

Vulvovajinal Kandidoz Olgularından Elde Edilen *Candida Spp.* Örneklerinin Bazı Antifungallere Duyarlılıkları

ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY RESULTS OF CANDIDA STRAINS ISOLATED FROM VULVOVAGINAL CANDIDIASIS

Dr. Ayşe KALKANCI,^a Dr. Aydan BİRİ,^b Dr. Gülelham BOZDAYI,^a Dr. Semra KUŞTİMUR^a

^aMikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, ^bKadın Hastalıkları ve Doğum AD, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

Özet

Amaç: Vulvovajinal kandidoz antifungal ilaçlara direnç gelişiminin oldukça sık karşılaştığı mukozal bir mantar enfeksiyonudur. Tekrarlama özelliği nedeniyle uzun süreli tedavi gerektirmesi, kullanılan ilaçlara direnç gelişmesini arttırmaktadır. Çalışmamızda 70 vajinitli hastadan elde edilen 20 *Candida* suşunun antifungal duyarlılık özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Flukonazol, itraconazol, ketokonazol'e karşı duyarlılıklar NCCLS M27-A belgesine göre mikrodilüsyon testi ile araştırılmıştır.

Bulgular: Itraconazol, ketokonazol'e dirençli suşa rastlanmamıştır. Flukonazol için *Candida krusei* ile elde minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) sonuçları dikkate alınmadan bu suşlar flukonazole dirençli kabul edilmiştir.

Sonuç: Vajinal kandidoz tedavisinde test edilen antifungallerin kullanımının uygun olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Vulvovajinal kandidoz, antifungal duyarlılık, M27-A

Abstract

Objective: Vulvovaginal candidiasis is a mucosal fungal infection in which can be frequently seen the development of resistance to antifungal agents. Development of resistance is augmented because of the need of duration of the treatment and possibility of recurrence of the infection. In our study, 20 *Candida* strains isolated from the patients with vaginitis, were evaluated for their susceptibilities to some antifungal agents.

Material and Methods: Fluconazole, itraconazole, ketoconazole susceptibility were studied according to guidelines of the NCCLS M27-A microdilution procedure.

Results: No resistance was demonstrated for itraconazole, ketoconazole. *Candida krusei* strains were evaluated as resistant to fluconazole regardless their MIC results.

Conclusion: Tested antifungals were found to be efficient for the treatment of vulvovaginal candidiasis.

Key Words: Vulvovaginal candidiasis, antifungal susceptibility, M27-A

Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2005, 15:87-90

Vulvovajinal kandidoz bütün vajinit olgularının %20-30'unu oluşturmaktadır.¹ *Candida* vajiniti en fazla *Candida albicans* olmak üzere bütün *Candida* türlerinin neden olduğu mukozal bir enfeksiyondur. Kadınların %75'i hayatları boyunca en az bir kez *Candida* kaynaklı bir vajinit atağı ile karşı karşıya kalmak-

tadır. *C. albicans* *Candida* kaynaklı vajinitlerin %75'inden sorumludur. Bu türden başka *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. glabrata* ile de vajinit gelişmesi olasılığı son yıllarda artmaktadır.²

Vulvovajinal kandidoz tedavisinde en çok kullanılan antifungaller azol grubundan ketokonazol, flukonazol ve itraconazol'dür.³ Bu enfeksiyonların tedavisi sırasında gerek klinik cevapsızlık ile gelişen in vivo direnç, gerekse antifungal duyarlılık testlerinin sonucunda belirlenen in vitro direnç son yıllarda önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır.⁴

Çalışmamızda, vajinit şikayeti ile kliniğe başvuran 70 kadından alınan örneklerden izole edilen

Geliş Tarihi/Received: 08.12.2004 Kabul Tarihi/Accepted: 15.03.2005

Bu makale 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara)'nde poster olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Ayşe KALKANCI
Emek Mah. 75. Sok. 120/9
06510, ANKARA
aysekalkanci@email.com

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

20 *Candida* suşunun ketokonazol, flukonazol, itrakonazol ve amfoterisin B'ye duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) M27-A referans mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Ankara TCDD Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne vajinit şikayeti ile başvuran 70 kadın çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların tamamından 'bilgilendirilmiş olur' alınmıştır. Bu kadınlardan steril pamuklu silgeçler ile alınan vajinal sürüntü örnekleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarına ulaştırılmıştır. Bütün örnekler mikolojik etkenlerin izolasyonu için direk-boyalı preparatlarla ve Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) plaklarına ekilerek incelenmiştir. Plaklar 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda üreyen maya kolonileri ID32 C (bioMerieux-Fransa) maya tiplendirme kiti kullanılarak tiplendirilmiştir. Tiplendirme sonunda 12 *C. albicans* (%60), 3 *C. glabrata* (%15), 3 *C. krusei* (%15), 1 *C. inconspicua* (%5), 1 *C. kefir* (%5) olmak üzere 20 *Candida* suşu izole edilmiştir.

Antifungal duyarlılık testi NCCLS önerilerine uygun olarak M27-A mikrodilüsyon yöntemi ile yapılmıştır.⁵ Flukonazol (Pfizer, Ankara), ketokonazol, itrakonazol (Jhannsen-Eczacıbaşı, Ankara) etken maddeleri kullanılmıştır. Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) sonuçları 36°C'de 24 saatlik inkübasyon sonrasında elde edilmiştir. Plaklar değerlendirilmeden önce hafifçe çalkalanmıştır. Üreme kontrolü kuyucuğuna göre yapılan karşılaştırmada flukonazol için üremenin %80 inhibe olduğu ilk kuyucuk ilaç konsantrasyonu MİK olarak kabul edilirken, diğer ilaçlarda üremenin tamamen inhibe olduğu ilk kuyucuk MİK olarak kayıt edilmiştir. Testin kalite kontrolü için *C. parapsilosis* ATCC 22019 ve *C. krusei* ATCC 6258 referans suşları kullanılmıştır.

Bulgular

Yirmi dört saat sonunda elde edilen MİK sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Örneklerin tamamı kullanılan 3 antifungale de duyarlı bulun-

Tablo 1. Elde edilen MİK sonuçları.

Organizma	Adet	MİK Aralıkları		
		Flukonazol	Ketokonazol	Itrakonazol
<i>C. albicans</i>	12	< 0.125-8	< 0.0625-8	<0.0625-8
<i>C. glabrata</i>	3	< 0.125-8	< 0.0625-4	0.5-8
<i>C. krusei</i>	3	-	< 0.0625-0.25	0.0625
<i>C. inconspicua</i>	1	2	<0.0625	0.0625
<i>C. kefir</i>	1	0.25	0.0625	0.0625
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	1	2	0.125	0.125
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	1	64	0.125	0.125
MİK ortalaması	-	2.09	1.69	1.74
MİK ₅₀	-	4	4	2
MİK ₉₀	-	8	8	8

muştur. *C. krusei* suşları ile elde edilen MİK sonuçları dikkate alınmaksızın bu suşlar flukonazole doğal dirençli bulunmuştur. Kullanılan referans suşlar ile elde edilen MİK sonuçları testin kalite kontrolünün NCCLS önerilerine uygun olduğunu göstermektedir. MİK sonuçları flukonazol için 0.125-8 µg/ml arasında, ketokonazol için 0.0625-8 µg/ml arasında, itrakonazol için 0.0625-8 µg/ml arasında bulunmuştur. Testin kalite kontrolü olarak kullanılan *C. parapsilosis* ATCC 22019 ve *C. krusei* ATCC 6258 referans suşları ile 4 ilaç için de elde edilen MİK sonuçlarının NCCLS önerilerine uygun olması, çalışmamızın doğruluğunu göstermektedir (Tablo 1).

Tartışma

Vulvovajinal kandidozun tedavisi sırasında antifungal ilaçlara direnç gelişimi nedeniyle problemler yaşanmaktadır. Tekrarlayan vulvovajinal kandidoz olgularında tedaviye cevapsızlığın, bağışıklık sistemine ait bazı mekanizmaların da rol aldığı karmaşık bir tablonun sonucu olduğu düşünülmektedir.⁶ Günümüzde mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar, bakteriyel enfeksiyonlar için kullanılanlar ile karşılaştırıldığında sayıca çok değildir. Bu kısıtlı sayıdaki ilaç grubuna karşı direnç gelişiyor olması özellikle 90'lı yılların sonunda etkin tedbirlerin alınmasını gerektirmiştir.⁷ Antifungal ilaçlara karşı gelişen direncin gösterilmesi için klinik örneklerden izole edilen etkenlere duyarlılık testlerinin uygulanması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Yüksek MİK elde edilen örneklerin moleküler yöntemler ile incelenmesi

sonucunda, antifungal ilaçlara direncin mekanizmalarını gösteren çalışmalar yapılmaktadır.^{8,9}

Duyarlılık testlerinde uygulanacak yöntemler bakteriler için olduğu gibi mantarlar için de çeşitlilik göstermektedir. Ancak bu yöntemlerden sadece makrodilüsyon yöntemi standardize edilmiş, arkasında da rutin laboratuvarlara daha kolay uygulanabilecek olan mikrodilüsyon yöntemi önerilmiştir.¹⁰⁻¹²

Çalışmamızda önemli bir mantar enfeksiyonu olan vajinal kandidoz olgularının etkeni *Candida* suşlarının çeşitli antifungallere duyarlılıkları araştırılmıştır. Yetmiş vajinal örneğin 20 tanesinde etken patojen olarak (%28.5) *Candida* türleri izole edilmiştir. Tünger ve ark. %33.2 oranında maya mantarı izole etmiş, bunların %61.7'sinin *C. albicans* olduğunu bildirmişlerdir.¹³ Karaarslan ve arkadaşları da vajinal örneklerde %36.3 oranında *Candida* türlerini izole etmişlerdir.¹⁴ *C. albicans* dışında izole ettiğimiz türler olan *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. inconspicua* ve *C. kefyr* vajen örneklerinden daha az sıklıkla izole edilen türlerdir. Ancak son yıllarda bu türlerin izolasyon sıklığı da artmaktadır.¹ İzole ettiğimiz türlerden *C. glabrata* vulvovajinal kandidoz olgularında 2. sıklıkta izole edilen bir tür olarak bilinmektedir.¹⁵ Nadir bir tür olarak izole ettiğimiz *C. inconspicua* ise Human Immunodeficiency Virus (HIV) ile infekte bireylerde ağız ve özofagus örneklerinden izole edildiği gibi vajinal örneklerden de izole edilen bir türdür.¹⁶ Çalışmamızın antifungal duyarlılık test sonuçları bölümünde elde ettiğimiz dar MİK aralıkları ve duyarlılığı gösteren düşük MİK sonuçları son yıllarda yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir. Delaroziere JB ve ark. 90'lı yılların sonunda yüksek oranlara ulaşan antifungal ilaç direncinin uygulanan bilinçli önlemler sayesinde azalmakta olduğunu bildirmişlerdir.¹⁷ Ülkemizde yapılmış olan çalışmalar sayesinde mantar enfeksiyonlarının tedavisinin düzenlenmesinde ilk basamak olarak antifungal duyarlılık testlerinin yapılması ve sonrasında uygun antifungalın seçilmesi görüşü yerleşmektedir.^{14,18,19} İzole ettiğimiz suşlardan *C. krusei* genellikle flukonazole doğal direnç geliştiren bir tür olarak bilinmektedir.²⁰ Bizim çalışmamız sonucunda flukonazol MİK sonuçları dikkate alınma-

mış ve *C. krusei* flukonazole dirençli kabul edilmiştir. Direnç geliştirme bakımından bir diğer önemli tür *C. glabrata*'dır.¹⁵ Bu türden olan 3 suşun MİK ortalaması 5.37 µg/mL olarak bulunmuştur. *C. albicans* türlerinin flukonazol için MİK ortalaması ise 1.27 µg/mL'dir. *C. glabrata* türüne ait örneklerimiz arasında dirençli suş bulunmamış ancak *C. albicans* grubu ile karşılaştırıldığında bulunan yüksek MİK ortalamaları bu türün yine de dikkatle tiplendirilerek, antifungallere duyarlılıkları bakımından özellikle test edilmeleri görüşünü desteklemiştir. Çalışmamız sonucunda bütün *Candida* enfeksiyonlarında olduğu gibi vajinal enfeksiyonlarda da etkene yönelik tedavinin duyarlılık testlerinin sonuçları doğrultusunda yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Sparks JM. Vaginitis. J Reproductive Med 1991;36:745-52.
2. Al-Rawi N, Kavanagh K. Characterisation of yeasts implicated in vulvovaginal candidosis in Irish women. Br J Biomed Sci 1999;56:99-104.
3. Lyman CA, Walsh TJ. Systemically administered antifungal agents. Drugs 1992;44:9-35.
4. Otero L, Fleites A, Mendez FJ, et al. Susceptibility of *Candida* species isolated from female prostitutes with vulvovaginitis to antifungal agents and boric acid. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999;18:59-61.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved Standard. NCCLS Document M27-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.
6. Fidel Jr PL, Sobel JD. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. Clin Microbiol Rev 1996;9:335-48.
7. Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and emerging azole antifungal agents. Clin Microbiol Rev 1999;12:40-79.
8. Ghannoum M, Rice LB. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. Clin Microbiol Rev 1999;12:501-17.
9. Xu J, Ramos AR, Vilgalys R, et al. Clonal and spontaneous origins of fluconazole resistance in *Candida albicans*. J Clin Microbiol 2000;38(3):1214-20.
10. Pfaller MA, Rinaldi MG, Galgiani JN, et al. Collaborative investigation of variables in susceptibility testing of yeasts. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:1648-54.
11. Eldere JV, Joosten J, Verhaeghe A, et al. Susceptibility testing by National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method compared with E-test and semiautomated broth microdilution test. J Clin Microbiol 1996;34:842-7.

12. Barry AL, Pfäller MA, Brown SD, et al. Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. J Clin Microbiol 2000;38:3457-9.
13. Tunger Ö, Özbakkaloğlu B, Ecemiş T, et al. Vulvovajinitli kadınlarda maya mantarlarının sıklığı ve türlere göre dağılımı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2000;30:127-30.
14. Karaarslan A, Cengiz L, Boyacıoğlu İ, et al. Vulvovajinal kandidiazisli olgulardan izole edilen maya türlerinin dağılımı ve antifungallere duyarlılıklarının saptanması. Mikrobiyol Bült 1999;33:319-25.
15. Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin Microbiol Rev 1999;12:80-96.
16. D'Antonio D, Violante B, Mazzoni A, et al. A nosocomial cluster of *Candida inconspicua* infections in patients with hematological malignancies. J Clin Microbiol 1998;36:792-5.
17. Delaroziere JB, Blancard A, Molines C, et al. Analyse de tendance sur 20 mois de la sensibilité de *Candida albicans* aux antifongiques. J Mycol Med 2000;10:27-9.
18. Ermertcan Ş, İnci R, Hilmioğlu S, et al. Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* kökenlerinin flukonazole in vitro duyarlılığı. İnfeksiyon Derg 1998;12:531-3.
19. Kiraz N, Erturan Z, Uzun M, et al. Üç yüz *Candida albicans* suşunun amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve mikonazole karşı duyarlılıklarının araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1997;27:121-4.
20. Orozco AS, Higginbotham LM, Hitchcock CA, et al. Mechanisms of fluconazole resistance in *Candida krusei*. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:2645-9.