KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN DAĞILIMININ VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ*

Pınar ETİZ¹, Filiz KİBAR^{2,3}, Yağmur EKENOĞLU², Akgün YAMAN^{2,3}

¹Çukurova Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ADANA

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ADANA

³Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, ADANA

ÖZET

Kandidemi yüksek mortalite ile seyreden ciddi bir klinik tablodur. Son yıllarda *Candida* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve tedavide kullanılan antifungallerle ilgili önemli değişiklikler ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin tanımlanması ve bunların amfoterisin B, kaspofungin, flukonazol, flusitozin ve vorikonazole duyarlılıklarının retrospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Laboratuvarımıza Ocak 2013-Aralık 2014 döneminde gönderilen kan kültürlerinde tespit edilen maya üremeleri konvansiyonel yöntemler, germ tüp ve VITEK 2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize identifikasyon sistemi ile tiplendirilmiş ve antifungal duyarlılıkları VITEK 2 Compact sistemi ile belirlenmiştir.

İzole edilen 280 *Candida* suşunun 95'i (% 33.9) *Candida parapsilosis*, 77'si (% 27.5) *Candida albicans*, 45'i (% 16) *Candida tropicalis*, 27'si (% 9.6) *Candida glabrata*, dokuzar tanesi (% 3.2) *Candida kefir* ve *Candida lusitanae*, beşi (% 1.7) *Candida krusei*, dörder tanesi (% 1.4) *Candida famata* ve *Candida sphaerica*, ikisi (% 0.7) *Candida dubliniensis*, birer tanesi de (% 0.3) *Candida haemulonii*, *Candida norvegensis* ve *Candida pelliculosa* olarak tanımlanmıştır. Antifungal duyarlılık yorumlamaları *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei* olarak izole edilen 249 izolat için yapılmıştır.

Antifungallere dirençli *Candida* türlerinin saptandığı çalışmamızda, üreme saptanan kan kültürlerindeki *Candida* türlerinin tanımlanmasının ve antifungal duyarlılıklarının bildirilmesinin, tedaviyi yönlendirmek için önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: antifungal duyarlılık, *Candida* türleri, kan kültürü, kandidemi

SUMMARY

Retrospective Evaluation of Distribution and Antifungal Susceptibilities of *Candida* Species Isolated from Blood Cultures

Candidemia is a serious clinical presentation with a rather high mortality. Over the last years, there have been important changes in the epidemiology of *Candida* infections and antifungal agents used to treat these infections. In this study, the identification of the *Candida* species isolated from blood cultures and investigation of their susceptibilities against amphotericin B, caspofungin, fluconazole, flucytosine and voriconazole retrospectively were aimed.

Yeasts detected from blood cultures in our laboratory between January 2013 and December 2014 were identified by conventional methods, germ tube and VITEK 2 Compact (bioMérieux, France) automated identification system and susceptibilities to antifungal agents were determined by VITEK 2 Compact System.

Among 280 *Candida* spp., strains isolated, 95 (33.9 %) were identified as *Candida parapsilosis*, the others were identified as follows: 77 (27.5 %) *Candida albicans*, 45 (16 %) *Candida tropicalis*, 27 (9.6 %) *Candida glabrata*, nine (3.2 %) *Candida kefir*, nine (3.2 %) *Candida lusitanae*, five (1.7 %) *Candida krusei*, four (1.4 %) *Candida famata*, four (1.4 %) *Candida sphaerica*, two (0.7 %) *Candida dubliniensis*, one (0.3 %) *Candida haemulonii*, one (0.3 %) *Candida norvegensis* and one (0.3 %) *Candida pelliculosa*. Interpretation of antifungal susceptibility tests of *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei* isolates were made to 249 as described.

As a result of our study, in which *Candida* strains resistant to antifungal agents were isolated, identification to species level and determining antifungal susceptibilities of *Candida* species isolated from blood cultures is concluded to be important to guide treatment.

Keywords: antifungal susceptibility, blood culture, *Candida* species, candidemia

İletişim adresi: Pınar Etiz, Çukurova Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ADANA

Tel: (0322) 338 60 60/3097

e-posta: pinaretiz@yahoo.com

Alındığı tarih: 30.06.2015, Yayına kabul: 16.11.2015

*30. ANKEM Akılcı Antibiyotik Kullanımı Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No.PS-052 (06-10 Mayıs 2015, Girne-Kıbrıs)

GİRİŞ

Son yıllarda immün supresif tedavi alan hasta sayısının, büyük cerrahi girişimlerin ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının ve yoğun bakım ünitelerinde izlenen genel durumu bozuk hastaların artması ile tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere paralel olarak *Candida* infeksiyonlarının insidansında da artış gözlenmektedir⁽¹⁴⁾.

Candida türleri, ölümcül infeksiyonlara neden olabilen fırsatçı patojenlerdir. Bir veya birden fazla kan kültüründen izole edilmeleri kandidemi olarak tanımlanmakta olup, genellikle sepsis ve organ disfonksiyonu bulguları ile beraberliği gözlenmektedir⁽¹⁰⁾. Kandidemilerde en sık etken *Candida albicans* olmakla birlikte *albicans* dışı türlerin görülme sıklığı da giderek artmaktadır⁽¹¹⁾.

Kandidemi, tanısı ve tedavisi zor, diğer patojenlerle ortaya çıkmış septisemi olgularına göre daha yüksek mortaliteye sahip ciddi bir klinik tablodur⁽¹⁶⁾. Kandidemilerde mortalite oranı % 37.9-54 olarak bildirilmiştir. *Candida glabrata* ve *Candida tropicalis*'in etken olduğu olgularda, mortalitenin daha yüksek olduğu, *Candida parapsilosis*'in etken olduğu kandidemilerde ise daha düşük olduğu bildirilmiştir⁽¹⁰⁾.

Son yıllarda ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşması, fırsatçı fungal patojenlerin sık kullanılan antifungal ajanlara karşı duyarlılık paternlerinin değişmesine ve hatta buna paralel olarak, beraberinde direnç oranlarında da belirgin artışa yol açmaktadır^(1,14). Bu nedenle, uygun ve etkin antifungal tedavinin belirlenmesinde ve prognoz tahmininde, tür düzeyinde identifikasyon ve antifungal duyarlılık testlerini uygulamak büyük önem kazanmaktadır^(1,10,14).

Bu çalışmada, hastanemizde kandidemi etkeni olarak tanımlanan *Candida* türlerinin dağılımının ve antifungal ajanlara karşı in vitro duyarlılık paternlerinin araştırılarak tedavi planlamasına ışık tutulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'nde

Ocak 2013-Aralık 2014 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen 280 *Candida* suşu çalışmaya alınmıştır. Aynı hastadan izole edilen tekrarlayan suşlar çalışmaya alınmamıştır. Pediatrik hastalar için BACTEC Peds Plus ve erişkinler için BACTEC Plus aerobik besiyeri şişelerinde laboratuvarımıza gönderilen kan kültürleri BACTEC-FX otomatik kan kültürü (Becton Dickinson, ABD) cihazında inkübe edilmiştir. Besiyerleri yedi gün süreyle takip edilmiş ve bu süre içerisinde üreme sinyali veren şişelerden, % 5 koyun kanlı agar, MacConkey agar, PolyViteX katkılı çikolata agar (PVX) ve Sabouraud dekstroza agar (SDA) besiyerlerine pasaj yapılarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda üreyen mikroorganizmaların tanımlanmasında, konvansiyonel yöntemlerden besiyerinde koloni morfolojisi, Gram boyanma özellikleri ve germ tüp testi uygulanmıştır. Ayrıca identifikasyon ve antifungal duyarlılık testleri için VITEK 2 Compact® (bioMérieux, Fransa) sistemi ile identifikasyon kartları (YST) ve antifungal duyarlılık kartları (AST-YST01) kullanılarak, amfoterisin B, kaspofungin, flukonazol, flusitozin ve vorikonazole karşı duyarlılık durumları araştırılmıştır. Sonuçlar, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kılavuzlarında antifungal ajanlar için belirlenen eşik değerlere göre değerlendirilmiştir. Duyarlılık yorumlamaları *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei* olarak tanımlanan beş tür için yapılmıştır. *Candida* izolatlarının amfoterisin B ve flusitozine karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde CLSI M27-S3'te belirtilen sınır değerler kullanılırken; kaspofungin, flukonazol ve vorikonazole karşı duyarlılığın belirlenmesinde CLSI M27-S4'te belirtilen türe özgü sınır değerler kullanılmıştır^(5,6). *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei* için kullanılan sınır değerler Tablo 1'de gösterilmiştir.

BULGULAR

Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'nde Ocak 2013-Aralık 2014 tarihleri arasında çeşitli servislerden gönderilen kan kültürlerinde *Candida* türleri üreyen 272 hastaya ait toplam 280 örnek

Tablo 1. *Candida* suşlarının antifungal duyarlılığını değerlendirmede kullanılan CLSI standartları^(5,6).

Tür	Antifungal Ajan	CLSI M27-S3			CLSI M27-S4		
		S	SDD/I	R	S	SDD/I	R
<i>C.albicans</i>	Amfoterisin-B	≤1.0	2	≥4.0	-	-	-
	Kaspofungin	-	-	-	≤0.25	0.5	≥1.0
	Flukonazol	-	-	-	≤2.0	4.0	≥8.0
	Flusitozin	≤4.0	8-16	≥32	-	-	-
	Vorikonazol	-	-	-	≤0.12	0.25-0.5	≥1.0
<i>C.parapsilosis</i>	Amfoterisin-B	≤1.0	2	≥4.0	-	-	-
	Kaspofungin	-	-	-	≤2.0	4.0	≥8.0
	Flukonazol	-	-	-	≤2.0	4.0	≥8.0
	Flusitozin	≤4.0	8-16	≥32	-	-	-
	Vorikonazol	-	-	-	≤0.12	0.25-0.5	≥1.0
<i>C.tropicalis</i>	Amfoterisin-B	≤1.0	2	≥4.0	-	-	-
	Kaspofungin	-	-	-	≤0.25	0.5	≥1.0
	Flukonazol	-	-	-	≤2.0	4.0	≥8.0
	Flusitozin	≤4.0	8-16	≥32	-	-	-
	Vorikonazol	-	-	-	≤0.12	0.25-0.5	≥1.0
<i>C.glabrata</i>	Amfoterisin-B	≤1.0	2	≥4.0	-	-	-
	Kaspofungin	-	-	-	≤0.12	0.25	0.5
	Flukonazol	-	-	-	-	≤32	≥64
	Flusitozin	≤4.0	8-16	≥32	-	-	-
	Vorikonazol	-	-	-	-	-	-
<i>C.krusei</i>	Amfoterisin-B	≤1.0	2	≥4.0	-	-	-
	Kaspofungin	-	-	-	≤0.25	0.5	≥1.0
	Flukonazol	-	-	-	-	-	-
	Flusitozin	≤4.0	8-16	≥32	-	-	-
	Vorikonazol	-	-	-	≤0.5	1	≥2.0

incelenmiştir. Suşların izole edildiği olguların 119'u (% 43.75) kadın, 153'ü (% 56.25) erkektir.

Toplam 272 olgudan izole edilen 280 suşun 95'i *C.parapsilosis* (% 33.9), 77'si *C.albicans* (% 27.5), 45'i *C.tropicalis* (% 16), 27'si *C.glabrata* (% 9.6), dokuzar tanesi *Candida kefyr* ve *Candida lusitanae* (% 3.2), beşi *Candida krusei* (% 1.7), dörder tanesi *Candida famata* ve *Candida sphaerica* (% 1.4), ikisi *Candida dubliniensis* (% 0.7), birer tanesi de *Candia haemulonii*, *Candida norvegensis* ve *Candida pelliculosa* (% 0.3) olarak tanımlanmıştır. Beş olguda, aynı anda iki farklı *Candida* türü, (*C.famata*-*C.parapsilosis*, *C.kefyr*-*C.lusitanae*, *C.albicans*-*C.parapsilosis*, *C.glabrata*-*C.tropicalis* ve *C.albicans*-*C.glabrata*), üç olguda ise farklı zamanlarda iki ayrı *Candida* türü (*C.tropicalis*-*C.haemulonii*, *C.albicans*-*C.parapsilosis*, *C.glabrata*-*C.parapsilosis*) izole edilmiştir. Bu olgularda aynı anda farklı *Candida* türlerinin izolasyonu için, aynı plakta gözlenen farklı kolonilerden ayrı ayrı identifikasyon işlemi uygulanmış ve tanımlama için aynı VITEK YST kartları kullanılmıştır.

İzole edilen *Candida* türlerinin 121'i

(% 43.2) yoğun bakım ünitelerinde, 124'ü (% 44.2) dahili bilimlerde, 35'i (% 12.5) cerrahi bilimlerdeki servislerden gönderilen kan kültürlerinden izole edilmiştir. Yoğun bakım ve cerrahi servis hastalarında gelişen kandidemilerde en sık saptanan tür *C.parapsilosis*, dahili servis hastalarında ise *C.albicans* olmuştur. *Candida* türlerinin kan örneklerinin gönderildiği bölümlere göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. *Candida* türlerinin kan örneklerinin gönderildiği bölümlere göre dağılımı.

	Yoğun Bakım Üniteleri	Dahili Bilimler	Cerrahi Bilimler
<i>C.parapsilosis</i> (n=95)	50	31	14
<i>C.albicans</i> (n=77)	29	35	13
<i>C.tropicalis</i> (n=45)	21	19	5
<i>C.glabrata</i> (n=27)	11	15	1
<i>C.kefyr</i> (n=9)	3	5	1
<i>C.lusitanae</i> (n=9)	2	6	1
<i>C.krusei</i> (n=5)	1	4	0
<i>C.famata</i> (n=4)	2	2	0
<i>C.sphaerica</i> (n=4)	0	4	0
*Diğer (n=5)	2	3	0
Toplam	121	124	35

**C.dubliniensis* (n=2), *C.haemulonii* (n=1), *C.norvegensis* (n=1), *C.pelliculosa* (n=1)

Tablo 3. İzole edilen *Candida* türlerinin antifungal ajanlara göre belirlenen MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri.

Tür (n)	Antifungal Ajan	MİK Aralığı (µg/mL)	MİK ₅₀ (µg/mL)	MİK ₉₀ (µg/mL)
C.albicans (77)	Amfoterisin-B	≤0.25 - ≥16	1	1
	Kaspofungin	≤0.25 - 2	≤0.25	1
	Flukonazol	≤1 - 8	≤1	≤1
	Flusitozin	≤1 - ≤1	≤1	≤1
	Vorikonazol	≤0.12 - ≥8	≤0.12	≤0.12
C.parapsilosis (95)	Amfoterisin-B	≤0.25 - 4	0.5	1
	Kaspofungin	≤0.25 - 1	≤0.25	1
	Flukonazol	≤1 - ≥64	2	8
	Flusitozin	≤1 - ≤1	≤1	≤1
	Vorikonazol	≤0.12 - 1	≤0.12	0.25
C.tropicalis (45)	Amfoterisin-B	≤0.25 - 0.5	0.5	0.5
	Kaspofungin	≤0.25 - 2	≤0.25	1
	Flukonazol	≤1 - ≤1	≤1	≤1
	Flusitozin	≤1 - 32	≤1	≤1
	Vorikonazol	≤0.12 - ≤0.12	≤0.12	≤0.12
C.glabrata (27)	Amfoterisin-B	≤0.25 - 2	0.5	1
	Kaspofungin	≤0.25 - 1	≤0.25	1
	Flukonazol	≤1 - 16	2	4
	Flusitozin	≤1 - ≤1	≤1	≤1
	Vorikonazol	≤0.12 - 1	≤0.12	0.25
C.kefyr (9)	Amfoterisin-B	1 - 2	1	2
	Kaspofungin	≤0.25 - 1	≤0.25	0.5
	Flukonazol	≤1 - ≤1	≤1	≤1
	Flusitozin	≤1 - 16	1	4
	Vorikonazol	≤0.12 - ≤0.12	≤0.12	≤0.12
C.lusitanae (9)	Amfoterisin-B	≤0.25 - 1	1	1
	Kaspofungin	≤0.25 - 1	≤0.25	≤0.25
	Flukonazol	≤1 - ≤1	≤1	≤1
	Flusitozin	≤1 - 8	1	2
	Vorikonazol	≤0.12 - ≤0.12	≤0.12	≤0.12
C. krusei (5)	Amfoterisin-B	0.5-2	0.5	2
	Kaspofungin	≤0.25-≤0.25	≤0.25	1
	Flukonazol*	-	-	-
	Flusitozin	2-16	2	16
	Vorikonazol	≤0.12 - ≤0.12	≤0.12	≤0.12
**C. famata (4)	Amfoterisin-B	0.5-0.5		
	Kaspofungin	0.5-1		
	Flukonazol	≤1-2		
	Flusitozin	≤1-16		
	Vorikonazol	≤0.12 - ≤0.12		
**C. sphaerica (4)	Amfoterisin-B	1-2		
	Kaspofungin	≤0.25-≤0.25		
	Flukonazol	≤1-≤1		
	Flusitozin	1-16		
	Vorikonazol	≤0.12 - ≤0.12		
**C. dubliniensis (2)	Amfoterisin-B	≤0.25-≤0.25		
	Kaspofungin	≤0.25-≤0.25		
	Flukonazol	≤1-≤1		
	Flusitozin	≤1 - ≥64		
	Vorikonazol	≤0.12 - ≤0.12		
***C. haemulonii (1)	Amfoterisin-B	4		
	Kaspofungin	≤0.25		
	Flukonazol	32		
	Flusitozin	≤1		
	Vorikonazol	≤0.12		
***C. norvegensis (1)	Amfoterisin-B	1		
	Kaspofungin	≤0.25		
	Flukonazol	2		
	Flusitozin	≤1		
	Vorikonazol	≤0.12		
***C. pelliculosa (1)	Amfoterisin-B	≤0.25		
	Kaspofungin	1		
	Flukonazol	32		
	Flusitozin	≤1		
	Vorikonazol	≤0.12		

*C.krusei flukonazole doğal dirençli olduğundan MİK değeri belirtilmemiştir.

**C.famata, C.sphaerica, C.dubliniensis için sadece sadece MİK aralıkları belirtilmiştir.

***C.haemulonii, C.norvegensis, C.pelliculosa için sadece MİK değerleri belirtilmiştir.

C.albicans, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata* ve *C.krusei* izolatları için belirlenen antifungal duyarlılık testi sonuçlarına göre, flusitozine bir adet *C.tropicalis* izolatında direnç gözlenmiştir. Amfoterisin B'ye karşı *C.albicans* izolatlarının üç tanesinde, *C.parapsilosis* ve *C.glabrata*'nın birer tanesinde direnç gözlenmiştir. Kaspofungine onaltı *C.albicans*, beş *C.tropicalis* ve sekiz *C.glabrata* izolatının dirençli olduğu tespit edilmiştir. Flukonazol için bir adet *C.albicans* ve onyeddi *C.parapsilosis* izolatında direnç tespit edilmiştir. *C.krusei* flukonazole doğal dirençli olduğundan tüm izolatlar dirençli olarak belirlenmiştir. Vorikonazole karşı *C.albicans* izolatlarının üç tanesinde, *C.parapsilosis*'in ise iki tanesinde direnç gözlenmiştir. İzole edilen tüm *Candida* türlerinin MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Tablo 3'te, duyarlılık değerlendirmesi yapılan beş türe ait 249 suşun antifungal duyarlılıkları Tablo 4'te gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Günümüzde tıp alanındaki gelişmelere bağlı olarak, invazif fungal infeksiyonlar için risk altındaki populasyon giderek artmakta ve buna paralel olarak, hastane kökenli fungal infeksiyonların % 80'inden fazlasından sorumlu olan ve hastane kökenli kan dolaşım infeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer alan *Candida* türleri, her geçen gün önem kazanmaktadır. Son yıllarda, özellikle *albicans* dışı *Candida* türlerinin etken olduğu infeksiyonlarda dikkat çekici artışlar gözlenmektedir^(8,23).

İnsanda hastalık yapan *Candida* türlerinin sayısı 17'den fazla olmakla birlikte, kandidemilerin % 95'inden fazlasında etken olarak beş tür (*C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata* ve *C.krusei*) izole edilmektedir. En sık saptanan tür *C.albicans* olmakla birlikte bazı çalışmalarda ilk sırayı *C.parapsilosis* almaktadır⁽²³⁾.

Tablo 4. İzole edilen *Candida* türlerinin antifungal duyarlılıkları (n).

Tür	Sayı	Antifungal Ajan	CLSI M27-S3			CLSI M27-S4		
			S	DBD/I	R	S	DBD/I	R
<i>C. albicans</i>	77	Amfoterisin-B	66	6	3	-	-	-
		Kaspofungin	-	-	-	52	9	16
		Flukonazol	-	-	-	76	0	1
		Flusitozin	77	0	0	-	-	-
		Vorikonazol	-	-	-	74	0	3
<i>C.parapsilosis</i>	95	Amfoterisin-B	94	0	1	-	-	-
		Kaspofungin	-	-	-	95	0	0
		Flukonazol	-	-	-	71	7	17
		Flusitozin	95	0	0	-	-	-
		Vorikonazol	-	-	-	82	11	2
<i>C.tropicalis</i>	45	Amfoterisin-B	45	0	0	-	-	-
		Kaspofungin	-	-	-	29	11	5
		Flukonazol	-	-	-	45	0	0
		Flusitozin	44	0	1	-	-	-
		Vorikonazol	-	-	-	45	0	0
<i>C.glabrata</i>	27	Amfoterisin-B	26	0	1	-	-	-
		Kaspofungin	-	-	-	0	19	8
		Flukonazol	-	-	-	-	27	0
		Flusitozin	27	0	0	-	-	-
		Vorikonazol	-	-	-	-	-	-
<i>C.krusei</i>	5	Amfoterisin-B	3	20	-	-	-	-
		Kaspofungin	-	-	-	5	0	0
		Flukonazol***	-	-	-	0	0	5
		Flusitozin	1	4	0	-	-	-
		Vorikonazol	-	-	-	5	0	0

*S: Hassas, R: Dirençli, DBD: Doza Bağlı Duyarlı

**(-) CLSI M27-S4'te sınır değerler belirtilmemiş

****C.krusei* flukonazole doğal dirençli

Kan dolaşımı infeksiyonu etkeni olan *Candida* türlerinin görülme sıklıkları coğrafi bölgelere ve ülkelere göre değişiklik göstermektedir⁽²³⁾. Dünya geneline baktığımızda, Güney Kore’de yapılan bir çalışmada *C.albicans* % 38, *C.parapsilosis* % 26, *C.tropicalis* % 20 olarak tespit edilmiştir⁽¹³⁾. İspanya’da yapılan bir çalışmada ise, *C.parapsilosis* % 41.5, *C.albicans* % 35.8, *C.glabrata* % 9.4 olarak bulunmuştur⁽⁹⁾. Ülkemizden bildirilmiş kandidemi olgularında, çeşitli merkezlerden farklı oranlar verilmekle beraber, çoğunlukla *C.albicans* birinci sırada, *C.parapsilosis* ise ikinci sırada yer almaktadır. Gültekin ve ark.⁽¹⁰⁾ *C.albicans*’ı % 49, *C.parapsilosis*’i % 23, *C.tropicalis*’i % 14 olarak bulmuşlarken, bu oranları Çalışkan ve ark.⁽⁸⁾ % 57, % 14, % 14 şeklinde, Öztürk ve ark.⁽¹⁶⁾ % 53, % 30, % 5.5 olarak belirlemişlerdir. Şahiner ve ark.⁽²³⁾ çalışmasında ise, sık görülen etkenler sırasıyla *C.parapsilosis* (% 38.5), *C.tropicalis* (% 30.8) ve *C.albicans* (% 26.9) olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda, kandidemi etkeni olarak birinci sırada *C.parapsilosis* (% 33.9), ikinci sırada *C.albicans* (% 27.5) üçüncü sırada ise *C.tropicalis* (% 16) bulunmuştur. Diğer merkezlerle kıyasladığımızda *C.parapsilosis* oranımız daha yüksek, *C.albicans* oranımız ise düşük olarak görülmektedir. Bu durum, tüm dünyada olduğu gibi hastanemizde de *albicans* dışı *Candida* türlerinin giderek daha da önem kazanacağını bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca çalışmamızda tanımlanan *Candida* türleri arasında *C.sphaerica* ve *C.haemulonii* gibi nadir görülen türlerde bulunmaktadır. Bu tür tanımlamalarının ek testlerle doğrulanması önerilse de çalışmamız retrospektif bir çalışma olduğundan ek testler yapılamamıştır. Yuan-Ruan Sheng ve ark.⁽²¹⁾ *C.haemulonii* infeksiyonu tespit ettikleri üç olguda VITEK 2’nin *C.haemulonii*’yi tanımlama oranını % 98.5, % 95 ve % 99 olarak belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise VITEK 2 *C.sphaerica* ve *C.haemulonii*’yi tanımlama oranını % 95 olarak bildirmiştir. Ayrıca çalışmamız retrospektif olduğundan *C.dubliniensis*, *C.norvegensis*, *C.pelliculosa* olarak tanımlanan diğer *Candida* türleri için de ek bir doğrulama testi yapılamamıştır.

Çalışmamızda olguların beşinde aynı anda iki *Candida* türü, (*C.famata*-*C.parapsilosis*, *C.kefyr*-*C.lusitaniae*, *C.albicans*-*C.parapsilosis*, *C.glabrata*-

C.tropicalis ve *C.albicans*-*C.glabrata*) izole edilmiştir. Ülkemizde ve yurt dışında yapılan çeşitli çalışmalarda polifungal kandidemi oranları % 2-5 arasında bildirilmiştir^(12,17). Polifungal infeksiyonlarda antifungal tedavinin geniş spektrumlu olması hayati önem taşımaktadır. Çalışmamızda polifungal kandidemi etkeni olan türler çocuk yoğun bakım ve dahiliye onkoloji servislerinde yatmakta olan hastalardan izole edilmiştir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında antimikrobiyal duyarlılık testlerinin hızlı ve doğru olarak yapılması, tedaviyi yönlendirme ve enfeksiyon kontrolü açısından önemlidir. Antifungal duyarlılık testlerinde in vitro standardizasyonu sağlamak için sıvı mikrodilüsyon yöntemi, CLSI ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) tarafından prosedürleri belirlenmiş ve referans metod olarak kabul edilmiştir^(8,18). Bu yöntemin sonuç vermesinin 48 saati bulabilmesi ve, bilgili, tecrübeli çalışan gerektirmesi nedeniyle yoğun iş akışı olan laboratuvarlarda kullanımı pratik değildir. Yapılan çalışmalarda ticari yöntemler ile referans yöntemler arasında iyi bir esansiyel uyum (+2 dilüsyon aralığı) ve kategorik uyum (duyarlı, orta duyarlı ve dirençli suşlarda uyum) tespit edilmiştir⁽⁷⁾. Çalışmamızda, *Candida* türlerinin hızlı tanısı ve antifungal duyarlılık için geliştirilmiş, patojen kabul edilen çok sayıda maya türünü güvenilir bir şekilde tanımlayabilen VITEK 2 Compact® Otomatize (bioMérieux, France) sistemi kullanılmıştır. VITEK 2 Compact® otomatize sistemi, antifungal duyarlılık testlerinde tekrarlanabilirliğinin iyi olması ve CLSI’nin referans yöntem olarak belirttiği sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle % 90’dan fazla uyum göstermesi nedeniyle laboratuvarımız rutin çalışmalarında tercih edilmiştir⁽³⁾. *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık profilleri, amfoterisin B ve flusitozin için CLSI M27-S3 kılavuzunda önerilen direnç sınır değerlerine göre belirlenirken, kaspofungin, flukonazol ve vorikonazol için CLSI M27-S4 kılavuzunda belirtilen türe özgü sınır değerlere göre belirlenmiştir^(5,6).

Amfoterisin B, poliyen türevi bir antifungal ajandır. Amfoterisin B’ye karşı direnç nadir görülmekle beraber, Türkiye’deki bazı merkezlerden ve dünyanın çeşitli yerlerinden değişik

oranlarda (% 2-20) amfoterisin B direnci bildirilmiştir^(1,4,16,25). Amfoterisin B'ye en duyarlı tür *C.albicans*'tır. *C.glabrata* ve *C.krusei* suşlarında *C.albicans* ile kıyaslandığında amfoterisin B'ye azalmış duyarlılık gözlenebilir. Borghi ve ark.⁽²⁾ *Candida* spp., *C.neoformans* ve *Geotrichum capitatum* suşlarına karşı amfoterisin B duyarlılığını Vitek 2 ve CLSI 27-A2 ile karşılaştırmaları sonucunda; % 99.5 uyumlu bulmuşlardır. Shin ve ark.⁽²²⁾ *Candida* izolatlarında VITEK 2 ile elde ettikleri amfoterisin B direncini CLSI ve EUCAST'ın önerdiği sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırdıklarında % 92 uyumlu bulmuşlardır. Cuenca-Estrella ve ark.⁽⁷⁾ maya izolatlarında antifungal direncin in vitro tespiti için VITEK 2 ile CLSI ve EUCAST'ın önerdiği sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve sensititre Yeast One ve E-Test yöntemini karşılaştırdıkları çalışmalarında VITEK 2 otomatize sistemini in vitro azol ve amfoterisin B direncini belirlemede güvenilir bir yöntem olarak belirtmişlerdir. VITEK 2 antifungal duyarlılık sisteminin CLSI ve EUCAST ile uyumunu *Candida* türleri için > % 97 olarak belirtmişlerdir. Tayvan'da üç yıllık sürede yapılan bir çalışmada kandan izole edilen 383 *Candida* izolatından sadece üçü amfoterisin B'ye dirençli bulunmuştur⁽⁴⁾. Bizim çalışmamızda toplamda amfoterisin B'ye % 2 oranında direnç belirlenmiştir. *C.albicans* izolatlarının üç tanesinde (% 3), *albicans* dışı türler içerisinde *C.parapsilosis* ve *C.glabrata*'nın birer tanesinde (% 0.5) direnç bulunurken değerlendirilen diğer türlerde herhangi bir dirence rastlanmamıştır.

Kaspofungin suda çözünen, semi-sentetik bir ekinokandin olup *Candida* türlerine etkinliği oldukça iyidir. Çalışma sonuçlarımıza göre tüm suşlarda kaspofungin için elde edilen MİK değerleri, kullanılan yöntemle bağlı olarak ≤ 0.25 -2 µg/mL arasında değişiklik göstermektedir. Ekinokandinlerin etki spektrumunun yüksek olduğu bilinen *C.albicans* suşlarında diğer türler ile kıyaslandığında kaspofungine yüksek MİK değerleri saptanmıştır. Bu da büyük olasılıkla çalışmamızda kullanılan yöntem ve antifungal ajandan kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda toplamda kaspofungine % 11 oranında direnç tespit edilmiştir. *C.albicans* izolatlarının 16 tanesinde (% 20), değerlendirilen *albicans* dışı türler içerisinde *C.tropicalis*'in beş tanesinde (% 3) ve

C.glabrata'nın sekiz tanesinde (% 5) direnç saptanmıştır. Kaspofungin direnç oranlarında laboratuvarlar arasında uyumsuzluk olması nedeniyle artık test için kullanılması önerilmemektedir. Gültekin ve ark.⁽¹¹⁾ kan kültüründen izole ettikleri 46 *Candida* spp. suşunun tamamını kaspofungine duyarlı olarak bulmuşlardır. Pfaller ve ark.⁽¹⁸⁾ çalışmasında, farklı ülkelerdeki merkezlerde kandan izole edilen toplam 934 *Candida* suşunda kaspofungin için direnç oranı *C.krusei*'de % 12.5 olmuştur.

Flukonazol, geniş etki spektrumlu olması ve toksisitesinin az olmasından dolayı yaygın kullanıma sahip bir antifungal ajandır. Farklı çalışmalarda flukonazol direnci değişen oranlarda tespit edilmiştir. Kuzucu ve ark.⁽¹⁵⁾ yoğun bakım ünitesinde yaptıkları bir çalışmada, tüm *Candida* izolatlarında % 14 oranında flukonazol direncine rastlamışlardır. Kandidemi tespit edilen suşlarda, Zepelin ve ark.⁽²⁴⁾ flukonazol direnç oranını % 3.7, olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda flukonazol direnci toplamda % 9 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdaki flukonazol direncinin değerlendirilen türlere göre dağılımına baktığımızda, *C.albicans* izolatlarının bir tanesinde (% 1) direnç görülürken, değerlendirilen *albicans* dışı *Candida* türlerinden *C.parapsilosis* izolatlarının 17'sinde (% 10) flukonazole karşı direnç bulunmuştur. *C.krusei* flukonazole doğal dirençli olduğundan değerlendirme yapılmamış ve dirençli olarak kabul edilmiştir. Bunun dışında, değerlendirilen diğer türlerde herhangi bir dirence rastlanmamıştır.

Flusitozin pirimidin analogu olan bir antifungal ajandır. *Candida* suşlarında flusitozin direncini yüksek sayılabilecek oranlarda bildiren çalışmalar yanında flusitozine çok düşük direnç oranları bildiren birçok çalışma bulunmaktadır. Öztürk ve ark.⁽¹⁶⁾ kandidemi saptanan suşlarda yaptıkları çalışmada, sadece bir adet (% 3) *C.glabrata* izolatında flusitozin direnci gözlemlemiş, diğer *Candida* türlerinin hepsi flusitozine duyarlı bulmuşlardır. Çalışkan ve ark.⁽⁸⁾ yaptıkları çalışmalarında flusitozine orta derecede duyarlı bir *C.glabrata* suşu tespit etmişlerdir. Zer ve ark.⁽²⁵⁾ yoğun bakımlardan izole ettikleri *Candida* türlerinde flusitozin direncini % 20 olarak bulmuşlardır. Çalışmamıza dahil edilen *Candida* suşları içinde en düşük direnç % 0.4

oranı ile fusitozin için ve sadece *C.tropicalis* olarak tanımlanan tek bir suşta belirlenmiştir.

Vorikonazol *Candida* türleri, *C.neoformans*, *Trichosporon* türleri, *Aspergillus* türleri, *Fusarium* türleri ve endemik dimorfik patojenlere etkili olan, geniş spektrumlu, triazol grubundan bir antifungal ajandır⁽¹⁾. Literatürlerde test edilen tüm suşların vorikonazole duyarlı bulunduğu çalışmalar yanında, dirençli *Candida* suşlarının rapor edildiği araştırmalar da mevcuttur^(16,20). Öztürk ve ark.⁽¹⁶⁾ vorikonazol direncini düşük düzeyde (% 8) ve sadece *C.albicans* olarak tanımlanan izolatlarda gözlemlemişlerdir. Çalışkan ve ark.⁽⁸⁾ kan kültüründen izole ettikleri tüm *Candida* türlerini vorikonazole duyarlı olarak bulmuşlardır. Yurt dışında ise Almanya'da Zepelin ve ark.⁽²⁴⁾ yaptığı çalışmada düşük oranda (% 0.4) vorikonazol direnci tespit edilmiştir. Brezilya'da Santos ve ark.⁽¹⁹⁾ tarafından yapılan çalışmada vorikonazole direnci % 0.47 oranında bulmuşlardır. Çalışmamızda vorikonazol direnci toplamda % 2 olarak belirlenmiştir. Direncin türlere göre dağılımına baktığımızda, *C.albicans* izolatlarının üçünde (% 4) direnç görülürken, *albicans* dışı *Candida* türlerinden *C.parapsilosis* izolatlarının ikisinde (% 1) vorikonazole karşı direnç tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, test ettiğimiz tüm antifungalde değişik oranlarda direnç tespit edilmesi, *Candida* infeksiyonlarının tedavisinde tür tanımlamasının ve antifungal duyarlılık testlerinin rutin olarak yapılmasının hem kendi hastanemizin antifungal kullanım protokollerinin belirlenmesine katkı sağlaması hem de yurt genelinde yapılacak daha geniş kapsamlı tedavi protokollerinin hazırlanmasına faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bayram Y, Gültepe B, Özlük S, Güdücüoğlu H. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması, *Van Tıp Derg* 2012;19(4): 177-81.
2. Borghi E, Iatta R, Sciota R et al. Comparative evaluation of the Vitek 2 yeast susceptibility test and CLSI broth microdilution reference method for testing antifungal susceptibility of invasive fungal isolates in Italy: GISIA3 study, *J Clin Microbiol* 2010;48(9):33153-57.
3. Bourgeois N, Dehandschoewercker L, Bertout S, Bousquet PJ, Rispaill P, Lachaud L. Antifungal susceptibility of 205 *Candida* spp isolated primarily during invasive candidiasis and comparison of the vitek 2 system with the CLSI broth microdilution and E-test methods, *J Clin Microbiol* 2010;48(2):154-61.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.1096-09>
PMid:19889902
4. Cheng MF, Yu KW, Tang RB et al. Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species causing candidemia from 1996 to 1999, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;48(1):33-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2003.08.002>
PMid:14761719
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 3rd ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008 (Approved standard. M27-S3).
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth informational supplement. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012 (Document M27-S4).
7. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez M, Alastruey-Izquierdo A et al. Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the clinical and laboratory standards institute (CLSI) an European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the sensititre yeastone and E-test techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates, *J Clin Microbiol* 2010;48(5):1782-86.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02316-09>
PMid:20220169
8. Çalışkan E, Dede A, Biten Güven G. Kan kültürlerinde saptanan *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2013;27(1): 25-30.
<http://dx.doi.org/10.5222/ankem.2013.025>
9. Durán MT, Velasco D, Canle D, Moure R, Villanueva R. Antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolates from blood cultures in a five-year period (1997-2001), *Enferm Infect Microbiol Clin* 2003;21(9):488-92.
PMid:14572381
<http://dx.doi.org/10.1157/13052332>
10. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edi-

- len *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi, *ANKEM Derg* 2010;24(4):202-8.
11. Gültekin B, Eyigör M, Tiryaki Y, Kırdar S, Aydın N. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarında antifungal duyarlılığın ve bazı virülans faktörlerinin araştırılması ve RAPD-PCR ile genotiplendirilmesi, *Mikrobiyol Bul* 2011;45(2):306-17.
 12. Gürcüoğlu E, Ener B, Akalın H et al. Epidemiology of nosocomial candidaemia in a university hospital: a 12-year study, *Epidemiol Infect* 2010;138(9):1328-35.
 13. Jung SI, Shin JH, Song JH et al and Korean Study Group for Candidemia. Multicenter surveillance of species distribution and antifungal susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates in South Korea, *Med Mycol* 2010;48(4):669-74.
<http://dx.doi.org/10.3109/13693780903410386>
PMid:20392145
 14. Keçeli Özcan S, Mutlu B, Dünder D, Willke A. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* spp. suşlarının antifungal ilaçlara karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde buyyon mikrodilasyon ile E-test yöntemlerinin karşılaştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2010;44(2):263-71.
PMid:20549961
 15. 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):115-9.
 16. Öztürk T, Özseven AG, Sesli Çetin E, Kaya S. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarının tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması, *Kocatepe Tıp Derg* 2013;14(1):17-22.
 17. Pappas PG, Rex JH, Lee J et al. A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients, *Clin Infect Dis* 2003;37(5):634-43.
<http://dx.doi.org/10.1086/376906>
PMid:12942393
 18. Pfaller MA, Castanheira M, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus fumigatus*: application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiologic cutoff values to characterize resistance in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2009), *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;69(1):45-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.08.013>
PMid:21146713
 19. Santos ERD, Forno CFD, Hernandez MG et al. Susceptibility of *Candida* spp isolated from blood cultures as evaluated using the M27-A3 and new M27-S4 approves breakpoints, *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2014;56(6):477-82.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652014000600004>
PMID: 25351540
 20. Saracli MA, Gumral R, Gul HC, Gonlum A, Yildiran ST. Species distribution and in vitro susceptibility of *Candida* bloodstream isolates to six new and current antifungal agents in a Turkish Tertiary Care Military Hospital recovered through 2001 and 2006, *Mil Med* 2009;174(8):860-5.
PMid:19743744
<http://dx.doi.org/10.7205/MILMED-D-04-7808>
 21. Sheng-Yuan Ruana S, Yao-Wen Kuoa, Chun-Ta Huang, Han-Chung Hsiueb, Po-Ren Hsueh. Infections due to *Candida haemulonii*: species identification, antifungal susceptibility and outcomes, *Int J Antimicrob Agents* 2010;35(1):85-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.08.009>
PMid:19786341
 22. Shin JH, Kim MN, Jang SJ et al. Detection of amphotericin B resistance in *Candida haemulonii* and closely related species by use of the Etest, Vitek 2 yeast susceptibility system and CLSI and EUCAST broth microdilution methods, *J Clin Microbiol* 2012;50(6):1852-5.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.06440-11>
PMid:22442324
 23. Şahiner F, Ergünay K, Özyurt M, Ardıç N, Hoşbul T, Haznedaroğlu T. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Candida* suşlarının genotipik ve fenotipik olarak tanımlanması, *Mikrobiyol Bul* 2011;45(3):478-88.
PMid:21935781
 24. Zepelin MB, 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 July 2004 to August 2005, *J Antimicrob Chemother* 2007;60(4):424-8.
 25. Zer Y, Balcı İ. Yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen *Candida* suşlarının identifikasyonu ve antifungal duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2002;32(3):230-4.