

Levuri izolate din urină și sensibilitatea lor la antifungice

CRISTINA ȚENEĂ*, OLGA DOROBĂȚ

Institutul Național de Boli Infecțioase "Matei Balș", București, Romania

Primit (Received): 16.09.2008 / Acceptat (Accepted): 11.10.2008

Yeasts isolated from urine and their susceptibility to antifungal agents

Abstract: *Aim.* To identify the yeasts species isolated from urine and to determine the susceptibility to antifungal agents. *Material and method.* A total number of 141 strains isolated between 1.01.2007- 30.06.2008 at National Institute of Infectious Diseases "Matei Balș" – Bucharest (Romania) were identified with ID32C (bioMérieux, France). Antifungal susceptibility tests were made for 5-fluorocytosine, amphotericin B, fluconazole, itraconazole and voriconazole using ATB Fungus 2 și 3. (bioMérieux, France). MIC to caspofungin was established by Etest for some of the strains. *Results.* The number of urinary tract infections produced by fungi increased in the last months (86 strains isolated in 2007 and 55 in the first six months 2008). There were identified 55 strains *C. albicans* (39%), 22 *C. glabrata* (15,6%), 20 *C. tropicalis* (14,1%), 10 *Trichosporon asahii* (7,09%) and 9 *C. kefir* (6,3%). The other strains were *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (4), *C. inconspicua/norvegensis* (4), *C. valida* (2), *C. utilis* (2), *C. guilliermondii*, *C. sake* and *C. parapsilosis*, each with one strains. The majority of the strains were susceptible to 5-fluorocytosine and amphotericin B. Resistance to fluconazole varied between 27.2% and 30%, to itraconazole 31.8% - 70% and to voriconazole 15% - 40%. The most resistant species were *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *Trichosporon asahii*. *Discussions.* It is necessarily to establish the yeast species and to determine the susceptibility to antifungal agents for the optimal treatment of infection.

Keywords: *infections of the urinary tract, mycological screening, Trichosporon asahii, Candida glabrata, Candida albicans, antifungal susceptibility*

Rezumat: *Scop.* Identificarea speciilor de levuri izolate din urină și cunoașterea sensibilității lor la antifungice. *Material și metodă.* Un număr de 141 tulpini de levuri izolate în perioada 1.01.2007 – 30.06.2008 în Institutul Național de Boli Infecțioase "Matei Balș" au fost identificate cu stripuri ID32C (bioMérieux, Franța). Testarea sensibilității la agenții antifungici 5-fluorocitozină, amphotericină B, fluconazol, itraconazol și voriconazol s-a efectuat cu ATB Fungus 2 și 3 (bioMérieux, Franța). CMI-ul pentru caspofungină s-a stabilit pentru o parte dintre tulpini prin utilizarea benzilor Etest. *Rezultate.* Numărul de infecții urinare produse de levuri a crescut în ultimele luni (86 tulpini izolate în 2007 și 55 în primele șase luni ale anului 2008). Au fost identificate 55 tulpini *C. albicans* (39%), 22 *C. glabrata* (15,6%), 20 *C. tropicalis* (14,1%), 10 *Trichosporon asahii* (7,09%) și 9 *C. kefir* (6,3%). Alte tulpini izolate au fost: *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (4), *C. inconspicua/norvegensis* (4), *C. valida* (2), *C. utilis* (2), *C. guilliermondii*, *C. sake* și *C. parapsilosis*, câte o tulpină din fiecare. Majoritatea tulpinilor au fost sensibile la 5-fluorocitozină și amphotericină B. Rezistența la fluconazol a fost între 27,2% și 30%, la itraconazol 31,8% - 70% și la voriconazol 15% - 40%. Cele mai rezistente specii au fost *C. glabrata*, *C. tropicalis* și *Trichosporon asahii*. *Discuții.* Este necesar să se identifice specia de levură izolată și să se determine sensibilitatea la substanțele antifungice pentru stabilirea tratamentului optim al infecției.

Cuvinte cheie: *infecțiile tractului urinar, screening micologic, Trichosporon asahii, Candida glabrata, Candida albicans, sensibilitate la antifungice*

Introducere

Infecția tractusului urinar (ITU) este una dintre cele mai frecvente condiții patologice; ea poate fi inaparentă, depistată întâmplător, sau dimpotrivă, manifestă. Afectează oricare segment al

căilor urinare și din cauza raporturilor anatomice, odată instalată într-un segment se extinde și la celelalte. Uneori este un episod acut, autolimitat la căile urinare inferioare (1). Etiologia ITU este dominată de flora Gram-negativă, dar în ultimul

* Cristina Țeneă

Str. Daniel Bărcianu, nr. 36, ap. 1, sector 3, 030901-București (Romania), Tel: +40740591476, Email: crista_tenea@yahoo.com

timp s-a constatat creșterea incidenței fungilor în special la pacienții cu staționare îndelungată în secțiile de terapie intensivă. Dacă inițial *Candida albicans* determina uretricitite la diabeticii necontrolați metabolic (1), în ultimul timp infecțiile urinare fungice apar din ce în ce mai frecvent la pacienți cu risc crescut dat de: tratamentele îndelungate cu antibiotice, sondaje urinare (2), administrarea tratamentelor imunosupresoare în neoplasme sau transplant renal, corticoterapie, la imunodeprimați prin HIV, diabet, insuficiență renală cronică, ciroză sau alte boli grave hematologice (2, 3, 4). Date epidemiologice recente relevă faptul că, deși *Candida albicans* se menține pe primul loc în etiologia fungică a infecțiilor urinare, s-a observat totuși o creștere semnificativă a circulației tulpinilor de *Candida non-albicans* dintre care cele mai frecvente sunt *C. glabrata* și *C. tropicalis* (4). Alți agenți fungici raportați în etiologia infecțiilor urinare au fost: *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *Rhodotorula spp.* și a unor tulpini rare precum *Trichosporon asahii* (2,4) sau specii de *Candida* considerate a fi cu patogenitate scăzută precum *C. utilis* care s-a dovedit a fi agent patogen al unor infecții urinare cronice (4).

Din punct de vedere clinic, de cele mai multe ori, cistitele candidozice sunt asimptomatice sau pot da polachiurie, disurie, și dureri suprapubiene. Alteori, elementele fungice pot produce obstrucții urinare și hematurie. Ocazional prin extinderea candidozei la nivel renal pot produce necroze papilare sau abcese perinefretice traduse prin febră rezistentă la tratament antibiotic și deteriorarea inexplicabilă a funcției renale (3). Diagnosticul candidozelor urinare se pune pe baza uroculturii pozitive pentru fungi. Speciile de *Candida* fiind în mod normal comensale la om, nivelul la care candiduria reflectă o infecție urinară reală și nu o simplă colonizare sau contaminare este necunoscut, diferențierea făcându-se prin prezența sau absența leucocituriei, de aceea principalele semne paraclinice pe care le căutăm în urină sunt: piuria care semnalează inflamația și candiduria, care indică agentul etiologic (1).

Material și metodă

Scopul acestui studiu a fost acela de a evidenția frecvența crescută a infecțiilor urinare fungice, speciile cele mai frecvent implicate, precum și sensibilitatea lor la antifungice. Au fost luate în studiu 141 de tulpini fungice izolate din urină atât la bărbați cât și la femei, în perioada 01.01.2007-30.06.2008 în Institutul Național de

Boli Infecțioase “Matei Balș”, eliminându-se duplicatele. Însămânțările s-au făcut fie pe Agar Sabouraud sau cromagar CAN2 când se bănuia etiologia fungică a ITU, fie pe medii uzuale pentru uroculturi cu repicaje ulterioare pe Sabouraud dacă natura fungică a infecției era descoperită întâmplător. Din culturile pozitive au fost selectate cele cu o încărcătură mai mare de 40000 ufc/ml și leucociturie pozitivă. Identificarea izolatelor s-a făcut în sistemul ATB-Expression (bioMérieux, Franța), folosindu-se truse ID32C. Testarea sensibilității la antifungice s-a efectuat inițial în sistem automat, cu truse ATB fungus 2, panouri cu diluții binare pentru patru antifungice: 5-flucitozină, amfotericină B, fluconazol și itraconazol, ulterior cu ATB fungus 3 la care pe lângă cele patru antifungice s-a adăugat și voriconazolul. Testarea la caspofungină și voriconazol s-a efectuat doar în cazul tulpinilor rezistente la azoli (fluconazol și itraconazol) sau a izolatelor rare, cum ar fi *T. asahii*, folosind benzi E-test pentru determinarea CMI și agar RPMI-MOPS. Interpretarea rezultatelor a fost făcută conform normelor CLSI.

Rezultate

În perioada luată în studiu, s-au izolat exceptând dublurile, 141 tulpini fungice din care 86 în decursul anului 2007 și 55 în primele 6 luni ale anului în curs. Dintre cele 141 de tulpini, 96 (reprezentând 68%) au fost izolate la femei, iar 45 (reprezentând 32%) la bărbați. În ceea ce privește proveniența probelor, 21 (14,8%) erau recoltate din secția de terapie intensivă, 4 probe (2,8%) din pediatrie, iar restul de 116 probe (82,2%) din secțiile de adulți. Identificarea izolatelor arată următoarea repartitie pe specii: 55 tulpini (39%) au fost *Candida albicans*, 76 tulpini (53,9%) *Candida non albicans*, iar 10 tulpini (7,09%) *Trichosporon asahii*. Distribuția pe specii a tulpinilor de *Candida non-albicans* este prezentată în tabelul 1.

Rezultatele testării sensibilității la antifungicele cuprinse în trusele ATB fungus 3 sunt prezentate în tabelele 2 - 6. La caspofungină, antifungic testat inconstant, toate tulpinile de *Candida* au fost sensibile. În schimb, la *T. asahii*, din 9 tulpini testate, toate au prezentat rezistență.

Discuții

Din rezultatele studiului se constată în primul rând o creștere a incidenței ITU de origine fungică în anul în curs față de cel precedent. Dacă în tot anul 2007 s-au raportat 86 cazuri, în 2008, numai în primele 6 luni s-au înregistrat 55 de cazuri

ceea ce înseamnă o creștere de aproximativ 21%. Acestea au predominat la femei (68%) față de 32% la bărbați, explicabil prin particularitățile anatomice și de vecinătate ale aparatului urinar la vârsta adultă.

Deși aparent *C. albicans* se află pe primul loc în etiologia fungică a infecțiilor urinare cu un procent de 39%, comparativ cu celelalte specii de *Candida* izolate într-o proporție de sub 22% totuși, față de totalul tulpinilor de *Candida non-albicans*, ponderea *C.albicans* a scăzut foarte mult, înregistrându-se în schimb o creștere alarmantă a incidenței speciilor *non-albicans*. Dintre acestea, cele mai frecvente au fost *C. glabrata* în proporție de 15,6% și *C.tropicalis* 14,1%, urmate de *C. kefyr* cu 6,3%. După cum se observă din tabelul 1, restul speciilor, datorită proporției reduse, nu prezintă interes statistic decât încadrate în marea grupa a *C. non-albicans*.

Este de remarcat numărul mare de probe pozitive cu *T. asahii* - 10 izolate reprezentând 7,09% din totalul probelor intrate în studiu, din care 3 izolate în 2007 și 7 în prima jumătate a anului 2008, toate provenind de la pacienți internați în terapie intensivă sau care fuseseră internați vreme îndelungată în această secție și transferați ulterior în alte secții. În literatura de specialitate sunt menționate rare cazuri de trichosporoză urinară apărută la bolnavi gravi din secții de terapie intensivă care au primit tratament îndelungat cu antibiotice. Toate raportările referitoare la *T. asahii* fac trimitere la pacienți gravi din secțiile de terapie intensivă, la care acesta a fost izolat. Infecția cu *T.*

asahii este rară, dar a fost asociată cu un spectru larg de manifestări clinice, de la afecțiuni superficiale la persoane imunocompetente, până la infecții sistemice grave la imunodeprimați (5). De aceea, izolarea sa la astfel de gazde, în special în secțiile ATI, nu poate fi ignorată ca fiind colonizare, deoarece există riscul dezvoltării unei trichosporoză invazive.

În ceea ce privește sensibilitatea la antifungice, dacă majoritatea tulpinilor intrate în studiu au fost sensibile la 5-flucitozină și amfotericină B după cum se poate observa în tabelele 2 și 3, la azoli au fost sensibile majoritatea tulpinilor de *C. albicans*, în schimb pentru tulpinile *non-albicans* s-a constatat o rezistență crescută, cuprinsă între 27,2% și 30% la fluconazol, între 31,8 și 70 % la itraconazol și între 15 și 40% la voriconazol, speciile cele mai rezistente fiind: *C. glabrata* și *C.tropicalis*. Referitor la *T. asahii*, acesta a prezentat rezistență la azoli între 30% și 70% și de 100% la caspofungină.

Concluzionând, numărul cazurilor de infecții urinare cu etiologie fungică este în creștere, speciile cele mai des izolate, cu excepția *Candida albicans*, fiind *C. glabrata* și *C. tropicalis*, acestea fiind și cele mai rezistente la antifungice. Incidența crescută a fungilor în structura etiologică a infecțiilor urinare dictează necesitatea reevaluării diagnosticului etiologic și a tratamentului la bolnavii din secțiile ATI și urologie, incluzându-se în *screening* și investigații micologice.

Tabelul 1
Speciile de *Candida non-albicans* izolate

Specia izolată	Număr tulpini	%
<i>C. glabrata</i>	22	15,6
<i>C. tropicalis</i>	20	14,1
<i>C. kefyr</i>	9	6,3
<i>C. krusei</i>	5	3,5
<i>C. lusitaniae</i>	4	2,8
<i>C. inconspicua/norvegensis</i>	4	2,8
<i>C. valida</i>	2	1,4
<i>C. utilis</i>	2	1,4
<i>C. guilliermondii</i>	1	0,7
<i>C. sake</i>	1	0,7
<i>C. parapsilosis</i>	1	0,7
<i>Candida spp.</i>	5	3,5
TOTAL	76	53,9

Tabelul 2
Rezultatele testării la 5-flucitozină

Specia izolată	S		SDD		R	
	n	%	n	%	n	%
<i>C. glabrata</i>	22	100	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	20	100	0	0	0	0
<i>C. kefyr</i>	8	90	1	10	0	0
<i>C. krusei</i>	3	60	0	0	2	40
<i>C. lusitaniae</i>	3	75	0	0	1	25
<i>C.inconspicua/norvegensis</i>	3	75	0	0	1	25
<i>C. valida</i>	2	100	0	0	0	0
<i>C. utilis</i>	1	50	0	0	1	50
<i>C. guilliermondii</i>	1	100	0	0	0	0
<i>C. sake</i>	1	100	0	0	0	0
<i>C.parapsilosis</i>	1	100	0	0	0	0
<i>Candida spp.</i>	5	100	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	55	100	0	0	0	0
<i>Trichosporon asahii</i>	9	90	0	0	1	10

Tabelul 3
Rezultatele testării la Amfotericină B

Specia izolată	S		SDD		R	
	n	%	n	%	n	%
<i>C. glabrata</i>	22	100	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	20	100	0	0	0	0
<i>C. kefyr</i>	9	100	0	0	0	0
<i>C. krusei</i>	5	100	0	0	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	4	100	0	0	0	0
<i>C. inconspicua/norvegensis</i>	3	75	1	25	0	0
<i>C. valida</i>	2	100	0	0	0	0
<i>C. utilis</i>	2	100	0	0	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	1	100	0	0	0	0
<i>C. sake</i>	1	100	0	0	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	1	100	0	0	0	0
<i>Candida spp</i>	5	100	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	55	100	0	0	0	0
<i>Trichosporon asahii</i>	9	90	1	10	0	0

Tabelul 6
Rezultatele testării la Voriconazol

Specia izolată	S		SDD		R	
	n	%	n	%	n	%
<i>C. glabrata</i>	17	77,2	0	0	5	22,7
<i>C. tropicalis</i>	16	80	1	5	3	15
<i>C. kefyr</i>	9	100	0	0	0	0
<i>C. krusei</i>	5	100	0	0	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	4	100	0	0	0	0
<i>C. inconspicua/norvegensis</i>	4	100	0	0	0	0
<i>C. valida</i>	2	100	0	0	0	0
<i>C. utilis</i>	2	100	0	0	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	1	100
<i>C. sake</i>	1	100	0	0	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	1	100	0	0	0	0
<i>Candida spp</i>	5	100	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	55	100	0	0	0	0
<i>Trichosporon asahii</i>	6	60	0	0	4	40

Tabelul 4
Rezultatele testării la Fluconazol

Specia izolată	S		SDD		R	
	n	%	n	%	n	%
<i>C. glabrata</i>	13	59	3	13,6	6	27,2
<i>C. tropicalis</i>	11	55	3	15	6	30
<i>C. kefyr</i>	8	88,8	1	11,1	0	0
<i>C. krusei</i>	2	40	3	60	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	4	100	0	0	0	0
<i>C. inconspicua/norvegensis</i>	4	100	0	0	0	0
<i>C. valida</i>	2	100	0	0	0	0
<i>C. utilis</i>	2	100	0	0	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	1	100
<i>C. sake</i>	1	100	0	0	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	1	100	0	0	0	0
<i>Candida spp</i>	3	60	1	20	1	20
<i>C. albicans</i>	52	94,5	2	3,6	1	1,8
<i>Trichosporon asahii</i>	7	70	0	0	3	30

Tabelul 7
Aspecte comparative privind rezistența speciilor izolate din infecții urinare

Specii izolate	SFC		AMB		FCA		ITR		VO	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Candida albicans</i> 55 tulpini 39%	0	0	0	0	1	1,8	1	1,8	0	0
<i>Candida non-albicans</i> 76 tulpini 53,9 %	5	6,5	0	0	14	18,4	23	30,2	9	11,8
<i>Trichosporon asahii</i> 10 tulpini 7,09 %	1	10	0	0	3	30	7	70	4	40

Bibliografie

1. Buiuc D, Neagu M (eds). *Tratat de Microbiologie Clinică*; București: Ed. Medicală; 1999.
2. Karabak B I, Popov S V, Shmel'kov I – Fungal infections of the lower urinary tract in urological patients; *Terapeuticheskii Arkhiv* 2007; 79(11):49-52.
3. Hazen K C, Howell S A. *Candida, Cryptococcus and other Yeasts of Medical importance*. In: Murray P R, Baron E J, James H et al. (eds). *Manual of Clinical Microbiology*; 8th edn., Philadelphia: ASM Press, 2003:1726-1742.
4. Hazen K C, Theisz G W, Howell S A – Chronic Urinary Tract Infection Due to *Candida utilis*; *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37:824-827.
5. Wolf D G, Falk R, Hacham M et al. – Multidrug-resistant *Trichosporon asahii* infection of nongranulocytopenic patients in three intensive care units; *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39(12):4420-4425.

Tabelul 5
Rezultatele testării la Itraconazol

Specia izolată	S		SDD		R	
	n	%	n	%	n	%
<i>C. glabrata</i>	12	54,5	3	13,6	7	31,8
<i>C. tropicalis</i>	11	55	0	0	9	45
<i>C. kefyr</i>	8	88,8	1	11,1	0	0
<i>C. krusei</i>	2	40	2	40	1	20
<i>C. lusitaniae</i>	3	75	1	25	0	0
<i>C. inconspicua/norvegensis</i>	1	25	1	25	2	50
<i>C. valida</i>	0	0	2	100	0	0
<i>C. utilis</i>	0	0	1	50	1	50
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	1	100
<i>C. sake</i>	1	100	0	0	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	1	100	0	0	0	0
<i>Candida spp</i>	3	60	0	0	2	40
<i>C. albicans</i>	52	94,5	2	3,6	1	1,8
<i>Trichosporon asahii</i>	2	20	1	10	7	70