrimazol ve nistatine in-vitro duyarlılıkları, NCCLS (M27-P) standartlarına uygun olarak yapılan makrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır (6,9,10,20,21). Çalışmada referans suş olarak *C.albicans* ATCC 10231 suşu kullanılmıştır. Flukonazol Adilna-Sanovel, mikonazol İltuş, klotrimazol Bayer, nistatin ise Fako İlaç San. A.Ş.'den sağlanmıştır.

BULGULAR

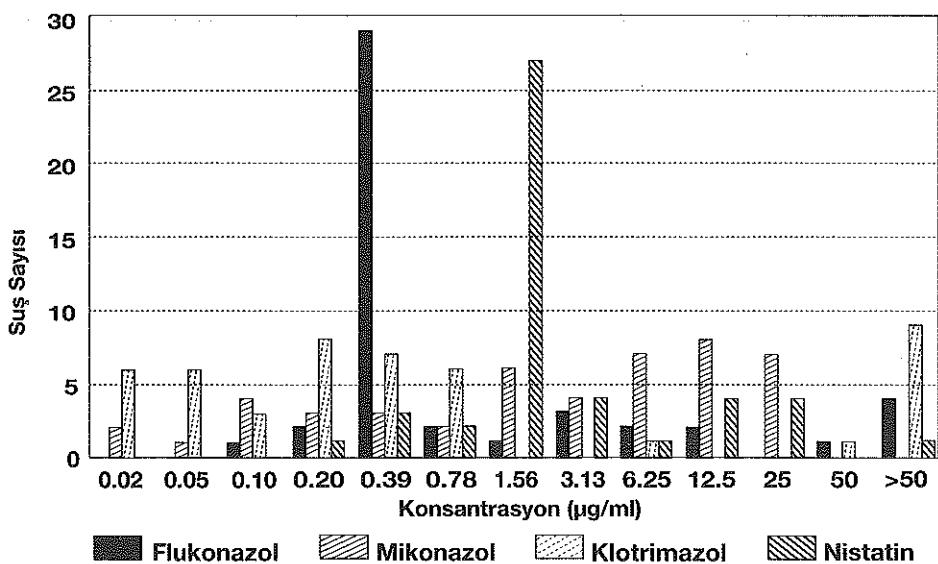
Vajinitli hastalardan izole edilen maya suşlarının tür dağılımı ve bu türler için çeşitli antifungallerin in-vitro MİK sınırları tabloda gösterilmiştir.

Tablo . Maya türlerine bazı antifungallerin in-vitro MİK aralıkları ($\mu\text{g}/\text{ml}$).

Maya türleri	n	Flukonazol	Mikonazol	Klotrimazol	Nistatin
<i>C.albicans</i>	37	0.39->50	0.10-25	0.02->50	0.39-25
<i>C.kefyr</i>	3	0.20->50	0.05-3.13	0.02->50	0.20-3.13
<i>C.glabrata</i>	3	6.25-12.5	0.78-1.56	0.05-0.20	0.78-25
<i>C.krusei</i>	1	3.13	1.56	0.78	>50
<i>C.stellatoidea</i>	1	6.25	0.39	0.05	1.56
<i>T.beigelii</i>	2	0.10-1.56	0.02	>50	1.56-12.5
Toplam	47	0.10->50	0.02-25	0.02->50	0.20->50

TARTIŞMA

Çalışmamızda vajinitli hastalardan izole edilen maya suşlarının tür dağılımında *C.albicans* 37 suş ile ilk sırayı almış, bunu 1-3 suşla *C.kefyr*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.stellatoidea* ve *T.beigelii* gibi diğer türler izlemiştir. Bu sonuçlar kaynaklardaki bulgular ile uyum göstermektedir (11,16).



Şekil . Vajinitli hastalardan izole edilen maya suşları üzerine 4 farklı antifungal ilacın etkisi.

Kandidalarda antifungal ilaçların MİK duyarlılık/dirençlilik sınırı “break point” i nistatin için $\leq 10 \mu\text{g}/\text{ml}$, mikonazol için $0.1-25 \mu\text{g}/\text{ml}$, klotrimazol için $< 8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ve flukonazol için $0.125-64 \mu\text{g}/\text{ml}$ olduğu belirtilmektedir (15,22,23).

Kandida infeksiyonları tedavisinde kullanılacak antifungal ilaçların MİK değerinin, kan, serum ve doku düzeyine eşit seviyede olması gereği ve tedavide kullanılan antifungal ilaçların dokuda kalıcı düzeylerinin yaklaşık $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ olduğu belirtilmiştir (14). Çalışmamızda saptanan tüm MİK sonuçları bu düzeye göre değerlendirilmiştir.

Johansson ve ark. (10) nistatin için kandida suşlarının MİK etki aralığını $1.95-7.8 \mu\text{g}/\text{ml}$, Hasçelik ve ark. (9) ise $1-10 \mu\text{g}/\text{ml}$ olarak bildirmiştir.

McGinnis ve Rinaldi (14), çeşitli araştırma gruplarının elde ettiği nistatin, klotrimazol ve mikonazolin kandida suşları için MİK etki aralığını toplu halde bildirmiştir. Buna göre nistatin için *C.albicans* ile $0.78->100$; *C.krusei* ile $0.5-25$; *C.kefyr* ile $0.5-25$, *C.stellatoidea* ile $2-25 \mu\text{g}/\text{ml}$ MİK değerleri elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar klotrimazol için *C.albicans* ile $0.01-50$, *C.krusei* ile $<0.05-1$; *C.kefyr* ile $0.016-100$; *C.stellatoidea* ile $1-50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ’de MİK değerleri; mikonazol için *C.albicans* ile $0.016-100$; *C.krusei* ile $<0.063-6.25$, *C.kefyr* ile $0.016-4$ ve *C.stellatoidea* ile $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ’de MİK değerleri bildirmiştir. Çalışmamızda izole edilen maya suşlarına nistatinin $0.20->50$; klotrimazolin $0.02->50$; mikonazolin $0.02-25 \mu\text{g}/\text{ml}$ MİK etki aralığı bulunmuştur. Bulgularımıza göre *C.albicans* (%16.2), *C.glabrata* (%33.3), *C.krusei* (%100) ve *T.beigelii* (%50) türlerinde nistatine; *C.albicans* (%18.9), *C.kefyr* (%33.3) ve *T.beigelii* (%100) türlerinde klotrimazole direnç gözlenmiştir. Çalışmamızda incelenen tüm maya suşları (%100) mikonazole duyarlı kabul edilmiştir.

Rogers ve Galgiani (21) *C.albicans* suşları için flukonazolun MİK etki aralığını 0.125-0.5 µg/ml, Özyurt ve ark. (17) 0.125-2 µg/ml, Bennet (2) *C.albicans* suşları için 0.1-1.56 µg/ml, kandida türleri için 0.04-3.12 µg/ml olarak bildirmiştir. Willke ve ark. (26)'in bulgularına göre flukonazol için kandida suşlarının MİK etki aralığı 0.06->8 µg/ml'dir. Bu bulgular ile karşılaşıldığında, incelediğimiz kandida suşları için flukonazolun MİK etki aralığının 0.20->50 µg/ml olması *C.albicans* (%10.8), *C.kefyr* (%33.3) türlerinde flukonazole direnç gelişliğini göstermektedir. Bunun nedeni flukonazol gibi yeni triazollerin, profilaksi ve tedavide sıkılıkla kullanılması olabilir. Ayrıca in-vivo uygulamalarda, özellikle mayalarda, çok etkili bulunan flukonazol in-vitro çalışmalarla güvenilir sonuçlar vermemektedir (13,25). Klinik uygulamalarda başarılı bulunan flukonazol in-vitro duyarlılık testlerinde bazı *C.albicans* suşlarına karşı yüksek konsantrasyonlarda da etkisiz bulunmuştur (7). Azol türevlerinde ise in-vitro duyarlılık ile in-vivo etki arasındaki korelasyonun gerekli olmadığı görüşü ileri sürülmektedir (8).

Çalışmamızda vajinitli hastalardan izole edilen 47 maya suyu flukonazole %10.6, nistatine %19.1 ve klotrimazole %21.2 oranlarında dirençli bulunmuş ve in-vitro koşullarda mikonazol ile flukonazol maya suşlarına karşı nistatin ve klotrimazole göre daha etkili olmuştur. Bu nedenle kandida vajiniti tedavisinde kullanılan antifungal ilaçlara karşı direnç gelişebileceği unutulmamalı, tedavide bu durum dikkate alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1- Akova M, Hayran M, Arıkan S, Gür D, Ünal S, Akalın HE: Correlation of clinical outcome of *Candida* infections with in vitro antifungal susceptibility testing in patients with severe underlying diseases, *7th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Abstract N.795, Vienna (1995).
- 2- Bennett J: *Fluconazole , AIDS*, Press Int Inc (1990).
- 3- Brammer KW: A comparison of single-dose oral fluconazole with 3 day intravaginal clotrimazole in the treatment of vaginal candidiasis, *Eur J Microbiol Infect Dis* 7: 364 (1988).
- 4- Eliot BW, Howat RCL, Mack AE: A comparison between the effects of nystatin, clotrimazole and miconazole on vaginal candidiasis, *Br J Obstet Gynecol* 86: 572 (1979).
- 5- Espinel-Ingroff A, Pfaller MA: Antifungal agents and susceptibility testing, "P Murray, EJ Baron, MA Pfaller, FC Tenover, RH Yolken (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 6.baskı" kitabında s.1405, ASM Press, Washington (1995).
- 6- Fromting RA, Galgiani JN, Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Bartizal KF, Bartlett MS, Body BA, Frey C, Hall G, Roberts GD, Nolte FB, Odss FC, Rinaldi MG, Sugar AM, Villareal K: Multicenter evaluation of a broth macrodilution antifungal susceptibility tests for yeasts, *Antimicrob Agents Chemother* 37: 39 (1993).
- 7- Grant SM, Clissold SP: Fluconazole: A review of its pharmacodynamics and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in superficial and systemic mycosis, *Drugs* 39: 877 (1990).
- 8- Graybill JR: Fluconazole efficacy in animal models of mycotic diseases, "RA Fromting (ed): *Recent Trends in the Discovery, Development and Evaluation of Antifungal Agents*" s.113, JR Prous Sci Publ, Barcelona (1987).
- 9- Hasçelik G, Akyön Y, Yuluğ N: The sensitivity of *Candida* species isolated from children with diarrhea to antifungal compounds, *FEMS Symposiums Candida and Candidamycosis*, Alanya (1989).

- 10- Johansson CB, Bilgin S, Taşçıoğlu J, Söyletir G, Ener B: In vitro activities of nine antifungal agents on *Candida* species isolated as causative agents from clinical materials, *FEMS Symposium: Candida and Candidamycosis*, Alanya (1989).
- 11- King RD, Lee JC, Morris AL: Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells, *Infect Immun* 27: 667 (1980).
- 12- Koneman EW, Roberts GD, Wright SE: *Practical Mycology*, 2.baskı, Williams and Wilkins Co, Baltimore (1979).
- 13- Marriot MS, Richardson K: The discovery and mode of action of fluconazole, "RA Fromling (ed): *Recent Trends in the Discovery, Development and Evaluation of Antifungal Agents*", s.81, J R Prous Sci Publ, Barcelona (1987).
- 14- McGinnis MR, Rinaldi MG: 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 Co, London, Los Angeles (1986).
- 15- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing for Yeast, Proposed Standard, Document M27-P*, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova (1992).
- 16- Oriel JD, Partridge BM, Denny MJ, Coleman JC: Genital yeast infections, *Br Med J* 4: 761 (1972).
- 17- Özyurt M, Haznedaroğlu T, Gün H, Kubar A, Gönlüm A: Fluconazole ve amphotericin B'nin RPMI-1640 medium kullanılarak broth makrodilüsyon yöntemiyle bazı *Candida* türlerine etkinliklerinin mukayeseli çalışması, 25. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi*, Bursa (1992).
- 18- Pfaller MA, Rinaldi MG, Galgiani JN, Bartlett MS: Collaborative investigation of variables in susceptibility testing of yeasts, *Antimicrobial Agents Chemother* 34: 1648 (1990).
- 19- Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW, Webb CD: Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized, multicenter trial of fluconazole versus amphotericin B as treatment of nonneutropenic patients with Candidemia, *Antimicrob Agents Chemother* 39: 40 (1995).
- 20- Rex JH, Pfaller MA, Rinaldi MG, Polak A, Galgiani J: Antifungal susceptibility testing, *Clin Microbiol Rev* 6: 367 (1993).
- 21- Rogers TM, Galgiani JN: Activity of fluconazole (UK 49,858) and ketoconazole against *Candida albicans* in vitro and in vivo, *Antimicrobial Agents Chemother* 30:41 (1986).
- 22- Schmidt A: In vitro activity of clotrimazole for *Candida* strains isolated from recent patient samples, *Arzneimittelforschung* 45: 1338 (1995).
- 23- Shadomy S, Espinel-Ingroff A, Cartwright RY: Laboratory studies with antifungal drugs,"EH Lennette, A Balows, WJ Hausler, HJ Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 4.baskı" kitabında s.991, ASM, Washington (1985).
- 24- Sobel JD: Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis, *Am J Obstet Gynecol* 152: 924 (1985).
- 25- Tümbay E: Sistemik etkili yeni bir kemoterapötik: Flukonazol, *İnfeksiyon Derg* 3: 3 (1989).
- 26- Willke A, Çerikçioğlu N, İnci R, Arslan H, Demirkazık A: Kanserli hastalardan izole edilen kandida türlerinin antifungallere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 23: 119 (1993).