

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS)

**FLUKONAZOLUN *CANDIDA* CİNSİ MAYALAR ÜZERİNE
ETKİSİNİN DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

BAŞAK ER

**DANIŞMAN
PROF. DR. MELTEM UZUN**

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİMDALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

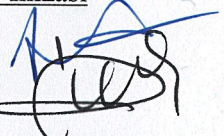
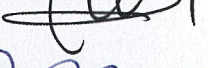
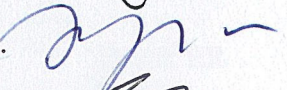

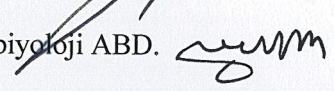
İSTANBUL-2011

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Başak Er tarafından hazırlanan "Flukonazolun Candida Cinsi Mayalar Üzerine Etkisinin Disk Difüzyon Yöntemi ile Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

26 / 07 / 2011

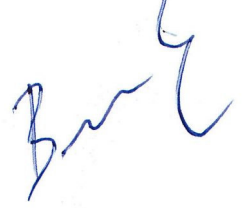
Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof Dr Şengül Derbentli	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD. 
2.Prof Dr Dilek İnanç Yaylalı	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fak. 
3.Prof Dr Meltem Uzun (Danışmanı)	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD. 
4.Prof Dr Zayre Erturan	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD. 
5.Prof Dr Gülten Ötük	İÜ.Eczacılık Fak. Farmasötik Mikrobiyoloji ABD. 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Başak ER



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Başta yakın ilgi ve desteğini gördüğüm hocam İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Bülent Gürler'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, değerli bilgilerinden yararlandığım, sevgi ve şefkatini her zaman hissettiğim, eğitimimin her aşamasında ve tez çalışmalarımın yürütülmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Meltem Uzun'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Emel Bozkaya, Sayın Prof. Dr. Selim Badur, Sayın Prof. Dr. Şengül Derbentli, Sayın Prof. Dr. Nezahat Gürler, Sayın Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu, Sayın Prof. Dr. O. Şadi Yenen, Sayın Prof. Dr. Ali Ağaçfidan, Sayın Prof. Dr. Çiğdem Kayacan, Sayın Prof. Dr. Betigül Öngen, Sayın Prof. Dr. M. Derya Aydın, Sayın Prof. Dr. Y. Ali Öner, Sayın Prof. Dr. Zayre Erturan, Sayın Doç. Dr. Özden Büyükbaba Boral ve Sayın Doç. Dr. Zerrin Aktaş'a,

Eğitimim süresince her zaman yanımda olan bilgilerini ve desteklerini esirgemeyen, tüm içtenlikleriyle yol gösteren Sayın Dr. Dilek Şatana ve Sayın Dr. Gonca Erköse Genç'e,

Eğitimimin ilk yıllarında yol gösteren Sayın Dr. Serdar Susever'e,

Yüksek lisansa başladığım ilk günlerden itibaren dostluklarını esirgemeyen Dr. Defne Gümüş, M.Sc. Seyda İğnak, M.Sc. Özlem Güven, M.Sc. Mehmet İlktaç, M.Sc. Kutay Sarsar, Bio. Kenan Akbulut'a,

Ayrıca çalışmalarımızda her zaman desteklerini gördüğüm Bio. Didem Özperçin, Bio. Esra Yıldırım, Bio. Bahriye Ören ve Sercan Aslan'a

Hayatımın her döneminde yanımda olan, beni destekleyen ve her kararlarımaya saygılı olan ailemin tüm üyelerine teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 7008

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET.....	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	4
2.3. Genel özellikler ve Hücre yapısı	4
2.3.1. Hücre sitoplazması.....	4
2.3.2. Hücre membranı.....	4
2.3.3. Hücre iskeleti.....	5
2.3.4. Hücre duvarı ve Antijenik yapı.....	5
2.4. Morfoloji ve Boyanma özellikleri	6
2.5. Üreme ve Biyokimyasal özellikleri	6
2.6. Tür tanısı	7
2.6.1. Koloni morfolojisi.....	8
2.6.2. Germ tüpü oluşumunun incelenmesi.....	8
2.6.3. Klamidospor oluşumunun incelenmesi	8
2.6.4. Asimilasyon ve Fermentasyon testleri	9
2.6.5. Serolojik testler	11
2.6.6. Moleküler yöntemler	11
2.7. Tıbbi önemi olan <i>Candida</i> türleri	11
2.7.1. <i>Candida albicans</i>	11

2.7.2. Candida glabrata	12
2.7.3. Candida kefyr.....	12
2.7.4. Candida krusei	12
2.7.5. Candida parapsilosis.....	12
2.7.6. Candida tropicalis	13
2.7.7. Candida dubliniensis	13
2.7.8. Candida guilliermondii.....	13
2.8. Epidemiyoloji	13
3. ANTİFUNGAL MADDELER.....	17
3.1. Polyenler	17
3.2. Antimetabolitler.....	18
3.3. Alilaminler	18
3.4. Ekinokandinler	18
3.5. Azoller.....	19
3.5.1. İmidazoller.....	19
3.5.2. Triazoller	19
3.5.2.1. Flukonazol	19
3.5.2.2. Itrakonazol	20
3.5.2.3. Vorikonazol.....	20
3.5.2.4. Posakonazol	20
3.5.2.5. Ravukonazol	20
3.5.2.6. Albakonazol	21
4. ANTİFUNGAL DİRENÇ MEKANİZMALARI	22
4.1. AZOLLERE KARŞI GELİŞTİRİLEN DİRENÇ MEKANİZMALARI.....	22
4.1.1. Ergosterol biyosentezindeki değişiklikler	22
4.1.2. ERG11'de değişiklikler	22
4.1.3. Antifungal girişi ve metabolizması	23
5. ANTİFUNGAL DUYARLILIK DENEYLERİ.....	24
5.1. Mayalar için kullanılan standart sıvı dilüsyon yöntemleri.....	24
5.1.1. Makrodilüsyon yöntemi	24
5.1.2. Mikrodilüsyon yöntemi	25
5.1.3. Kolorimetrik yöntem.....	26
5.1.4. Spektrofotometrik yöntem.....	27

5.1.5. Flow sitometri yöntemi	27
5.2. Agar bazlı duyarlılık deneyleri.....	27
5.2.1. Disk difüzyon yöntemi	27
5.2.2. NeoSensitabs.....	29
5.2.3. E-test:	29
6. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
6.1. Kullanılan besiyerleri – Kimyasallar ve hazırlanmaları	30
6.1.1. 0,165mol/L MOPS ile tamponlanmış RPMI 1640 besiyeri	30
6.1.2. Sabouraud dekstroz agar besiyeri (Difco)	30
6.1.3. % 1 Tween 80 ilaveli mısır unlu jeloz (Acumedia) (MUJ)	31
6.1.4. Flukonazol stok solüsyonu	31
6.1.5. %2 Glikoz ve 0.5µg/ml metilen mavisi ilaveli Mueller-Hinton Agar	31
6.2. Deneylerin uygulanması	31
6.2.1. Mikrodilüsyon yöntemi	32
6.2.2. Disk difüzyon yöntemi	32
7. BULGULAR	34
8. TARTIŞMA	42
9. KAYNAKLAR	49
ETİK KURUL KARARI	57
ÖZGEÇMİŞ	58

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: <i>C. albicans</i> - <i>C. dubliniensis</i> ayırımında kullanılan parametreler.....	9
Tablo 2: Klinik açıdan önemli <i>Candida</i> türlerinin üreme, fermentasyon ve asimilasyon özellikleri (18).....	10
Tablo 3: <i>Candida</i> türlerinin insan florasındaki dağılımı	14
Tablo 4: Sistemik etkili antifungal ilaçların spektrumu ve etki dereceleri.....	21
Tablo 5: M27-A3'e göre sınır değerler	26
Tablo 6: M44-A'ya göre standart suşların flukonazol için sınır değerleri	28
Tablo 7: M44-A'ya göre flukonazol için sınır değerler.	28
Tablo 8: M44-S2'ye göre vorikonazol için sınır değerler.	28
Tablo 9: Flukonazolün standart suşlar için belirlenen MİK değerleri.....	34
Tablo 10: Flukonazolün MİK değerlerinin suşlara göre dağılımı.....	35
Tablo 11: <i>Candida</i> türleri için flukonazolün MİK50 ve MİK90 değerleri	36
Tablo 12:Flukonazolün standart suşlar için belirlenen zon çapları (mm)	36
Tablo 13: <i>Candida</i> suşlarının disk difüzyon yöntemiyle flukonazole karşı duyarlılık sonuçları.....	39
Tablo 14:Flukonazolün <i>Candida</i> suşlarına karşı oluşturduğu MİK değerleri ve MİK değerlerine karşılık gelen 24/48saatlik zon çapları.....	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: 48 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirilen mikroplak	35
Şekil 2: <i>C. glabrata</i> -24 saatlik inkübasyon.....	37
Şekil 3: <i>C. glabrata</i> -48 saatlik inkübasyon (30mm)	37
Şekil 4: <i>C. glabrata</i> (duyarlı-37mm)	37
Şekil 5: <i>C. albicans</i> (duyarlı-40mm).....	37
Şekil 6: <i>C. glabrata</i> (dirençli-14mm).....	38

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

NCCLS :National Committee of Clinical Laboratory Standards

CLSI :Clinical and Laboratory Standards Institute

ATCC: American Type Culture Collection

MUJ: Mısır Unlu Jeloz

SDA: Sabouraud Dekstroz Agar

MİK: Minimal İnhibitör Konsantrasyon

HIV: Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome/Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu

VVK: Vulvo Vajinal Kandidiyasiz

ABCT: ATP binding cassette transporters

MF: Major Facilitators

MOPS: (3-(N-morpholino) propanesulfonic acid)

PCR: Polimerase Chain Reaction/ Polimeraz Zincir Reaksiyonu

BAL: Bronkoalveoler Lavaj

ÖZET

Er B. Flukonazolün *Candida* cinsi mayalar üzerine etkisinin disk difüzyon yöntemi ile araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2011

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı Laboratuvarında izole edilen 50 *Candida* suşu kullanılmış ve bu suşların flukonazole duyarlılıkları mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş, sonuçlar karşılaştırılmıştır.

API 20C AUX ile yapılan tanımlama sonucunda 50 *Candida* suşunun 22'si (%44) *C. albicans*, 20'si(%40) *C. glabrata*, 6'sı(%12) *C. parapsilosis*, 2'si (%4) *C. tropicalis* olarak belirlenmiştir. Uygulanan mikrodilüsyon yönteminde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından yayımlanan M27-A3 rehberi standart alınmış ve 50 *Candida* suşunun 49'u (%98) flukonazole duyarlı, bir *C. glabrata* (%2) suşu doza bağlı duyarlı olarak saptanmış; disk difüzyon yönteminde National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından yayımlanan M44-A rehberi standart alınmış ve 50 *Candida* suşunun 49'u (%98) flukonazole duyarlı, farklı bir *C. glabrata* (%2) suşu dirençli olarak saptanmıştır.

İki yöntem tüm *Candida* suşları için karşılaştırıldığında %96 uyum, %2 minör hata, %2,04 majör hata; 22 *C. albicans*, altı *C. parapsilosis*, iki *C. tropicalis* suşu için %100 uyum; 20 *C. glabrata* suşu için %90 uyum, %5 minör hata, %5,26 majör hata tespit edilmiştir.

Çalışmanın sonucunda iki yöntem arasında önemli bir fark bulunmamış, bu nedenle *Candida* türlerinin flukonazole duyarlılıklarının belirlenmesinde uygun maliyetli ve uygulanabilirliği daha kolay olan disk difüzyon yönteminin kullanılabileceği belirlenmiştir. Ancak *C. glabrata* suşlarında %5 minör hata, %5,26 majör hata tespit edildiğinden bu suşlarla yapılan duyarlılık deneylerinde mikrodilüsyon yönteminin tercih edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler : *Candida*, flukonazol, mikrodilüsyon yöntemi, disk difüzyon yöntemi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 7008

ABSTRACT

ER B.(2011). Investigation of the effect of fluconazole to *Candida* spp by disk diffusion method. Istanbul University, Institute of Health Science. Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Yükek Lisans Tezi İstanbul.

In this study, 50 *Candida* strains were used which were isolated in Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Mycology Laboratory. Susceptibility of these strains to fluconazole was determined by microdilution and disk diffusion methods and results were compared with each other.

As a result of the identification by the API 20C AUX 22 (44%) out of 50 strains were determined as *C. albicans*, 20 (40%) were *C. glabrata*, 6 (12%) were *C. parapsilosis*, 2 (4%) were *C. tropicalis*. Microdilution method was applied according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M27-A3 guideline, 49 (98%) out of 50 were found to be susceptible to fluconazole and one *C. glabrata* (2%) strain was identified as susceptible dose-dependent. The disk diffusion method was applied according to the National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS) M44-A guideline, 49(98%) out of 50 were found to be susceptible to fluconazole and a different (2%) *C. glabrata* strain was identified as resistant.

When two methods compared to each other 96% agreement 2% minor error, 2.04% major error were detected. The agreement was 100% for 22 *C. albicans*, six *C. parapsilosis*, two *C. tropicalis* strains. The agreement, minor error and major error were detected as 90%, 5%, 5.26% for *C. glabrata* strains respectively.

As a result of the study no significant difference was found between the two methods. For this reason disk diffusion method which is cost effective and easy to perform, can be used for the determination of susceptibility of *Candida* species to fluconazole. Because 5% minor error and 5,26% major error were found for *C. glabrata* strains, it was concluded that, microdilution method can be preferred in the susceptibility testing of these strains.

Key words: *Candida* spp, fluconazole, microdilution method, disk diffusion method

The present work was supported by the Research Found of İstanbul University Project No: 7008

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyada geniş yayılım gösteren mantarlar sağlıklı kişilerin deri, sindirim sistemi ve genitoüriner sistem normal florasında bulunurlar(1,2). Normal flora üyelerinin çeşitli hazırlayıcı faktörler varlığında etken hale geçmesine fırsatçı enfeksiyon, bu enfeksiyonda etken olan mikroorganizmaya ise fırsatçı patojen denmektedir(1). Karsinom, obezite, diabetes mellitus, yaşlılık, kötü ekonomik koşullar, gebelik, kemoterapi, yoğun sitotoksik tedavi, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, radyasyon, hücrel immun yetmezlik, nöropeni, ciddi yanıklar, narkotik bağımlılığı, tedavi amaçlı kullanılan yeni protezlerin ve parenteral beslenmenin geniş çapta uygulanması, invazif girişimler, kemik iliği ve solid organ transplantasyonu olan hastalarda uygulanan teknikler ve terapiler (1-7) fırsatçı patojenin etken haline geçmesinde rol oynayan hazırlayıcı faktörler arasında yer almaktadır(1).

Günümüzde giderek artış gösteren fırsatçı mantar enfeksiyonları, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir (8). Fırsatçı mikozların en önemli etkenlerinden biri *Candida* cinsi mayalardır (8,9). İnvazif mantar enfeksiyonlarının %90'ı *Candida* cinsi mayalar ile oluşmakta ve en sık izole edilen beş etken *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* olarak bildirilmektedir (9).

İmmün sistemi baskılanmış hasta popülasyonu ve buna paralel olarak fungal enfeksiyonların insidansındaki artış, tedavi ve direnç sorununu da beraberinde getirmiş ve bu durum standart duyarlılık deneylerine duyulan gereksinimi arttırmıştır (10). Bu bağlamda 1992 yılında National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS)/Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından başlatılan çalışmalarla bugüne kadar beş rehber yayımlanmıştır. Bugün standart rehber olarak makrodilüsyon-mikrodilüsyon yöntemlerini içeren M27/A3 ve disk difüzyon yöntemini içeren M44-A kullanılmaktadır (11,12).

Günümüzde mukokutanöz ve sistemik hastalıklarda, cerrahi operasyon ve transplantasyon sonrası profilakside yan etkileri daha az bir azol bileşiği olan flukonazol tercih edilmektedir (10,13). Flukonazolün mayalar üzerine etkisini belirlemek amacıyla pratikteki kullanımı ve uygulanması daha güç olan mikrodilüsyon ve maliyeti daha yüksek olan E-test gibi yöntemler kullanılsa da, disk difüzyon yöntemi pratik,

uygulanması kolay ve maliyeti düşük bir yöntem olarak bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda *Candida* cinsi mayaların flukonazole duyarlılıkları, disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış ve sonuçlar mikrodilüsyon yöntemiyle karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Candida infeksiyonlarının bilinen ilk tanımı MÖ 4. yy'da Hipokrat'ın 'Epidemics' isimli eserine kadar uzanmaktadır. Hipokrat eserinde bazı infeksiyonları 'altta yatan ağır hastalığı olan kimselerde aft ve ağızda pamukçuk' olarak tanımlamıştır. Kandidiyazın modern tıpta ilk bildirilmesi 1771 yılında Rosenvon Rosenstein'in pamukçuğu tanımlaması ile başlamıştır. 1784'de ise Underwood tarafından çocuklarda infeksiyon oluştuğu gösterilmiştir. 1835'te Veron ilk kez özafagus kandidiyazını tarif etmiş ve hastalığın yenidoğana doğum yolundan geçtiği sırada bulaştığını ifade etmiştir (14).

Etken Langenbeck tarafından 1839'da tifüslü bir hastanın ağızındaki pamukçuk lezyonlarından alınan kazıntı örneğinde tespit edilmiş fakat görülen bu yapı tifüs etkeni olarak düşünülmüştür. Bu yanlış tanımlama Gruby'nin 1842 yılında mikroorganizma ve pamukçuk arasında ilişki kurması ve mikroorganizmayı *Sporotrichum* olarak sınıflandırılması ile son bulmuştur. Bennett, 1844'de tüberkülozlu bir hastanın balgamında *C. albicans* morfolojisine benzeyen bir mantarı gözlemlemiş ve resmetmiştir (14).

Bu gelişmeleri takip eden yıllarda birçok patolojik durum mayalar ile ilişkilendirilmiştir. 1849'da Wilkinson vajinal kandidiyazı tanımlamış, 1875'te Haussemann vajinal kandidiyaz ile pamukçuk arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. 1904 yılında Dubendorfer, onikomikoz; 1907'de Jacobi, dermatit; 1910'da Rafin, sistit; 1912'de Castellani, bronkoalveolar kandidiyaz; 1923'te Forbes , kronik mukokutanöz kandidiyaz; 1928'de Conner osteomyelit; 1940'da Joachim ve Polayes endokardit; 1943'te Miale, endoftalmit ile sonuçlanan endojen diseminasyon olgularını bildirmişlerdir. Ayrıca Castellani 1912 yılında "tea testers' cough"u tanımlarken infeksiyonda *Candida albicans* dışı mayaların etken olabileceğini bildirmiştir (14).

Bugüne kadar *Candida* türleri için birçok isim kullanılmıştır. Fakat kullanılan bütün isimler 1954 yılında Paris'te yapılan 8th Botanical Congress'de onaylanan '*Candida*' altında birleştirilerek kabul edilmiştir(14).

Yirminci yüzyılın ikinci yarısından sonra antibiyotik kullanımındaki ve immün sistemi hasarlı hasta popülasyonundaki artış mantar hastalıklarının, özellikle *Candida* infeksiyonlarının görülme sıklığını arttırmıştır. Bu durum araştırmacıları *Candida* türlerini incelemeye yöneltmiştir. Böylece *Candida* cinsi mayaların patojenite mekanizmaları ve daha az yan etkili antimikotik ilaç çalışmaları hız kazanmıştır (3).

2.2. Sınıflandırma

Candida cinsi Fungi aleminin, Deuteromycota şubesinde, Blastomycetes sınıfında, Cryptococcales takımında, Cryptococcaceae ailesinde yer almaktadır (15). *Candida* cinsi mayaların 220'yi aşkın türü bulunmaktadır (16).

2.3. Genel özellikler ve Hücre yapısı

Candidalar 2-8 X 3-15 µm büyüklüğünde, oval veya küre şeklinde, ince hücre duvarına sahip, tomurcuklanarak veya bölünerek çoğalan mayalardır. Üremeleri 20-40 °C'de; pH 2-8'de; karbon, azot, fosfat kaynakları ve biyotinin varlığında gerçekleşmektedir (2,7,17,18).

2.3.1. Hücre sitoplazması

Candidalar ökaryotik hücre organizasyonuna sahiptirler. Sitoplazmalarında zarla çevrili bir çekirdek; çekirdeğin içinde çekirdekçik ve linear kromozomlar bulunmaktadır. Hücresel elemanlar mitokondri, Golgi aygıtı, 80 S ribozomlar başta olmak üzere yağ, protein, karbonhidrat vezikülleri ve olgun hücrelerde vakuollerdir. Hücre duvarı ve hücre membranı ile bağlantılı olan hücre iskeleti komponentleri de sitoplazmada yer almaktadır (2,7,17).

2.3.2. Hücre membranı

Hücre membranı yaklaşık 7 nm kalınlığında, hareketli ve birçok molekülü üzerinde barındıran bir yapıdır (17). Moleküllerin iç ve dış ortamlara transferinde rol alan otoenzimler, kitin sentetaz gibi duvar komponentlerinin sentezinde rol alan enzimler (17) ile *C. albicans'* in morfogenezi için gereken sinyal iletiminde rol alan fosfolipaz C, adenilat siklaz, proteaz gibi enzimleri içerir. Ayrıca fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin ve fosfatidil inozitol gibi fosfolipidler de hücre membranında bulunurlar (19).

Membran lipidlerinin % 20'si steroldür ve bu sterollerin % 95'i antifungal ilaçların en önemli hedefi olan ergosterol formundadır (19).

2.3.3. Hücre iskeleti

Candida cinsi mayalarda hücre duvarı ve hücre membranı ile ilişkili; turgor basıncına karşı koyan , dinamik yapıda hücre iskeleti vardır. Hücre iskeleti mitoz/mayoz bölünme, tomurcuklanma, septum oluşumu ve protein kinaz gibi bazı enzimlerin sentezlenmesinde rol oynar. Hücre iskeleti elemanlarından mikrotübüller; membranın hareketliliğinde rol oynar, aktin; sitoplazmik akışkanlığı sağlar ve miyozin ise aktinle birlikte organellerin hareketliliğinde rol alırlar (20).

2.3.4. Hücre duvarı ve Antijenik yapı

Hücre membranının etrafında hücrenin bütünlüğünü koruyan ve çevre ile etkileşimini sağlayan sert hücre duvarı bulunmaktadır. Hücre duvarı yapısında bulundurduğu çeşitli bileşenler sayesinde moleküllerin hücre içine ve dış ortama transportunda, maya formundan hif formuna geçişte, adezyonda ve immunomodulator etkide rol oynar (2,17, 21-24).

Hücre duvarı yapısında, %80-90 oranında polisakkarit, %5-20 oranında protein ve %1-7 oranında lipit ihtiva eder (24).

Hücre duvar bileşenlerinin büyük kısmını oluşturan polisakkaritler üç ana grupta incelenebilir: β glukanlar, kitin, mannanlar (24).

Yapısında glukoz zinciri barındıran ve hücre duvarı polisakkaritlerinin %60'a (22) yakınına meydana getiren 1,3 β glukan ve 1,6 β glukan hücre duvar bütünlüğünden ve sertliğinden sorumludur. Kitin, hücre duvarının iç kısmında sitoplazma membranına yakın kısımda bulunur. Filamentöz mantarlarda hif formunun ana bileşeni olan kitin, *Candida* cinsi mayalarda tomurcuklanma, germ tüp oluşumu ve gerçek hif oluşumu ile ilişkilidir. Hücre duvar polisakkaritlerinin %40'ına (22, 24) yakınına oluşturan mannan , mannoprotein olarak proteinlerle kovalent bağlı şekilde bulunur. Mannoproteinler adhezyondan, diğer hücreler ile iletişimden ve bazı enzimatik reaksiyonlardan sorumludur. Ayrıca mannoproteinler major antijenik bileşiklerdir (17,21,22,24).

Hücre duvar komponentinin geri kalanı protein ve lipidlerden oluşmaktadır. Protein ve polipeptid yapılar hücre duvarı polisakkaritlerine bağlanarak fosfoglikopeptid oligomerlerini ve polimerlerini oluşturur. Bunlardan en önemlileri N-asetil-glikoz-aminidaz, asit fosfataz, glukonaz ve proteinazdır (17,21,22,24).

2.4. Morfoloji ve Boyanma özellikleri

Candida türleri 2-8 X 3-15 µm boyutlarında; kültürden hazırlanan preparatlarında genellikle oval veya yuvarlak olarak görülen; çoğu zaman tomurcuklanma (blastospor veya blastokonidyum oluşturma) ile çoğalan; ökaryotik hücre organizasyonu gösteren tek hücreli mikroorganizmalardır (2,7,18).

Tomurcuklanan hücrelerin birbirinden ayrılmayarak uzun bir zincir oluşturmasıyla meydana gelen yapıya “yalancı hif ” veya “psödohif” denmektedir. Psödohif oluşturmanın yanısıra *C. albicans*, *C. dubliniensis* ve *C. norvegensis* gibi türler gerçek hif oluşturma özelliğine de sahiptir (2,7,14,25).

C. albicans ve *C. dubliniensis* gibi türler Tween 80 ilaveli mısır unlu jeloz (MUJ) besiyerinde, CO₂ varlığında, 25 ° C, 48 saatte gerçek hif ve klamidospore oluştururlar. Klamidosporelar 8-12 µm boyutlarında, yuvarlak, dış tabakası β 1,3 glukan, iç tabakası protein ve çok miktarda lipid taşıyan kalın duvarlı yapılardır (2,7,14,25).

C. albicans ve *C. dubliniensis* insan plazma veya serumu içerisinde 35-37 °C’ de 2 saat inkübe edildiğinde germ tüpü (çimlenme borusu) adı verilen yapılar oluştururlar. Germ tüpü maya hücresinden uzayan, ana hücrenin 3-4 katı uzunluğunda filamentöz yapıdır (2,7,14,25).

Direkt olarak klinik örnekten mantar hücrelerini veya elemanlarını saptamak ve özelliklerini ortaya koymak amacıyla çeşitli boyalar ve mikroskopik teknikler kullanılabilir. Mikrobiyoloji laboratuvarında en sık kullanılan boyama yöntemleri; kalkoflor beyazı ile floresans boyama, Gram boyama ve Giemsa ile boyamadır. Gram yöntemi ile tüm *Candida* türleri Gram pozitif olarak boyanır. Ancak son yıllarda klinik örneklerin direkt incelenmesinde duyarlı bir yöntem olan kalkoflor beyazı kullanılmaktadır. Kalkoflor beyazı maya hücre duvarında bulunan selüloza ve kitine bağlanarak ultraviyole ışık altında yeşil renkte floresans vermektedir (1,2,7,14,25).

2.5. Üreme ve Biyokimyasal özellikleri

Candida türleri Sabouraud dekstroza agar (SDA), beyin kalp infüzyon agar (BHIA), Chromagar *Candida* gibi mikolojik besiyerlerinde ve koyun kanlı agar gibi yaygın olarak kullanılan bakteriyolojik besiyerlerinde genellikle 24-72 saatte 25-37 °C ürerler (1,2,7,14,16).

Besiyerlerine bakterilerin üremesini engellemek amacıyla kloramfenikol, gentamisin, tetrasiklin gibi geniş spektrumlu antibiyotikler eklenerek, bu besiyerleri seçici hale getirilebilir(1,7,14). Besiyerlerine aynı zamanda saprofit küflerin üremesini engellemek amacıyla sikloheksimit ilave edilmesi de önerilmektedir ancak *C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicallis* gibi bazı türler sikloheksimide duyarlı oldukları için bu türlerin izolasyonunda dikkatli olmak gereklidir. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* gibi bazı türler ise sikloheksimide dirençlidir (18).

Candida cinsi mayalar SDA' da 24-72 saat içerisinde üreyerek kirli beyaz veya krem renğinde, S ya da R şeklinde koloniler oluştururlar. S şeklindeki koloniler kendiliğinden R şekline dönüşebilirler. R şeklindeki kolonilerde blastospor oluşumu daha az iken, miçel oluşumu fazladır. *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. glabrata* S tipi koloni oluştururken; *C. krusei* R şeklinde koloni oluşturur (18).

Kromojenik besiyerleri klinik örneklerdeki farklı *Candida* türlerinin varlığını aynı besiyerinde gösterebilmekte ve özellikle başta *C. albicans* olmak üzere erken dönemde tür düzeyinde hızlı tanımlama yapılmasına olanak sağlamaktadır. Bu besiyerlerinde türe özgü enzimlerle reaksiyona giren kromojenik substratların varlığında, kolonilerin türe özgü farklı renkler oluşturmaları prensibi ile genellikle 37 °C'de 48 saat inkübasyon sonunda tür ayrımının yapılabilmesi olanaklı hale gelmektedir (1,14).

2.6. Tür tanısı

Günümüzde *Candida* türlerinin tanımlanmasında morfolojik ve biyokimyasal testlerin yanı sıra serolojik ve moleküler testler de kullanılmaktadır. *Candida* türlerinin, morfolojik olarak tanımlanmasında besiyerinde oluşturduğu koloni morfolojisi, germ tüpü ve klamidospore oluşturma yeteneği, hif ve psöдохif oluşumu; biyokimyasal olarak tanımlanmasında asimilasyon ve fermentasyon özellikleri göz önünde bulundurulur. Serolojik testlerde antijen-antikor saptanırken, moleküler yöntemlerde PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ve hibridizasyon temelli deneyler kullanılır (1,2,7,14,25).

2.6.1. Koloni morfolojisi

Candida cinsi mayalar mikolojik besiyeri olan SDA üremelerinin yanı sıra kanlı agar, beyin kalp infüzyon agar ve triptoz agar gibi genel kullanım amaçlı besiyerlerinde de ürerler. *Candida* cinsi mayalar SDA'da krem renginde S tipi koloni oluşturlarsalar da *C. krusei*'de oldu gibi R tipi koloni de oluşturabilirler (1,7).

Son günlerde *Candidalar*ın izolasyonunda ve tanımlanmasında selektif besiyerleri olan kromojenik besiyerleri sıklıkla kullanılmaktadır. Kromojenik substratın varlığında türe özgü enzimlerin reaksiyona girmesi ile türe özgü farklı renklerde koloniler oluşmaktadır. Kromojenik besiyerleri CHROMagar *Candida*, *Candida*ID, BIGGY agar ve Hi Chrom *Candida* agardır (1,14,25,26).

2.6.2. Germ tüpü oluşumunun incelenmesi

Saf kültürden alınan maya kolonileri 1ml insan serumu içinde süspanse edilerek 37°C'de 2 saat inkübe edilir. Süre sonunda süspansiyon içindeki maya hücreleri mikroskopik olarak incelenerek hücrelerde germ tüpü oluşumları aranır (1,2,14,25) *C albicans* izolatlarının %90'ından fazlası germ tüpü oluşturur (7).

2.6.3. Klamidospor oluşumunun incelenmesi

İzole edilen maya kolonisinden %1 Tween 80 ilaveli MUJ'a iğne öze ile paralel 3 çizgi olacak şekilde ekim yapılarak üzerine lamel kapatılır. Besiyeri oda sıcaklığında 48 saat inkübasyona bırakılır (1). Lamelin varlığında CO₂ bakımından zengin bir ortam oluşur. Bu ortamda bulunan *C. albicans* ve *C. dubliniensis* hücreleri kalın çift çeperli klamidospor oluştururlar.

C. albicans'ın *C. dubliniensis*'ten ayrımında 42-45°C'de üreme, ksilozu metabolize etme ve metil-D-glukozidaz varlığı gibi deneyler kullanılır (Tablo1).

Tablo 1: C. albicans- C. dubliniensis ayırımında kullanılan parametreler

	C. albicans	C.dubliniensis
42-45 °C'de üreme	+	-
Ksiloz kullanımı	+	-
Metil-D-glukozidaz aktivitesi	+	-

2.6.4. Asimilasyon ve Fermentasyon testleri

Candida türlerinin tanısında karbonhidrat asimilasyonu, karbonhidrat fermentasyonu ve üreaz testleri gibi testler de bulunmaktadır. Bu testler mayaların karbonhidratları okside etmesi (asimilasyon) veya anaerobik (fermentasyon) olarak kullanması prensibine dayanarak tür düzeyinde tanımlama yapmaktadır (2,14,26).

Günümüze kadar geliştirilen birçok asimilasyon yöntemlerinden en güvenilir olanı klasik Wickerham-Burton yöntemi olsa da bu yöntem rutin kullanıma uygun değildir. Bu amaçla API 20C, API ID32C, Vitek, Minitex ve Uni-Yeast Tek gibi birçok ticari kit bulunmaktadır (14).

Fermentasyon testleri farklı karbonhidratlar varlığında asit üretiminin ve gaz çıkışının izlenmesi temeline bağlı olduğundan rutin kullanıma uygun değildir (14). Tablo 2'de klinik açıdan önemli *Candida* türlerinin asimilasyon ve fermentasyon özellikleri özetlenmiştir.

Tablo 2: Klinik açıdan önemli *Candida* türlerinin üreme, fermentasyon ve asimilasyon özellikleri (18).

	Üreme				Fermentasyon						Asimilasyon										
	37 °C üreme	Yalancı hif/ gerçek jif	Klamidospor	Germ tüpü	Glukoz	Galaktoz	Sukroz	Maltoz	Rafinoz	Trehaloz	Dekstroz	Maltoz	Sukroz	Laktoz	Galaktoz	Melibiyoz	Sellibiyoz	Ksiloz	Rafinoz	Trehaloz	Dusitol
C.albicans	+	+	+	+	+	v	-	+	-	v	+	+	v	-	+	-	-	+	+	-	+
C.dubliniensis	+	+	+	+	+	v	-	+	-	v	+	+	v	+	+	-	-	-	+	-	+
C.glabrata	+	-	-	-	+	-	-	-	-	v	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
C.kefyr	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
C.krusei	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C.parapsilosis	+	+	-	-	+	v	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+

+ , olumlu; - , olumsuz; v , değişken

2.6.5. Serolojik testler

Candida infeksiyonlarının tanımlanması amacıyla *Candida* spp'ye özgü antijenler, antikorlar ve metabolitler saptanır (2). Bu testlerde, hücre duvarı bileşeni olan mannan, 1,3- β glukoz ve kitin, sitoplazmik antijen olan enolaz veya enolaz antikor ve hücrenel bir metabolit olan d-arabinitol saptanır (1).

Candida türüne özgü antikor saptama testleri standardize edilmemiştir ve özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda duyarlılığı çok düşüktür. Örneğin *Candidalar*ın hücre duvarı antijeni olan mannan proteinini saptayan testin sensitivitesi %31-90 arasında tespit edilmiştir (2,27,28).

Bu testler arasında yaygın olarak kullanılan hücre duvar bileşenlerinden (2) 1,3- β glukozu saptayan testin duyarlılığı %75-%95, özgüllüğü %88-%100 arasındadır. Fakat bu testin dezavantajı *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Acremonium* ve *Saccharomyces* ile çapraz reaksiyon vermesidir (2,29).

2.6.6. Moleküler yöntemler

İdentifikasyonda kullanılan moleküler yöntemler kültür yöntemleri ile karşılaştırıldığında hızlı sonuç verirler ve izole edilen suşun epidemiyolojik kökeni, antifungal direnç genleri, mutasyonları ve virulans faktörlerini de analiz edebilme özelliği taşırlar (30,31).

Yöntemler içinde en sık kullanılanlar PCR temelli olanlar, gen amplifikasyonu ve hibridizasyon yöntemleridir (30,31).

2.7. Tıbbi önemi olan *Candida* türleri

2.7.1. *Candida albicans*

Kandidiyaz etkenleri arasında ilk sırada yer alan *Candida albicans*'ın serotip A ve serotip B olmak üzere iki alt serotipi vardır. SDA'da beyaz-opak koloniler oluşturan *C. albicans*; psödohip, bazen de gerçek hip; Tween 80 ilaveli MUJ'da 25 °C'de 48-72 saat inkübasyon sonucunda klamidiospor; serumda 37°C'de iki saat inkübasyon sonucunda germ tüp oluşturur. Ayrıca 42-45 °C'de üremesi, ksilozu metabolize etmesi

ve metil-D-glukozidaz aktivitesi ile *C. dubliniensis*'ten ayrılır. Sikloheksimite dirençlidir (1,2,14).

2.7.2. Candida glabrata

Sıklıkla oral kaviteden ve vajinadan izole edilen *C. glabrata* infeksiyonlarının insidansında son yıllarda artış gözlenmektedir. Bu artış, türün flukonazole doza bağlı duyarlı veya dirençli olmasıyla ilişkilendirilmektedir. SDA'da krem renginde S tipi koloniler oluşturur. Tek tomurcuklu olup gerçek hif veya psödohif oluşturmaz. Sikloheksimite duyarlıdır (1,2,14).

2.7.3. Candida kefyr

İnsanda sık rastlanmayan *C. kefyr*; vajina, kulak ve gastrointestinal sistemden izole edilmektedir. SDA'da krem renginde S koloni yaparlar. Yalancı hif ve hiflerin etrafında oluşturdukları blastosporlar *C. kefyr*'e özgüdür (1,2,14).

2.7.4. Candida krusei

C. krusei'nin flukonazole doğal dirençli olması profilaktik tedavi açısından önemlidir. SDA'da yassı, mat R tipi koloni yapar. Yalancı hif ve etrafında çok miktarda blastospor bulundurur. Sikloheksimite duyarlıdır (1,2,14).

2.7.5. Candida parapsilosis

Özellikle kateter ile ilişkili infeksiyonlarda sıklıkla rastlanan etkindir. Ayrıca *C. parapsilosis*'in normal deri florasında bulunması bu mikroorganizmayı nozokomiyal infeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan bir etken haline getirmiştir. SDA'da krem renginde çevresine dantel gibi yayılan düz koloniler şeklinde ürer. En önemli özelliği iri hiflerinin (gigant) bulunmasıdır. Sikloheksimite duyarlıdır (1,2,14).

2.7.6. *Candida tropicalis*

Oral kavitede asemptomatik olarak *C. tropicalis* taşıyan kişilerde fungemi, osteomyelit ve endokardite sebep olduğu bildirilmiştir. Yalancı hif ve bunun etrafında çiçek gibi kümelenmiş blastosporlar bulunur. Siklohekzimate duyarlılığı değişkendir (1,2,14).

2.7.7. *Candida dubliniensis*

İmmun sistemi baskılanmış HIV pozitif hastalarla yapılan epidemiyolojik bir araştırma sonucunda germ tüpü pozitif olan bazı *C. albicans* suşlarının dizi analizinde farklılık bulunması ile ortaya çıkan yeni bir türdür. İlk başlarda 'albicans dışı *Candida*' olarak adlandırılırsa da 1995 yılında farklı bir taksonda konumlandırılmıştır (2,14)

Morfolojik olarak *C. albicans* ile benzer özellik gösterirler; germ tüpü ve klamidospore oluştururlar. 42-45°C'de ürememesi, ksilozu kullanmaması, Metil-D-glukozidaz aktivitesinin olmaması; Hi chrom *Candida* agar, *Candida* ID agarda ve Chromagar *Candida*'da farklı renkte koloni oluşturmaları, Pal's agarda oluşturdıkları saçaklı hif yapısı ile *C. albicans*'dan ayrılırlar (2,14,26,32,33)

C. dubliniensis %19- %32 (34) oranında HIV pozitif hastalardan ve %3-%14 (35) oranında HIV negatif hastaların oral kavitesinden izole edilmiştir (2)

2.7.8. *Candida guilliermondii*

C. guilliermondii'ye bağlı infeksiyonlara nadir rastlanmaktadır. Nötropenik hastalarda kandidiyaz ve damar içi ilaç kullananlarda endokardit etkeni olarak bildirilmiştir (2).

2.8. Epidemiyoloji

Doğada geniş yayılım gösteren *Candida* cinsi mayaların insanlarda başlıca kolonizasyon bölgesi ağızdan rektuma kadar olan gastrointestinal sistemdir. Ayrıca vajina, üretra, deri, el ve ayak parmakları arasında da kommensal olarak bulunabilirler (Tablo 3) İnsanların yanısıra hayvanların sindirim sisteminde, hava, su, toprakta da canlılıklarını sürdürebilmektedirler (1,7).

Tablo 3: *Candida* türlerinin insan florasındaki dağılımı

Deri	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. kefir</i> ve <i>C.tropicalis</i>
Ağız içi	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. krusei</i> ve <i>C. glabrata</i>
Dış kulak	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> ve <i>C. glabrata</i>
Bağırsak	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> ve <i>C. tropicalis</i>
Anogenital bölge	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i>
Ağız çevresi	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i>
Tırnak	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i>
Genital bölge	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i>

Kandidiyaz tiplerinin çoğu, konağın normal florasının infeksiyon oluşturmak için uygun koşullar yakalaması durumunda meydana gelen endojen infeksiyonlardır. Etken nadir de olsa ekzojen kaynaklı olabilir. Kontamine olmuş yıkama solüsyonları, kalp kapakları ve korneaların kullanımı ekzojen infeksiyonlara zemin hazırlar. Ayrıca mayaların vajinal kandidozlu anneden doğum sırasında bebeğe geçebilmesi de ekzojen infeksiyona örnektir (1,16).

İnsanların normal florasında kommensal olarak yaşayan *Candida* cinsi mayaların son yıllarda invazif infeksiyon oluşturma insidansı gözle görülür bir şekilde artmıştır (1,7,16). *Candidalar*, kan kültüründen izole edilen mikroorganizmalar arasında dördüncü sırada, mayalar arasında birinci sıradadır (36,37). *Candida* infeksiyonlarının insidansının artmasına zemin hazırlayan bir kısım faktörler; yaş, immunsupresyon, venöz kateter kullanımı, kemoterapi, kolonizasyon, mukozal bariyer hasarı, hiperglisemi, uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, nötropeni, parenteral nütrisyon ve steroid kullanımındır (1-7,38,39).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 24.179 hastanın kan kültüründen izole edilen mikroorganizmalar ile bir sürveyans çalışması yapılmıştır. Yapılan 7 senelik çalışmanın

sonunda mantar infeksiyonlarının görülme sıklığı %9,5 ile Gram pozitif bakteri (%65) infeksiyonları ve Gram negatif bakteri (%25) infeksiyonlarından sonra üçüncü sırada yer almıştır. Ayrıca izole edilen mikroorganizmalar içinde *Candida* spp'nin oranı %9 olarak tespit edilmiştir. Bu durum *Candida* spp'nin izole edilme oranının diğer mantarlardan daha yüksek olduğunu göstermektedir (40).

İkiyüzden fazla *Candida* türü olmasına rağmen invazif mantar infeksiyonlarından en sık izole edilen etkenler *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicallis* ve *C. krusei* olarak bildirilmektedir (16,38,39).

Son yıllarda albicans dışı *Candida* türlerinin prevalansındaki artışa rağmen *C. albicans* hala *Candida* türleri içinde major patojendir. Bu durum *C. albicans*'ın yüksek adaptasyon yeteneği olduğunu düşünülmektedir (1).

Kao ve ark. yaptıkları bir sürveyans çalışmasında, kandan izole edilen *Candida* türlerini *C. albicans* (%52), *C. parapsilosis* (%21), *C. tropicallis* (%10), *C. krusei* (%4) olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada Atlanta ve San Francisco'da kandidemi insidansının 8/100.000 olduğu da belirtilmiştir (36).

Horn ve ark. 2019 kandidemili hasta ile yaptıkları bir çalışmada hastaların %45,6'sında etken olarak *C. albicans* saptarken, %54,4'ünde etken olarak albicans dışı *Candida* türleri bildirmişlerdir(41).

Kandidiyazlar içinde vulvovajinal kandidiyaza (VVK) sıklıkla rastlanmaktadır. Özellikle gebe veya HIV pozitif hastalarda VVK'ye rastlanma sıklığı diğer hastalara göre daha yüksektir (1). Buna ek olarak kadınların%75'inin hayatının bir döneminde VVK geçirdiği tahmin edilmektedir (42).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada HIV pozitif hastaların %29,7'sinin VVK oldukları ve bu hastaların %85'inin *C. albicans* ile infekte oldukları tespit edilmiştir. Aynı çalışmada HIV negatif hastaların %14,5'inde VVK tespit edilmiş ve bu hastaların %52,3'ünün *C. albicans* ile infekte olduğu belirlenmiştir (42).

Candida türleri hastane infeksiyonlarında öncelikli sıradadır. Sağlık çalışanlarından hastalara ve hastalardan hastalara bulaş çeşitli çalışmalarla belgelenmiştir.

Ülkemizde Dizbay ve ark. yaptığı bir çalışmada nörolojik yoğun bakım ünitesinde yatan ve katetere bağlı kandidemi gelişen dört hastadan izole edilen *C.*

parapsilosis suşunun DNA sekans analizini yapmışlar ve bu türlerin identik olduğunu belirlemişlerdir (43).

3. ANTİFUNGAL MADDELER

İlk olarak 1940'lı yılların başlarında bildirilen antifungal maddelerin günümüze kadar yavaş gelişme göstermesinin başlıca nedenleri, yüksek toksik özellik taşımaları, faz çalışmalarının uzun sürmesi ve yüksek maliyetleridir. Ancak son dönemlerde hazırlayıcı faktörlerin varlığında artan mantar infeksiyonları için duyulan antifungal tedavi ihtiyacı ve dirençli suşların ortaya çıkması yeni antifungal ilaçların geliştirilmesini hızlandırmıştır.

Günümüzde kullanılan antifungal maddeleri beş ana grup altında toplamak mümkündür.

3.1. Polyenler

Polyen grubu antifungallerde yaşamı tehtit eden ve sistemik mikozların tedavisinde kullanılan amfoterisin B (ve lipid formları) ile topikal olarak kullanılan nistatin ve natamisin (pimarisin) bulunmaktadır (44,45).

Polyen grubu antifungaller en önemli hücre membran stererolu olan ergosterole bağlanarak hücre membran yapısını, dolayısıyla hücrenin ozmotik bütünlüğünü bozarlar (1,44).

Sistemik mikozların tedavisinde altın standart olarak kabul edilen amfoterisin B nefrotoksik etkilidir. Bu sebeple nefrotoksik etkisi az ve böbreklerden atılım hızı yavaş olan lipit formları (amfoterisin B lipit kompleksi, kolloidal dispersiyon ve lipozomal amfoterisin B) geliştirilmiştir (1,24). Amfoterisin B'nin etki spektrumu geniştir (Tablo 4). Birçok *Candida* türü, *C. neoformans*, *Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* gibi birçok patojen mantara etkilidir. Ancak *Candida guilliermondii*, *Aspergillus terreus*, *Scedosporium apiospermum*, *S.prolificans* ve *C. lusitaniae*'nin amfoterisin B'ye direnç geliştirdiği belirtilmiştir (44,46,47).

Etki mekanizması ve etki spektrumu amfoterisin B'ye benzeyen nistatin topikal kullanılan bir antifungal maddedir. Sistemik kullanım amaçlı olarak lipozomal formu geliştirilmiştir (1).

Streptomyces natalensis'ten elde edilen natamisin (pimaricin) yüzeysel fungal infeksiyonların tedavisinde kullanılan topikal bir antifungal maddedir ve yemek endüstrisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (45,48).

3.2. Antimetabolitler

Mantar hücresindeki DNA, RNA ve protein sentezine etki ederler. Antimetabolit olarak işlev gören tek antifungal flusitozindir (5-fluorositozin, 5-FC).

Flusitozinin antifungal etki spektrumu *Candida spp*, *C. neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* ve bazı esmer küfller ile sınırlıdır (Tablo 4). Ayrıca in vitro ortamda *Rhodotorula spp*'ye karşı anlamlı antifungal etki göstermektedir. Direnç geliştirmesine karşı tek başına kullanımı önerilmez; amfoterisin B ile kombine olarak kriptokokal menenjit tedavisinde kullanımı tavsiye edilir (44,49).

3.3. Alilaminler

Alilaminler, sistemik etkili terbinafin ve topikal etkili naftifini içeren gruptur. Skualen epoksidaz enzimini inhibe ederek ergosterol biyosentezinin azalmasına neden olurlar. Skualen konsantrasyonu artan hücrede ergosterolün azalmasına bağlı olarak hücreyi ölüme götüren membran geçirgenliğinde azalma meydana gelir (44).

Terbinafin geniş etki spektrumuna sahip lipofilik bir antifungal maddedir. Dermatofitler başta olmak üzere, *Malassezia furfur*, *Candida spp*, *Aspergillus spp* ve *Sporothrix schenckii*'ye etkilidir (44).

Topikal bir alilamin olan naftifin yüzeysel mikozların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Fungisidal etkili, geniş spektrumlu bir antifungaldir. Dermatofitlerin yanı sıra *Candida spp*'ye ve *Aspergillus spp*'ye etkilidir (50).

3.4. Ekinokandinler

İlk ekinokandin olan silofunginin geliştirilmesinin üzerinden uzun zaman geçmesine rağmen, klinik kullanımda olan anidulafungin, kaspofungin, mikafunginin geliştirilmesi son dönemlere rast gelmektedir (44).

Ekinokandinler seçicilik gösteren antifungal maddelerdir. Memeli hücrelerinde bulunmayan fakat mantar hücre duvarının önemli bir bileşeni olan 1,3- β -glukan sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Bu bağlamda ekinokandinlerin etki spektrumu hücre duvar bileşiminde 1,3- β -glukanın baskın olduğu *Candida* ve *Aspergillus* türleri ile sınırlıdır. Ekinokandinler *Candida* türleri üzerinde fungisidal, *Aspergillus* türleri üzerinde fungisitik etki gösterirler (Tablo 4) (44,46,49,51).

Ekinokandinlerin kullanımda tercih edilmesinin diğerk bir sebebi ise azol ve polyenlere dirençli türlere (özellikle *Candida spp*'ye) karşı etkinliğinin mükemmel olmasındandır (44,51).

3.5. Azoller

Azol grubu antifungal maddeler kimyasal yapılarındaki farklılıklara göre imidazoller ve triazoller olarak ikiye ayrılırlar. Bütün azol grubu bileşikler lanosterolü ergosterole çeviren sitokrom P-450'ye bağımlı 14- α - demetilaz enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Bu etki kullanılan azole veya etken organizmaya göre fungistatik ya da fungisidal şekilde olabilir (44,46,47,51).

3.5.1. İmidazoller

Azol halkasında iki adet nitrojen içeren antifungaller imidazol olarak adlandırılır. İmidazoller içinde yalnızca ketokonazol sistemik etkinliğe sahiptir. Etki spektrumu triazol grubu ilaçlara göre daha az olsa da *Candida spp*, *C. neoformans*, *Malassesia* türlerine etkilidir. Bifonazol, klotrimazol, oksikonazol, sulkonazol, terkonazol ve tiokonazol topikal kullanımda olan imidazollerdir (Tablo 4) (44,51,49).

3.5.2. Triazoller

Azol halkasında üç adet nitrojen içeren antifungaller triazol olarak adlandırılırlar. Flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol ve posakonazol triazol grubuna dahil sistemik antifungallerdir (44).

3.5.2.1. Flukonazol

Toksisitesinin düşük olması, etki spektrumunun geniş ve uygulanabilirliğinin kolay olması sebebiyle yaygın bir kullanım alanına sahip olan flukonazol, özellikle kandidiyaz tedavisinde kullanılır. Suda çözünen bir bileşik olması, midedeki gastrik asit seviyesinden etkilenmemesi ve sinir sistemi dahil tüm organ ve dokulara yayılabilmesi kullanımı açısından avantaj sağlamaktadır (44,51).

Flukonazolün *Candida spp*'ye karşı kullanımı yaygın ve etki seviyesi yüksek olsa da, *C. krusei*'nin flukonazole intrinsek dirençli olduğu bilinmektedir (52). Ayrıca *Candida* cinsi mayalar arasında en sık izole edilen beş etkenden ikincisi olan *C.*

glabrata'nın doza bağılı duyarlı olduğu çeşitli yayınlarda bildirilmektedir (47,51,53,54). Bunlara ek olarak bazı *C. albicans* suşlarında uzun süre kullanıma bağılı olarak kazanılmış direnç tespit edilmiştir (44). *Candida* cinsi mayalar dışında *Cryptococcus neoformans*, dermatofitler, *Trichosporon* türleri, *Histoplasma capsulatum* ve *Coccidioides immitis*'e etkilidir (Tablo4) (44).

3.5.2.2. Itrakonazol

Itrakonazol, *Candida spp* (flukonazole dirençli *Candida krusei* ve *C. glabrata* suşlarının bir kısmına da dahil), *C. neoformans*, *Aspergillus spp.*, dermatofitler gibi yaygın etkenlere, ayrıca *C. immitis*, *H. capsulatum*, *B. dermatitidis*, *P. brasiliensis*, *P. marneffeii*, *S. schenckii* gibi ender rastlanan difazik mantarlara etkilidir (Tablo 4). Flukonazole dirençli *Aspergillus spp* üzerine etkisi önemli bir avantajdır. Fakat *Aspergillus fumigatus* ve *A. nidulans*'ın itrakonazole dirençli olduğu rapor edilmiştir (44).

3.5.2.3. Vorikonazol

Geniş spektrumu olan ikinci kuşak triazoldür. Flukonazole dirençli *Candida* izolatlarına, itrakonazole dirençli *A. fumigatus*, amfoterisin B'ye dirençli *A. terreus*'a etki etmesi vorikonazolün klinik açıdan önemini arttırmaktadır (44,46,47,51).

Vorikonazolün antifungal aktivitesi *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Scedosporium* gibi filamentöz mantarlar için fungisidaldir. Ayrıca, *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı fungisidal etki göstermezken; *C. krusei*'ye karşı fungisidal etkilidir (44,51).

3.5.2.4. Posakonazol

Itrakonazolün analogu olan ikinci kuşak triazol posakonazolün etki spektrumu geniştir. Lipofilik bir antifungal madde olan posakonazol *Zygomycetes*, *Aspergillus* türleri ve *P. boydii* için fungisidaldir (44,47,51).

3.5.2.5. Ravukonazol

Etki spektrumu geniş olan 2. kuşak triazoldür. *Zygomycetes* hariç birçok maya ve küfe etkilidir. Toksik özelliği flukonazole benzer şekildedir ve tedavide flukonazolden daha etkindir (44,51).

3.5.2.6. Albakonazol

Geniş spektrumlu ikinci kuşak triazoldür. *Candida spp*, *Cryptococcus spp* ve *Aspergillus spp*'ye etkilidir. Diğer azollerle çapraz direnç oluşturma potansiyeli en önemli dezavantajıdır (44).

Tablo 4: Sistemik etkili antifungal ilaçların spektrumu ve etki dereceleri

	AMB	FC	KTZ	ITZ	FCZ	VCZ	ECH
<i>C. albicans</i>	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++
<i>C.glabrata</i>	+++	++++	++	++	++	+++	++++
<i>C.parapsilosis</i>	++++	++++	+++	++++	++++	++++	+++
<i>C.tropicalis</i>	+++	++++	+++	+++	++++	++++	++++
<i>C. krusei</i>	++	+	+	++	0	++++	++++
<i>Cryptococcus neoformans</i>	++++	+++	+	++	+++	++++	0
<i>Aspergillus spp</i>	++++	0	+	++++	0	++++	+++
<i>Fusarium spp</i>	+++	0	0	+	0	+++	0
<i>Zygomcetes</i>	++++	0	0	0	0	0	+
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	++++	0	++	++++	+	++++	++
<i>Coccidioides immitis</i>	++++	0	++	++++	++++	++++	++
<i>Histoplasma capsulatum</i>	++++	0	++	++++	++	++++	++
<i>Penicillium marneffi</i>	++++	0	++	++++	++	++++	
<i>Sporothrix schenckii</i>	++++	0	++	++++	++		
Esmer küfler	++++	+	++	++++	+	++++	0

AMB, amfoterisin B; FC, flusitozin; KTZ, ketokoazol; ITZ, ıtrakonazol; FCZ, flukonazol; VCZ,vorikonazol; ECH, ekinokandinler(anidulafungin, kaspofungin ve mikafungin)
0, etkili değil veya önerilmez; +, nadiren etkili; ++,orta düzeyde etkili; +++,güvenli düzeyde etkili bazen dirençli; +++++, çok etkili direnç nadir ya da tanımlanmamış.

4. ANTİFUNGAL DİRENÇ MEKANİZMALARI

1990'lerden itibaren mantar infeksiyonlarında artış gözlemlenmiştir. Bu artış yeni antifungal maddelerin araştırılmasını ve üretimini hızlandırmıştır. İnfeksiyonların tedavisinde kullanılan antifungal maddelerin sınırlı sayıda olması, direnç problemini de beraberinde getirmiştir (55,56,57).

İki tip dirençten biri olan intrinsek direnç (primer direnç), suşun veya türün karakteristik mirası olarak tanımlanırken; uzun süreli antifungal tedavi sonucunda gelişmesi kazanılmış direnç (sekonder direnç) olarak tanımlanmaktadır (55,56). Antifungal direnç, antibakteriyel direncin tersine ilacın yapısında değişiklik oluşturma prensibine dayanmaz. Antifungal direnç oluşturma mekanizmaları, dışarı atım pompaları, hedef değişiklikleri ve antifungal maddenin hedef bölgeye girişinin azaltılması şeklinde tanımlanır. Antifungal direnç genleri, antibiyotik direnç genleri gibi hücreler arasında aktarılmaz (1,55-57).

C. krusei bazı azollere karşı primer dirençlidir. Buna ek olarak *C. glabrata*'nın birçok suşu da bazı azollere karşı primer dirençli veya doza bağlı duyarlıdır (59).

1980'lerden itibaren azollerin kandidiyaz tedavisinde düşük dozlarda uzun süreli kullanılması sekonder direncin gelişmesini beraberinde getirmiştir. Sekonder direnç gelişimine özellikle AIDS'li hastaların oral kandidiyaz tedavilerinde rastlanmaktadır (1,55).

4.1. AZOLLERE KARŞI GELİŞTİRİLEN DİRENÇ MEKANİZMALARI

4.1.1. Ergosterol biyosentezindeki değişiklikler

Azol türevi antifungaller ERG11 geninin (Erg11p) ürünü olan 14- α -demetilaz enzimine etki ederler ederler. Erg11p'deki bir bozulma metil grubunun enzimden ayrılmamasına sebep olmaktadır. Bu durumda hücre membranında ergosterol yerine lanosterol birikir ve mantar hücrelerinde membran bütünlüğü bozulur (56,57,58).

4.1.2. ERG11'de değişiklikler

ERG11 genindeki nokta mutasyonu, genin fazla salınımı, gen amplifikasyonu ve gen değişimi *C. albicans*'in dirençli hale geçmesini sağlayabilir (59).

ERG11 genindeki nokta mutasyonu sonucunda duyarlı bir suşun dirençli hale geçmesi ile ilgili çalışmalar vardır (60,61). Bu çalışmalar mutasyonların aktif kısımda, aktif yan yol kanallarında ve değişken kısımda olduğunu bildirmektedir. Ayrıca ERG11 geni üzerinde sessiz mutasyonlar da bildirilmiştir.

ERG11 geni *C. krusei*'nin flukonazole primer dirençli olmasının sebeplerinden biridir. Erg11p2nin aktif olduğu *C. krusei*'de flukonazole direnç, *C. albicans*'a oranla 24-46 kat daha fazladır (55).

4.1.3. Antifungal girişi ve metabolizması

Mantar hücreesindeki antifungal birikimi; antifungalın içeri alınması, dışarı atılması ve antifungalın metabolize edilmesi arasındaki denge ile ilgilidir. Hücre içine birikim hücrenin enerjisine, canlılığına ve ortamın pH ve sıcaklığına bağlıdır. Ayrıca hücre membranının permeabilitesi ve hücre duvarındaki ergosterol miktarı ile ilişkilidir (55-57).

Mantar hücrelerinde iki ayrı efluks pompası vardır. Bu pompalar her iki yönde molekül transferi yapan ATP binding cassette transporters (ABCT) ve Major Facilitators (MF) olarak tanımlanırlar. Her iki pompa da hücreye toksik olan molekülleri dışarıya atabilirken, ABCT hem hidrofobik hem lipofilik molekülleri (azol gibi); MF ise hidrofobik moleküller (tetrasiklin gibi) dışarı atabilmektedir (56,57).

5. ANTİFUNGAL DUYARLILIK DENEYLERİ

Flukonazolun 1990’larda piyasaya çıkmasına kadar amfoterisin B birçok fungal infeksiyonun tedavisinde tek antifungal olarak kullanılmıştır ve bu durumda rutin duyarlılık deneylerine gereksinim olmamıştır. Fakat son yıllarda hazırlayıcı faktörler varlığında artan fungal infeksiyonlar, bu infeksiyonlara karşı modern teknoloji ile geliştirilen kimyasallar ve bu kimyasallara karşı mantarların oluşturduğu direnç, antifungal duyarlılık deneylerine gereksinimi arttırmıştır (3,14). Bu bağlamda National Committe of Clinical Laboratory Standarts (NCCLS)/Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Antifungal Duyarlılık Deneyleri Altkomitesi, mayalar ve küfler (3) için agar bazlı ve sıvı bazlı duyarlılık deneyleri standartları geliştirmiştir ve bu standartları rehberler halinde yayınlamıştır (2,3,14). Bugün mayalar için ‘Method for antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline (M44-A)’ ve ‘Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approves Standart- Third Edition (M27-A3)’; küfler için ‘Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approves Standart (M38A)’ rehberleri standart olarak kullanılmaktadır (11,12).

5.1. Mayalar için kullanılan standart sıvı dilüsyon yöntemleri

Uzun süren çalışmalar sonucunda CLSI, *Candida* spp ve *C. neoformans* türlerinin antifungal duyarlılık deneyleri için Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approves Standart- Third Edition M27-A3 rehberini yayımlanmıştır. Bu rehber sıvı besiyerinde mikrodilüsyon ve makrodilüsyon olmak üzere iki yöntemi içerir. Her iki yöntem için de amfoterisin B, flusitozin, ketokonazol, itrakonazol, flukonazol ve vorikonazol için sınır değerler belirlenmiştir.

5.1.1. Makrodilüsyon yöntemi

Antifungal duyarlılık deneylerinde altın standart olarak kabul edilse de uygulanma zorluğu nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bu nedenle daha çok mikrodilüsyon yöntemi tercih edilmektedir. Besiyeri olarak MOPS (3-(N-morpholino) propanesulfonik asit) ile tamponlanmış RPMI 1640 kullanılır. Deney 12-x 75- mmlik steril plastik test tüplerinde uygulanır.

Standart rehber doğrultusunda hazırlanan besiyeri onbir steril plastik tüpe 1ml olacak şekilde dağıtılır. Stok solüsyondan alınan antifungal madde standart rehberde belirtilen konsantrasyonda besiyerinin üzerine 0.1ml olacak şekilde ilave edilir ve diğer deney tüplerine seri dilüsyon yapılarak antifungal madde konsantrasyonu ayarlanır.

530nm dalga boyunda %75-77 transmittans bulanıklığında ayarlanan maya süspansiyonu standart rehberde belirtilen dilüsyonlar yapıldıktan sonra steril deney tüplerine 1ml olacak şekilde eşit miktarda dağıtılır.

Deney tüpleri 35°C'de 48 saat (C. neoformans için 35°C'de 72 saat) inkübe edilir ve inkübasyon sonunda değerlendirilir. Değerlendirme makroskobik olarak kontrol tüpüyle mukayese edilerek yapılır ve amfoterisin B için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) %100 inhibisyonun olduğu en düşük konsantrasyon; flusitozin, ekinokandinler ve azoller için MİK, %50 inhibisyonun olduğu en düşük konsantrasyondur (11).

5.1.2. Mikrodilüsyon yöntemi

Antifungal duyarlılık deneylerinde en yaygın kullanılan yöntemdir. Besiyeri olarak MOPS (3-(N-morpholino) propanesulfonic acid) ile tamponlanmış RPMI 1640 kullanılır. Deney 96 kuyucuklu U tabanlı steril mikropaklarda uygulanır.

Standart rehber doğrultusunda hazırlanan besiyeri plakların tüm kuyucuklarına 100µl olarak dağıtılır. Stok solüsyondan alınan antifungal madde standart rehberin belirlediği konsantrasyonda 1. sütündeki kuyucuklara 100µl olacak şekilde dağıtılır ve 1.-10. kuyucuklar arasında seri dilüsyon yapılarak antifungal konsantrasyonu ayarlanır.

530nm dalga boyunda %75-77 transmittans bulanıklığında ayarlanan maya süspansiyonu standart rehberde belirtilen dilüsyonlar yapıldıktan sonra 1.-11. sütündeki kuyucuklara 100µl olarak dağıtılır. Böylece 12. sütündeki kuyucuklar hariç tüm kuyucuklardaki son hacim 200 µl dir. Antifungal içermeyen 11. sütündeki kuyucuklar pozitif kontrol, sadece besiyeri içeren 12. sütündeki kuyucuklar ise negatif kontrol olarak değerlendirilir.

Plaklar 35°C'de 48 saat (C. neoformans için 35°C'de 72 saat) inkübe edilir ve inkübasyon sonunda değerlendirilir. Değerlendirme 11. kuyucuktaki üreme (pozitif kontrol) baz alınarak yapılır. Azol grubu antifungaller ve ekinokandinler için pozitif

kontrole göre %50 inhibisyonun olduğu en düşük konsantrasyon MİK; amfoterisin B için %100 inhibisyonun olduğu en düşük konsantrasyon MİK olarak belirlenir (11).

Deneyde *C. parapsilosis* 22019 ve *C. krusei* ATCC 6258 standart suş olarak kullanılır.

M27-A3'e göre flukonazol için sınır değerler duyarlı (S): $\leq 8 \mu\text{g/ml}$, doza bağlı duyarlı (S-DD): 16-32 $\mu\text{g/ml}$ ve dirençli (R): $\geq 64 \mu\text{g/ml}$; itrakonazol için S: $\leq 0.12 \mu\text{g/ml}$, S-DD: 0.25- 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ve R: $\geq 64 \mu\text{g/ml}$; vorikonazol için S: $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, S-DD: $1 \mu\text{g/ml}$, ve R: $\geq 32 \mu\text{g/ml}$; flusitozin için S: $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, orta duyarlı: 8-16 $\mu\text{g/ml}$ ve R: $\geq 32 \mu\text{g/ml}$; ekinokandin için S: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ olarak belirtilmiştir (Tablo 5) (11).

Tablo 5: M27-A3'e göre sınır değerler

	S	S-DD	R	I
Flukonazol	$\leq 8 \mu\text{g/ml}$	16-32 $\mu\text{g/ml}$	$\geq 64 \mu\text{g/ml}$	-
Itrakonazol	$\leq 0.12 \mu\text{g/ml}$	0.25-0.5 $\mu\text{g/ml}$	$\geq 1 \mu\text{g/ml}$	-
Vorikonazol	$\leq 1 \mu\text{g/ml}$	2 $\mu\text{g/ml}$	$\geq 4 \mu\text{g/ml}$	-
Flusitozin	$\leq 4 \mu\text{g/ml}$	-	$\geq 32 \mu\text{g/ml}$	8-16 $\mu\text{g/ml}$
Ekinokandin	$\leq 2 \mu\text{g/ml}$	-	-	-

I: orta duyarlı ; S: duyarlı, S-DD: doza bağlı duyarlı, R: dirençli

5.1.3. Kolorimetrik yöntem

Mikrodilüsyon veya makrodilüsyon yöntemlerine alternatif bir yöntemdir. Bu yöntemde MİK'in belirlenmesi için ticari olan veya olmayan kolorimetrik indikatörler veya floresan boyalar kullanılır (62,63).

Kolorimetrik yöntemle, mikrodilüsyon ve makrodilüsyon yöntemleri karşılaştırıldığında %90'a yakın uyum gözlenmektedir. Ancak, *C. tropicalis* ve *C.*

glabrata suşlarının flukonazol için yapılan duyarlılık deneylerinde bu uyumun düşük olduğu bilinmektedir (62).

5.1.4. Spektrofotometrik yöntem

Spektrofotometrik yöntem, MİK değerlerinin otomatik plak okuma sistemi ile değerlendirilmesini, dolayısıyla diğer yöntemlere göre objektif sonuçlar elde edilmesini sağlar. Farklı üreme miktarları sayısal değerler ile ölçülerek inhibisyon değerleri yüzde olarak hesaplanır (62).

Mikroplaklar 50rpm'de en az 5 dakika çalkalanarak içerik homojen hale getirilir (64). Karışan hücre süspansiyonu spektrofotometrik olarak okunarak MİK'ler tayin edilir. Bazı durumlarda yetersiz karışan kuyucuklar mikropipet yardımı ile karıştırılmalıdır (62,65).

5.1.5. Flow sitometri yöntemi

Flow sitometri antifungal duyarlılık deneyleri için adapte edilmiştir. Mantar hücreleri antifungal maddelere maruz kaldıktan sonra hücrelerdeki hasarı tespit etmek için kullanılır (62,66).

5.2. Agar bazlı duyarlılık deneyleri

5.2.1. Disk difüzyon yöntemi

Antibiyotik duyarlılık deneylerinde yaygın olarak kullanılan disk difüzyon yöntemi NCCLS tarafından *Candida* cinsi mayaların antifungal duyarlılıklarını test etmek için yeniden standardize edilmiştir. Disk difüzyon yönteminin uygulanabilirliği mikrodilüsyon yöntemine göre daha kolaydır ve maliyeti azdır. Bu durum klinik laboratuvarlar için avantaj sağlamaktadır.

NCCLS tarafından 2004 yılında yayınlanan 'Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeast: Approved Guideline' (M44A) rehberi standart olarak kabul edilmektedir. Bu rehber *Candida* cinsi mayaların flukonazole (25µg) ve vorikonazole (1µg) karşı oluşturduğu zon çaplarını içerir.

Deneyde %2 glukoz, 0.5µg/ml metilen mavisi ilaveli Mueller-Hinton agar besiyeri olarak kullanılır. 530 nm'de %75-77 transmittansda hazırlanan maya süspansiyonu steril eküvyon yardımıyla besiyerine eşit olarak yayılır, besiyeri yüzeyinin

kuruması beklenir ve antifungal diskler yerleştirilir. Petri kutusu 150mm çapında ise en fazla dokuz; 100mm çapında ise en fazla dört disk yerleştirilebilir. 35°C’de 24 saat inkübasyon sonunda diskin etrafındaki üreme olmayan şeffaf zon çapları ölçülür. Yirmi dört saatin sonunda zonların oluşmaması halinde inkübasyon süresi 48 saate uzatılır. Deneyde standart suş olarak *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258 kullanılır. Standart suşlar için sınır değerler Tablo 6’da gösterilmiştir. Standart rehber olan M44-A’ya göre flukonazol için sınır değerler duyarlı (S): ≥ 19 mm, doza bağlı duyarlı (S-DD): 15-18mm ve dirençli (R): ≤ 14 mm olarak belirtilmiştir (Tablo 7). Standart rehberin eki olan M44-S2’ye göre vorikonazol için sınır değerler duyarlı (S): ≥ 17 mm, doza bağlı duyarlı (S-DD): 14-16mm ve dirençli (R): ≤ 13 mm olarak belirtilmiştir (Tablo 8) (12).

Tablo 6: M44-A’ya göre standart suşların flukonazol için sınır değerleri.

	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Flukonazol (25µg)	28-39mm	22-33mm	26-37mm	-
Vorikonazol (1µg)	31-42mm	28-37mm	-	16-25

Tablo 7: M44-A’ya göre flukonazol için sınır değerler.

	R	S-DD	S
Flukonazol (25µg)	≤ 14 mm	15-18mm	≥ 19 mm
R: dirençli, S-DD: doza bağlı duyarlı, S:duyarlı			

Tablo 8: M44-S2’ye göre vorikonazol için sınır değerler.

	R	S-DD	S
Vorikonazol (1µg)	≤ 13 mm	14-16mm	≥ 17 mm
R: dirençli, S-DD: doza bağlı duyarlı, S:duyarlı			

5.2.2. NeoSensitabs

Deney %2 glukoz, 0.5µg/ml metilen mavisi ilaveli Müeller Hinton agarda uygulanır. Hazırlanan maya süspansiyonu (0.5 Mac Farland) steril eküvyon yardımıyla besiyerine eşit olarak dağıtılır ve antifungal diskler yerleştirilir. Petri kutusu 150mm çapında ise en fazla dokuz; 100mm çapında ise en fazla dört disk yerleştirilebilir. 35°C’de 24 saat inkübasyon sonunda üreme olmayan şeffaf zon çapları ölçülür.

Yöntemde amfoterisin B (10µg), siklopiroks (50 µg), klotrimazol (10 µg), ekonazol (10 µg), flukonazol (25 µg), flusitozin (10 µg), flusitozin (1 µg), isokonazol (10 µg), itrakonazol (8 µg), ketokonazol (15 µg), mikonazol (10 µg), natamisin (50 µg), nistatin (50 µg), terbinafin (10 µg) ve vorikonazol (1 µg) olmak üzere neosensitabslar mevcuttur. Ayrıca kaspofungin (5 µg) ve posakonazol (5 µg) deneysel amaçlı kullanılmaktadır (67).

5.2.3. E-test:

Üzerine farklı dilüsyonlarda antifungal madde emdirilmiş plastik bir stripin agar yüzeyinde maya üremesini baskılaması sonucu bir zon oluşturması ve bu zonun okunarak MİK değerlerinin belirlenmesi prensibine dayanmaktadır. Amfoterisin B, flukonazol, 5-FC, ketokonazol, itrakonazol, vorikonazol ve kaspofungin için E-testler mevcuttur (62).

E-testin, mikrodilüsyon yöntemine göre uygulanabilirliği daha kolaydır. E-test ve mikrodilüsyon yöntemlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, iki yöntem arasında yüksek oranda uyum tespit edildiği bildirilmiştir (62,63).

6. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 *Candida spp* (17 balgam, dokuz bronkoalveoler lavaj(BAL), dokuz plevra sıvısı, beş trakeal aspirat, dört abse, iki idrar, iki katater ucu ve iki biopsi) kullanılmıştır. Klinik örneklerden izole edilen suşların Tween 80 ilaveli MUJ'da klamidospore oluşturma özellikleri incelenmiş ve API 20C AUX kiti ile tür düzeyinde identifikasyonları yapılmıştır. Suşların flukonazole duyarlılıklarını belirlemek amacıyla mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri kullanılmıştır.

Buna ilaveten duyarlılık sonuçlarının standartlara uygunluk gösterip göstermediğini test etmek amacıyla *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 standart suşları ile ön deneyler yapılmış ve uygun sonuçlar alındıktan sonra çalışma suşları kullanılmıştır.

6.1. Kullanılan besiyerleri – Kimyasallar ve hazırlanmaları

6.1.1. 0,165mol/L MOPS ile tamponlanmış RPMI 1640 besiyeri

Toz halindeki glutamin ve fenol kırmızı ilaveli, bikarbonatsız RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) besiyerinden 10.4 gr tartılarak 900ml distile su içerisinde çözdürülmüştür. Daha sonra yine toz halindeki MOPS (3-[-N-morpholino] puropanesulfonik asit)'dan (Sigma-Aldrich) 34,53 gr tartılarak bu karışıma eklenmiştir. Besiyerinin son hacmi 1000 ml olacak şekilde distile su ilave edilmiştir. Bir miktar sodyum hidroksit (NaOH) (Carla Erba) ile 25 °C'de pH 7.0'a ayarlanmış ve besiyeri homojen bir çözelti haline getirilmiştir. Besiyerinin sterilizasyonunda 0.2µm çaplı enjektör filtreleri kullanılmıştır.

6.1.2. Sabouraud dekstroz agar besiyeri (Difco)

Toz halindeki içerikten 65 gr tartılarak 1000 ml distile su içerisine ilave edilmiş ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Besiyeri 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 90 mm por çaplı steril Petri kutularına 20 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

6.1.3. % 1 Tween 80 ilaveli mısır unlu jeloz (Acumedia) (MUJ)

Toz halindeki mısır unlu agardan 17 gr tartıldıktan sonra 1000 ml distile su ilave edilmiş ve sonra % 1 oranında (10 ml) Tween 80(Riedel-de Haen) ilave edilerek bu besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. pH, 25 °C'de 6.0 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve besiyeri 90 mm çaplı steril Petri kutularına 20 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

6.1.4. Flukonazol stok solüsyonu

Toz halinde bulunan flukonazolden (Sigma-Aldrich) 10240 μ gr ($10,24 \times 10^{-3}$ gr) tartılarak 2ml distile su içerisinde çözülmüş ve 0.2 μ m por çaplı enjektör filtreleri kullanılarak steril edilmiştir. Hazırlanan 5120 μ g/ml'lik stok kullanılıncaya kadar -70 °C'de muhafaza edilmiştir.

6.1.5. %2 Glikoz ve 0.5 μ g/ml metilen mavisi ilaveli Mueller-Hinton Agar

Toz halindeki Müeller-Hinton agar (Merck) içeriğinden 34 gr tartılarak 1000ml distile su içerisine ilave edilmiştir. 20 ml distile su içerisinde 0.1gr metilen mavisi (Merck) çözüldürülmüş ve bu karışımdan 100 μ l ve 20 gr glukoz (Merck) ilave edilen besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Besiyeri 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 90 mm çaplı steril Petri kutularına 30 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

6.2. Deneylerin uygulanması

Tüm suşlar SDA'ya azaltma yöntemi ile ekilmiş ve 37 °C'de, 24-48 saat inkübe edilerek kontaminasyon olup olmadığı kontrol edilmiştir. Saf kolonilerden Tween 80 ilaveli MUJ'a ekim yapılarak suşların 48 saat 25°C'de klamidospore oluşturma özellikleri incelenmiştir. Tüm suşların son tanımlanmaları API 20CAUX ile yapılmıştır.

6.2.1. Mikrodilüsyon yöntemi

Önceden hazırlanmış ve sterilizasyon kontrolü yapılmış RPMI 1640 besiyeri steril, 96 kuyucuklu, U tabanlı plakların her kuyucuğuna 100 µl olacak şekilde dağıtılmıştır. Kuyucuklara dağıtılmak üzere flukonazolün stok çözeltisinden(5120 µg/ml) alınan, 1/10 ve 1/2 oranında RPMI 1640 besiyeri ile seyreltilerek 256 µg/ml'ye ayarlanan çözelti, mikroplağın ilk sütununa (A-H) 100'er µl olacak şekilde dağıtılmış ve 1-10 numaralı kuyucuklar arası bir kat seri dilüsyon yapılmıştır.

Kuyucuklara eklenmek üzere SDA'da üretilmiş 24 saatlik saf kolonilerden alınarak, 5ml %0.85'lik steril tuzlu su içerisinde 530nm dalga boyunda %75-77 transmittans bulanıklığında süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon 1/50 ve daha sonra 1/20 oranında dilüe edilerek konsantrasyonun $1 \times 10^3 - 1 \times 10^5$ cfu/ml olması sağlanmıştır. Bu süspansiyondan 12 numaralı sütun hariç (negatif kontrol) tüm kuyucuklara 100 µl eklenmiştir. Böylece her kuyucuktaki konsantrasyon $0.5 \times 10^3 - 2.5 \times 10^5$ CFU/ml olarak ayarlanmış ve kuyucuklardaki antifungal konsantrasyonun 64-0,125µg/ml olması sağlanmıştır.

Plaklar 35 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu inkübasyon süresi sonunda 11 numaralı kuyucuktaki (pozitif kontrol kuyucuğu) üreme baz alınarak %50 inhibisyonun olduğu konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir (11).

6.2.2. Disk difüzyon yöntemi

SDA'da üretilmiş 24 saatlik saf kolonilerden alınarak, 5ml %0.85'lik steril tuzlu su içerisinde süspansiyon yapılmıştır. Bu süspansiyon 530nm dalga boyunda %75-77 transmittansa karşılık gelecek şekilde ayarlanmıştır.

Bu süspansiyondan steril eküvyon yardımı ile, %2 glikoz ve 0.5µg/ml metilen mavisi ilaveli Müeller-Hinton agarın tüm yüzeyine eşit olacak şekilde yayma ekim yapılmış ve besiyeri yüzeyinin kurumaması sağlanmıştır. Daha sonra flukonazol diski (25µ) steril şartlar altında besiyerinin yüzeyine yerleştirilmiş ve besiyeri 24 saat 35°C'de inkübe edilmiştir. Zon oluşmayan Petri kutuları için inkübasyon süresi 48 saate uzatılmıştır. İnkübasyonun sonunda diskin etrafında oluşan şeffaf zon çapları milimetrik olarak ölçülmüş ve sonuçlar duyarlı, dirençli ve doza bağlı duyarlı olarak kaydedilmiştir (12).

Yöntemlerin karşılaştırılmasında FDA tarafından önerilen minör hata, majör hata ve çok yüksek majör hata değerleri hesaplanmıştır (68). Minör hata, kullanılan referans yöntemi ile antifungale duyarlı/dirençli olarak bulunan bir suşun, denenen yöntem ile doza bağlı duyarlı veya referans yöntem ile doza bağlı duyarlı olarak bulunan bir suşun denenen yöntem ile duyarlı/dirençli bulunması; majör hata, referans yöntem ile duyarlı bulunan bir suşun, denenen yöntem ile dirençli bulunması; çok yüksek majör hata, referans yöntem ile dirençli bulunan bir suşun denenen yöntem ile duyarlı bulunması durumu olarak değerlendirilmiştir.

7. BULGULAR

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Bilim Dalı'nda izole edilmiş 50 *Candida* spp kullanılmıştır. Bu suşlar API 20C AUX ile *C. albicans* (n=22, %44) (sekiz balgam, dört plevra sıvısı, dört abse,dört BAL,iki trakeal aspirat), *C. glabrata* (n=20, %40) (beş balgam, beş BAL, beş plevra sıvısı, üç trakeal aspirat, iki idrar), *C. parapsilosis* (n=6, %12) (iki biopsi, iki katater ucu, iki balgam) ve *C. tropicalis* (n=2, %4) (iki balgam) olarak tanımlanmıştır. Çalışmada standart suş olarak *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 kullanılmıştır.

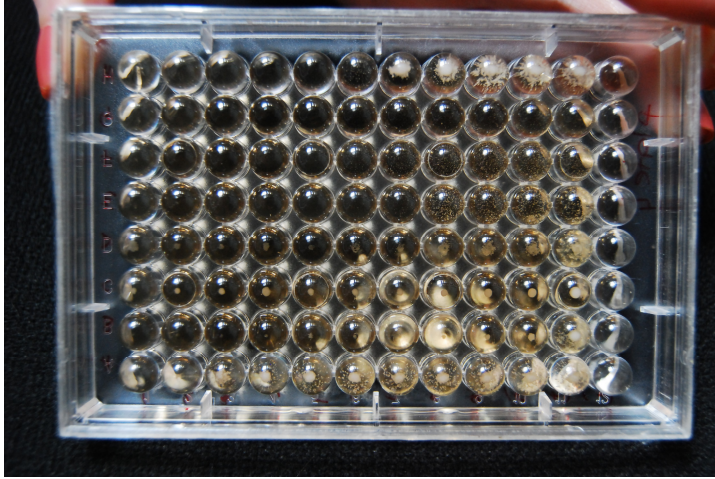
Çalışmada mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazolün standart suşları için oluşturduğu MİK değerleri Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9: Flukonazolün standart suşlar için belirlenen MİK değerleri

	<i>C. albicans</i> ATCC 90028 (0,25-1µg/ml)	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750 (1-4 µg/ml)	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 (2-8µg/ml)
MİK değerleri	0,5 µg/ml	4 µg/ml	2 µg/ml

Çalışmada kullanılan 49 suş (22 *C. albicans*, 19 *C. glabrata*, 6 *C. parapsilosis* ve 2 *C. tropicalis*) mikrodilüsyon yöntemiyle flukonazole duyarlı; bir *C. glabrata* suşu doza bağlı duyarlı olarak bulunmuştur (Tablo 10) (Şekil 1).Flukonazolün tüm suşlar için MİK₅₀ değeri 1 µg/ml, MİK₉₀ değeri 4 µg/ml; *C. albicans* için MİK₅₀ değeri 0,125 µg/ml, MİK₉₀ değeri 1 µg/ml; *C. glabrata* için MİK₅₀ değeri 1 µg/ml, MİK₉₀ değeri 4 µg/ml; *C. parapsilosis* için MİK₅₀ değeri 0,5 µg/ml, MİK₉₀ değeri 4µg/ml; *C. tropicalis* için MİK₅₀ değeri 0,125 µg/ml, MİK₉₀ değeri 1 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Tablo 11).

Şekil 1: 48 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirilen mikroplak



Tablo 10: Flukonazolün MİK değerlerinin suşlara göre dağılımı

Suşlar MİK değerleri	<i>C.albicans</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.tropicalis</i>	Toplam
< 0.125 µg/ml	4	-	-	-	4
0.125 µg/ml	9	1	-	1	11
0.25 µg/ml	3	1	-	-	4
0.5 µg/ml	2	-	3	-	5
1 µg/ml	2	10	1	1	14
2 µg/ml	1	2	1	-	4
4 µg/ml	-	5	1	-	6
8 µg/ml	1	-	-	-	1
16 µg/ml	-	1	-	-	1
32 µg/ml	-	-	-	-	-
64 µg/ml	-	-	-	-	-
Toplam	22	20	6	2	50

Tablo 11: *Candida* türleri için flukonazolün MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri

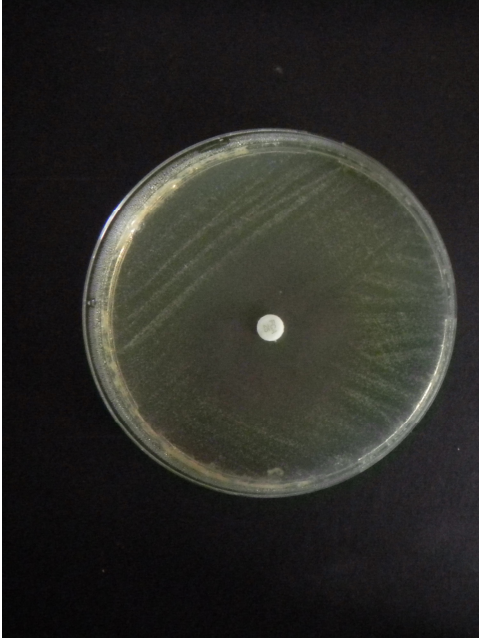
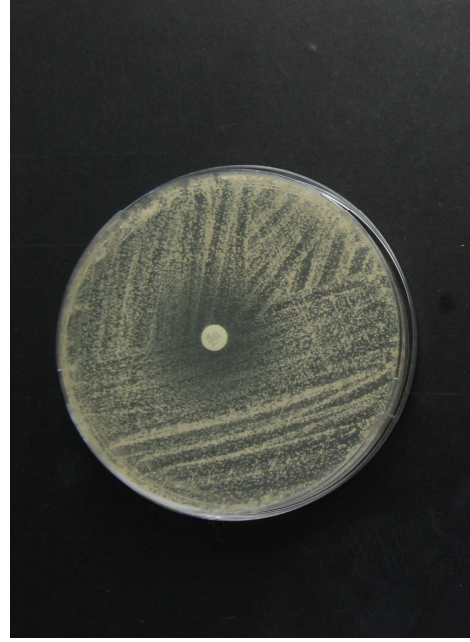
	MİK ₅₀	MİK ₉₀
<i>Candida</i> spp (n=50)	1 µg/ml	4 µg/ml
<i>C. albicans</i> (n=22)	0,125 µg/ml	1 µg/ml
<i>C. glabrata</i> (n=20)	1 µg/ml	4 µg/ml
<i>C. parapsilosis</i> (n=6)	0,5 µg/ml	4 µg/ml
<i>C. tropicalis</i> (n=2)	0,125 µg/ml	1 µg/ml

Disk difüzyon yöntemi ile flukonazolün standart suşlar için oluşturduğu zon çapları Tablo 12’de verilmiştir.

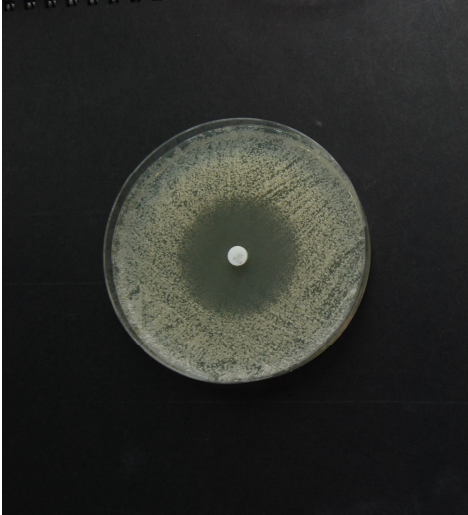
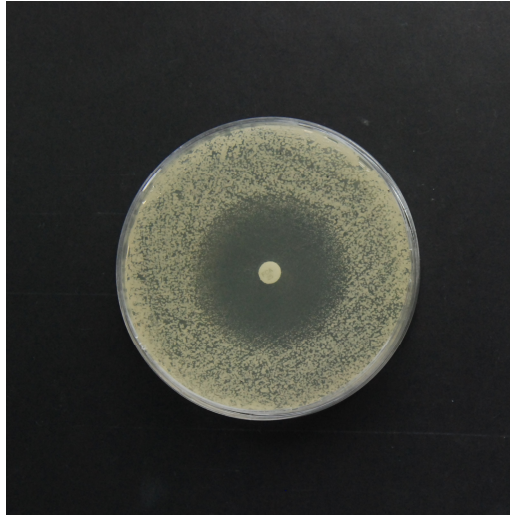
Tablo 12:Flukonazolün standart suşlar için belirlenen zon çapları (mm)

	<i>C. albicans</i> ATCC 90028 (28-39mm)	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750 (26-37mm)	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 (22-33mm)
Zon çapları	37mm	30mm	33mm

Çalışmada uygulanan disk difüzyon yönteminde 35°C’de 24 saatlik inkübasyonun sonunda 35 *Candida* suşunun duyarlılık sonuçları değerlendirilmiş; 7 *C. glabrata* suşunun sonuçları değerlendirilememiş ve 8 *Candida* spp (2 *C. albicans*, 5 *C. glabrata* ve 1 *C. parapsilosis*) suşunun olduğu besiyerinde herhangi bir üreme saptanmamıştır. NCCLS M44-A rehberi doğrultusunda 15 *Candida* suşuna ait besiyerlerinin inkübasyon süresi 48 saate uzatılmış ve bu süre sonunda oluşan zon çapları uygun şekilde değerlendirilmiştir (Şekil 2, Şekil 3) (Tablo 13, Tablo 14).

Şekil 2: C.glabrata-24 saatlik inkübasyon**Şekil 3:C.glabrata-48 saatlik inkübasyon (30mm)**

Uygulanan disk difüzyon yöntemi ile 49 suş (22 *C. albicans*, 19 *C. glabrata*, 6 *C. parapsilosis* ve 2 *C. tropicallis*) flukonazole duyarlı olarak bulunmuş; ancak farklı bir *C. glabrata* suşu dirençli olarak saptanmıştır (Şekil4, Şekil5, Şekil6) (Tablo13, Tablo14).

Şekil 4:C.glabrata (duyarlı-37mm)**Şekil 5: C.albicans (duyarlı-40mm)**

Şekil 6:C.glabrata (dirençli-14mm)



Mikrodilüsyon yöntemi ile duyarlı bulunan (4 µg/ml) bir *C. glabrata* suşu disk difüzyon yöntemi ile dirençli (14mm) olarak, mikrodilüsyon yöntemiyle doza bağlı duyarlı olarak (16 µg/ml) bulunan bir *C. glabrata* suşu disk difüzyon yöntemi ile duyarlı olarak (37mm) tespit edilmiştir (Tablo 13).

Elli *Candida* suşu için mikrodilüsyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi arasındaki uyum %96, minör hata %2, majör hata %2,04; 22 *C. albicans*, altı *C. parapsilosis*, iki *C. tropicallis* suşu için uyum %100; 20 *C. glabrata* suşu için uyum %90, minör hata %5, majör hata %5,26; olarak hesaplanmıştır.

Tablo 13: *Candida* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle flukonazole karşı duyarlılık sonuçları

	Flukonazole karşı duyarlılıkları			İnkübasyon süreleri	
	Duyarlı	Doza bağlı duyarlı	Dirençli	24 saat	48saat
<i>Candida</i> spp (n=50)	49	-	1	35	15
<i>C. albicans</i> (n=22)	22	-	-	20	2
<i>C. glabrata</i> (n=20)	19	-	1	8	12
<i>C.parapsilosis</i> (n=6)	6	-	-	5	1
<i>C.tropicalis</i> (n=2)	2	-	-	2	-

Sonuçlar MİK değerlerine karşılık gelen zon çapları açısından değerlendirildiğinde; flukonazol için MİK değeri 0.125µg/ml'nin altında olan dört *C. albicans*'ın disk difüzyon yöntemiyle 36-45 mm'lik, MİK değerleri 0.125µg/ml olan dokuz *C. albicans*'ın 30-42 mm', MİK değeri 0,25µg/ml olan dört *C. albicans*'ın 34-40mm'lik, MİK değeri 0,5µg/ml olan iki *C. albicans*'ın 35-40 mm'lik, MİK değeri 1 µg/ml olan iki *C. albicans*'ın 26mm'lik, MİK değeri 2 µg/ml olan bir *C. albicans*'ın 40mm'lik, MİK değeri 4 µg/ml olan beş *C. glabrata*'nın 14-40mm'lik, MİK değeri 8 µg/ml olan bir *C. albicans*'ın 25mm'lik zon çapı oluşturduğu; MİK değerleri 0.125µg/ml olan bir *C. glabrata*'nin 38mm; MİK değeri 0,25µg/ml olan bir *C. glabrata*'nin 45mm'lik, MİK değeri 1 µg/ml olan 10 *C. glabrata*'nın 25-40'mm'lik, MİK değeri 2 µg/ml olan iki *C. glabrata*'nın 30-35mm'lik, MİK değeri 4 µg/ml olan beş *C. glabrata*'nın 14 (dirençli suşun zon çapı)-40mm'lik, MİK değeri 16 µg/ml olan bir *C. glabrata*'ın 37mm'lik zon çapı oluşturduğu; MİK değeri 0,5µg/ml olan üç *C. parapsilosis*'in 30-36mm'lik zon çapı oluşturduğu; MİK değeri 1 µg/ml olan bir *C. parapsilosis*'in 23mm'lik, MİK değeri 2 µg/ml olan bir *C. parapsilosis*'in 34mm'lik, MİK değeri 4 µg/ml olan bir *C. parapsilosis*'in 30mm'lik zon oluşturduğu; MİK değerleri 0.125µg/ml olan bir *C. tropicalis* suşunun 35 mm'lik ve MİK değerleri

1µg/ml olan bir *C. tropicallis* suşunun 26 mm'lik zon çapı oluşturduğu saptanmıştır (Tablo 14).

Tablo 14:Flukonazolün *Candida* suşlarına karşı oluşturduğu MİK değerleri ve MİK değerlerine karşılık gelen 24/48saatlik zon çapları

Suş no	Tür	MİK değeri	Flukonazole karşı zon çapları	
			24 saat	48 saat
1	<i>C. albicans</i>	< 0.125µg/ml (S)	40mm (S)	–
2	<i>C. albicans</i>		43mm (S)	–
3	<i>C. albicans</i>		45mm (S)	–
4	<i>C. albicans</i>		36mm (S)	–
5	<i>C. albicans</i>	0.125µg/ml (S)	40mm (S)	–
6	<i>C. albicans</i>		40mm (S)	–
7	<i>C. albicans</i>		38mm (S)	–
8	<i>C. albicans</i>		30mm (S)	–
9	<i>C. albicans</i>		40mm (S)	–
10	<i>C. albicans</i>		42mm (S)	–
11	<i>C. albicans</i>		40mm (S)	–
12	<i>C. albicans</i>		40mm (S)	–
13	<i>C. albicans</i>	0.25µg/ml (S)	39mm (S)	–
14	<i>C. albicans</i>		40mm (S)	–
15	<i>C. albicans</i>		34mm (S)	–
16	<i>C. albicans</i>	0,5µg/ml (S)	39mm (S)	–
17	<i>C. albicans</i>		40mm (S)	–
18	<i>C. albicans</i>	1µg/ml (S)	–	35mm (S)
19	<i>C. albicans</i>		26mm (S)	–
20	<i>C. albicans</i>	2µg/ml (S)	26mm (S)	–
21	<i>C. albicans</i>		40mm (S)	–
22	<i>C. albicans</i>	8µg/ml (S)	–	25mm (S)
23	<i>C. glabrata</i>	0.125µg/ml (S)	–	38mm (S)
24	<i>C. glabrata</i>	0,25µg/ml (S)	45mm (S)	–
25	<i>C. glabrata</i>	1µg/ml (S)	-	30mm (S)
26	<i>C. glabrata</i>		35mm (S)	-
27	<i>C. glabrata</i>		-	25mm (S)
28	<i>C. glabrata</i>		35mm (S)	–
29	<i>C. glabrata</i>		40mm (S)	–
30	<i>C. glabrata</i>		-	27mm (S)
31	<i>C. glabrata</i>		34mm (S)	–
32	<i>C. glabrata</i>		35mm (S)	–
33	<i>C. glabrata</i>		-	25mm (S)
34	<i>C. glabrata</i>		25mm (S)	–

35	<i>C. glabrata</i>	2µg/ml (S)	-	35mm (S)
36	<i>C. glabrata</i>		-	30mm (S)
37	<i>C. glabrata</i>	4µg/ml (S)	-	23mm (S)
38	<i>C. glabrata</i>		-	30mm (S)
39	<i>C. glabrata</i>		-	14mm (R)
40	<i>C. glabrata</i>		40mm (S)	-
41	<i>C. glabrata</i>		-	40mm (S)
42	<i>C. glabrata</i>		16µg/ml (S-DD)	-
43	<i>C. parapsilosis</i>	0,5µg/ml (S)	36mm (S)	-
44	<i>C. parapsilosis</i>		35mm (S)	-
45	<i>C. parapsilosis</i>		30mm (S)	-
46	<i>C. parapsilosis</i>	1µg/ml (S)	-	23mm (S)
47	<i>C. parapsilosis</i>	2µg/ml (S)	34mm (S)	-
48	<i>C. parapsilosis</i>	4µg/ml (S)	30mm (S)	-
49	<i>C. tropicalis</i>	0.125µg/ml (S)	35mm (S)	-
50	<i>C. tropicalis</i>	1µg/ml (S)	26mm (S)	-
S: duyarlı, S-DD: doza bağı duyarlı, R: dirençli				

Sonuç olarak mikrodilüsyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi arasında %96 uyum saptanması, disk difüzyon yönteminin rutin laboratuvarlarda uygulanabileceğini göstermektedir. Ancak *C. glabrata* suşlarında %5 minör hata, %5,26 majör hata tespit edildiğinden bu suşlarla yapılan duyarlılık deneylerinde mikrodilüsyon yönteminin tercih edilmesi gerektiği düşünülmüştür.

8. TARTIŞMA

Dünyada geniş yayılım gösteren *Candida* cinsi mayaları sağlıklı kişilerin deri, sindirim sistemi ve genitoüriner sistem normal florasından; topraktan ve hayvanlardan izole etmek mümkündür (1,7) İnsanların normal floralarında kommensal olarak yaşayan *Candida* türleri çeşitli hazırlayıcı faktörler varlığında etken hale geçebilirler (1). Özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda önemli mortalite ve morbidite sebebidirler (8). İnvazif mantar infeksiyonlarının %90'ı *Candida* cinsi mayalar ile oluşmakta ve en sık izole edilen beş etken *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicallis* ve *C. krusei* olarak bildirilmektedir (3-6,9).

Son yıllarda mantar infeksiyonlarının artması ve mikoz tedavisinde antifungal maddelerin yoğun olarak kullanılması direnç problemini de beraberinde getirmiştir. Bu nedenle Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS)] antifungal duyarlılık deneyleri alt birimi mantarlar için standart duyarlılık deneyleri içeren rehberler yayınlamıştır.

Günümüzde standart rehberler baz alınarak birçok çalışma yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Posteraro ve ark. maya suşları ile yaptıkları bir çalışmada 93 *Candida* suşunun 65'ini (%70) mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazole duyarlı ; dokuzunu (%10) doza bağlı duyarlı; altısını (%6,5) dirençli olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada Posteraro ve ark. 65 *C. albicans* suşunun 62'sini (%94) duyarlı, birini (%2) doza bağlı duyarlı, ikisini (%3) dirençli; 13 *C. glabrata* suşunun birini (%7) duyarlı, sekizini (%62) doza bağlı duyarlı, dördünü (%31) dirençli; sekiz *C. tropicallis* (%100) ve yedi *C. parapsilosis* suşunun tümünü (%100) duyarlı olarak bildirmiştir (69).

Rubio ve ark. 150 *Candida* suşu ile yaptıkları bir çalışmada, 120 (%80) *Candida* suşunu mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazole duyarlı; 22'sini (%14,6) doza bağlı duyarlı; 8'ini (%5,4) dirençli olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada Rubio ve ark mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazole duyarlılıkları türlere göre tanımlandığında 63 *C. albicans* suşunun 62'sini (%98,5) duyarlı, birini (%1,5) doza bağlı duyarlı; 25 *C. dubliniensis* suşunun tümünü (%100) duyarlı; 25 *C. glabrata* suşunun sekizini (%32) duyarlı, 15'ini (%60) doza bağlı duyarlı, ikisini (%8) dirençli; 22 *C. parapsilosis*

suşunun 21'ini (%95,5) duyarlı, birini (%0,5) dirençli; 10 *C. krusei* suşunun altısını (%60) doza bağlı duyarlı, dördünü (%40) dirençli; beş *C. tropicallis* suşunun dördünü (%80) duyarlı, birini (%20) dirençli olarak bildirmiştir (70).

Espinel-Ingroff ve ark yaptıkları bir çalışmada 90 *Candida* suşunun mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazole duyarlılıkları incelemiş ve 58 (%64,5) *Candida* suşunu flukonazole duyarlı, 12 (%13,3) *Candida* suşunu doza bağlı duyarlı; 20 (%22,2) *Candida* suşunu dirençli olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada 20 *C. albicans* suşunun beşininin (%25) flukonazole duyarlı, dördünün (%20) doza bağlı duyarlı, 11'inin (%55) dirençli; 10 *C. dubliniensis* suşunun tümünü (%100) duyarlı, 10 *C. glabrata* suşunun altısını (%60) duyarlı, dördünü (%40) dirençli; 10 *C. guilliermondii* suşunun sekizini (%80) duyarlı, ikisini (%20) dirençli; 10 *C. parapsilosis* suşunun tümünü (%100) duyarlı; 10 *C. krusei* suşunun sekizini (%80) duyarlı, ikisini (%20) dirençli; 10 *C. lusitaniae* suşunun tümünü (%100) duyarlı; 10 *C. tropicallis* suşunun tümünü (%100) duyarlı olarak bildirmiştir (71).

Noake ve ark. yaptıkları bir çalışmada mikrodilüsyon yöntemi ile 507 *Candida* suşunun flukonazole duyarlılıklarını incelenmiş ve 390 *C. albicans* suşunun 302'sini (%97,9), 60 *C. glabrata* suşunun 45'ini (%75), 25 *C. parapsilosis* suşunun tümünü (%100), 22 *C. tropicallis* suşunun 16'sını (%72,7), 10 *C. krusei* suşunun 5'ini (%50) duyarlı olarak bildirmiştir (72).

Negri ve ark. mikrodilüsyon yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada 70 *Candida* suşunun 68'ini (%97) flukonazole duyarlı, ikisini (%3) doza bağlı duyarlı olarak bildirmiştir (73).

Kim ve ark. mikrodilüsyon yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada 31 *Candida* suşunun dokuzunu (%29) flukonazole duyarlı, yedisini (%22,5) doza bağlı duyarlı, 15'ini (%48,5) dirençli olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada Kim ve ark. mikrodilüsyon yöntemi ile 15 *C. albicans* suşunun yedisini (%46,6) flukonazole duyarlı, birini (%6,8) doza bağlı duyarlı, yedisini (%46,6) dirençli; yedi *C. glabrata* suşunun birini (%14) duyarlı, altısını (%86) doza bağlı duyarlı; dokuz *C. tropicallis* suşunun birini (%11) duyarlı, sekizini dirençli (%89) olarak bildirmiştir (74).

Pfaller ve ark 235 *C. glabrata* suşu ile yaptığı bir çalışmada suşların 134'ünün (%57) mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazole duyarlı; 85'inin (%36) doza bağlı duyarlı; 16'sının (%7) dirençli olduğunu bildirmişlerdir (53).

Pfaller ve ark. 1586 *Candida* suşu ile yaptıkları çalışmada 916 (%57,7) *C. albicans*, 235 (%14,8) *C. glabrata*, 198 (%12,5) *C. parapsilosis*, 150 (%9,4) *C. tropicallis*, 43 (%2,7) *C. krusei*, 24 (%1,5) *C. lusitaniae* suşunun mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazole duyarlılıklarını incelenmiştir. Tüm suşların %90,5'inin; *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicallis* suşlarının %99'unun flukonazole duyarlı olarak bildirmiştir. Tüm suşların sadece %2,5'i flukonazole dirençli olarak bildirmiştir (75).

Pfaller ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada 2949 *Candida* suşunun flukonazole duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Mikrodilüsyon yöntemi ile suşların 2702'sini (%91,6) flukonazole duyarlı, 197'sini (%6,7) doza bağlı duyarlı, 50'si (%1,7) dirençli olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada Pfaller ve ark 1631 *C. albicans* suşunun 1627'sinin (%99,8) flukonazole duyarlı, dördünün (%0,2) doza bağlı duyarlı; 403 *C. glabrata* suşunun 280'inin (%69,5) duyarlı, 106'sının (%26,3) doza bağlı duyarlı, 17'sinin (%4,2) dirençli; 400 *C. parapsilosis* suşunun 373'ünün (%93,3) duyarlı; 25'inin (%6,2) doza bağlı duyarlı, ikisinin (%0,5) dirençli; 327 *C. tropicallis* suşunun 324'ünün (%99,1) duyarlı, birinin (%0,3) doza bağlı duyarlı, ikisinin (%0,6) dirençli olduğunu belirlemişlerdir (76).

Kiraz ve ark. mikrodilüsyon yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada 50 *C. glabrata* suşunun flukonazole duyarlılıklarını incelemişler ve suşların ikisinin (%4) duyarlı, 37'sinin (%74) doza bağlı duyarlı, 11'inin (%22) dirençli olduğunu bildirmişlerdir (54).

Yukarıdaki çalışmalar değerlendirildiğinde *Candida* türlerinin flukonazole %29-%97 arasında duyarlı, %3-%22,5 arasında doza bağlı duyarlı, %1,7-%48,5 arasında dirençli; *C. albicans* suşlarının %25-%99,8 arasında duyarlı, %0,2-%20 arasında doza bağlı duyarlı, %3-%55 arasında dirençli; *C. glabrata* suşlarının %4-%75 arasında duyarlı, %26,3-%86 arasında doza bağlı duyarlı, %4,2-%31 arasında dirençli; *C. parapsilosis* suşlarının %93,3-%100 arasında duyarlı; *C. tropicallis* suşlarının %11-%100 arasında duyarlı, %0,6-%89 arasında dirençli olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada 50 *Candida* suşunun flukonazole duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Kırkdokuz (%98) *Candida* suşu mikrodilüsyon yöntemiyle flukonazole duyarlı, bir (%2) *C. glabrata* suşu doza bağlı duyarlı olarak tespit edilmiştir. Yirmiiki *C. albicans* suşunun tümü (%100) flukonazole duyarlı; 20 *C. glabrata* suşunun 19'u (%95) duyarlı, biri (%5) doza bağlı duyarlı; altı *C. parapsilosis* suşunun tümü (%100) duyarlı; iki *C. tropicallis* suşunun tümü (%100) duyarlı olarak

tespit edilmiştir. Duyarlılık sonuçlarındaki farklılıklar, duyarlılık sonuçlarının bölgelere ve izole edilen hasta popülasyonuna göre değişebileceği şeklinde yorumlanmıştır. Aynı zamanda bazı çalışmalarda kullanılan suş sayısının azlığına bağlı olarak direnç oranları çok yüksek olarak bildirilmiştir.

Mikrodilüsyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda *Candida* suşlarının flukonazole MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri bildirilmiştir.

Barry ve ark. mikrodilüsyon yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada 495 *Candida* suşu için (303 *C. albicans*, 84 *C. parapsilosis*, 37 *C. glabrata*, 38 *C. tropicalis* ve 33 *C. krusei*) MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini belirlemiştir. Bu çalışmaya göre flukonazolun *C. albicans* için MİK₅₀ değeri 0,25 µg/ml, MİK₉₀ değeri 1 µg/ml; *C. parapsilosis* için MİK₅₀ değeri 1 µg/ml, MİK₉₀ değeri 4 µg/ml; *C. glabrata* için MİK₅₀ değeri 4µg/ml, MİK₉₀ değeri 8 µg/ml; *C. tropicalis* için MİK₅₀ değeri 0,5 µg/ml, MİK₉₀ değeri 1 µg/ml; *C. krusei* için MİK₅₀ değeri 64 µg/ml, MİK₉₀ değeri 128 µg/ml olarak bildirilmiştir (77).

Matar ve ark. mikrodilüsyon yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada flukonazolun 205 *C. albicans* suşu için MİK₅₀ değerini 0,25 µg/ml, MİK₉₀ değerini 0,5 µg/ml; 66 *C. parapsilosis* suşu için MİK₅₀ değerini 0,5 µg/ml, MİK₉₀ değerini 4 µg/ml; 56 *C. tropicalis* suşu için MİK₅₀ değerini 1 µg/ml, MİK₉₀ değerini 16 µg/ml; 39 *C. glabrata* suşu için MİK₅₀ değerini 8µg/ml, MİK₉₀ değerini 32 µg/ml; *C. krusei* için MİK₅₀ değerini 32 µg/ml, MİK₉₀ değerini 64 µg/ml olarak bildirmiştir (78).

Pfaller ve ark. yaptıkları bir diğer çalışmada 11654 *Candida* suşunun flukonazol için MİK₅₀ değerini 0,25 µg/ml, MİK₉₀ değerini 16 µg/ml olarak bildirmişlerdir (80).

Tüm çalışmalar değerlendirildiğinde MİK₅₀ değerlerinin *Candida* suşları için 0,25 µg/ml; *C. albicans* için 0,25 µg/ml; *C. glabrata* için 4-8 µg/ml arasında; *C. parapsilosis* için 0,5 µg/ml, *C. tropicalis* için 0,5-1 µg/ml arasında olduğu; MİK₉₀ değerlerinin *Candida* suşları için 16µg/ml, *C. albicans* için 0,5 -1 µg/ml arasında; *C. glabrata* için 8-32µg/ml arasında; *C. parapsilosis* için 4µg/ml, *C. tropicalis* için 1-16µg/ml arasında olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada mikrodilüsyon yöntemi ile 50 *Candida* suşunun flukonazole duyarlılıkları incelenmiş ve bu suşların MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri tespit edilmiştir. Flukonazolun tüm suşlar için MİK₅₀ değeri 1 µg/ml, MİK₉₀ değeri 4 µg/ml; *C. albicans*

için MİK₅₀ 0,125 µg/ml, MİK₉₀ 1 µg/ml; *C. glabrata* için MİK₅₀ değeri 1 µg/ml, MİK₉₀ değeri 4 µg/ml; *C. parapsilosis* için MİK₅₀ değeri 0,5 µg/ml, MİK₉₀ değeri 4µg/ml; *C. tropicalis* için MİK₅₀ değeri 0,125 µg/ml, MİK₉₀ değeri 1 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarının diğer çalışmalarla uyum gösterdiği saptanmıştır.

Son yıllarda geliştirilen; mikrodilüsyon yöntemine göre uygulanması daha kolay, maliyeti daha düşük olan disk difüzyon yönteminin güvenilirliğini tespit etmek amacıyla flukonazole ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Posteraro ve ark. 93 *Candida* suşu (65 *C. albicans*, 13 *C. glabrata*, 8 *C. tropicalis*, 7 *C. parapsilosis*) ile yaptığı bir çalışmada, 73 *Candida* suşunu (61 *C. albicans*, 1 *C. glabrata*, 5 *C. tropicalis*, 6 *C. parapsilosis*) disk difüzyon yöntemi ile flukonazole duyarlı; iki *Candida* suşunu (1 *C. albicans*, 1 *C. parapsilosis*) flukonazole doza bağlı duyarlı; 15 *Candida* suşu (3 *C. albicans*, 12 *C. glabrata*) flukonazole dirençli bildirmiştir. Bu sonuçlar mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında uyum *C. albicans* için %98,4, *C. glabrata* için %46,1, *C. parapsilosis* için %14,2, *C. tropicalis* için %62,5 olarak bildirilmiştir (69).

Rubio ve ark 150 *Candida* suşu ile yaptıkları bir çalışmada; 120'sinin (%80) disk difüzyon yöntemi ile flukonazole duyarlı; dördünün (%2,5) doza bağlı duyarlı; 26'sının (%17,5) dirençli olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada Rubio ve ark 63 *C. albicans* suşunun 62'sini (%98,5) duyarlı, birini (%1,5) dirençli; 25 *C. dubliniensis* suşunun tümünü (%100) duyarlı; 25 *C. glabrata* suşunun yedisini (%28) duyarlı, üçünü doza (%12) bağlı duyarlı, 14'ünü (%56) dirençli; 22 *C. parapsilosis* suşunun 21'ini (%95,5) duyarlı, birini (%0,5) dirençli; 10 *C. krusei* suşunun tümünü (%100) dirençli; 5 *C. tropicalis* suşunun dördünü (%80) duyarlı; birini (%20) doza bağlı duyarlı olarak bildirmiştir. Bu yöntem mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında %95,37 uyum bildirilmiştir (70).

Pfaller ve ark. 235 *C. glabrata* suşu ile yaptıkları bir çalışmada, suşların 212'sini (%90) disk difüzyon yöntemi ile flukonazole duyarlı; beşinin (%2) doza bağlı duyarlı, 20'sinin (%8) dirençli olarak bildirmiştir. Bu sonuçlar standart mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında uyum %96 olarak bildirilmiştir (53).

Pfaller ve ark. 1586 *Candida* suşu ile yaptıkları bir çalışmada, 1511 (%95) suşu disk difüzyon yöntemi ile flukonazole duyarlı; 28 (%1,7) suşu doza bağlı duyarlı, 47 (%3,3) suşu dirençli olarak bildirmiştir. Bu sonuçlar mikrodilüsyon yöntemi ile

karşılaştırıldığında uyum %93,1 uyum, %0,1 çok yüksek majör hata,%0,3 majör hata, %6,5 minör hata tespit edildiği bildirilmiştir (75).

Pfaller ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada 2949 *Candida* suşunun disk difüzyon yöntemi ile flukonazole duyarlılıklarını incelenmiş ve 2775'inin (%94,1) flukonazole duyarlı; 65'inin (%2,2) doza bağlı duyarlı; 109'unu (%3,7) dirençli olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada Pfaller ve ark 1631 *C. albicans* suşunun 1623'ünü %99,5'ini duyarlı, 6'sını doza bağlı duyarlı, 2'sini dirençli; 403 *C. glabrata* suşunun 374'ünü (%93,6) duyarlı, dokuzunu (%2,2) doza bağlı duyarlı, 20'sinin (%4,2) dirençli; 400 *C. parapsilosis* suşunun 364'ünü (%91) duyarlı; 12'sini (%3) doza bağlı duyarlı, 24'ünü (%6) dirençli; 327 *C. tropicallis* suşunun 324'ünü (%98,9) duyarlı; birini (%0,5) doza bağlı duyarlı, ikisini (%0,6) dirençli olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar standart mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında *Candida* suşları arasındaki uyum %92,8; *C. albicans* %99,6; *C. glabrata* suşlarında %71,7; *C. parapsilosis* suşlarında %93,3; *C. tropicallis* suşlarında %97,9 olarak bildirmiştir (76).

Noake ve ark. yaptıkları bir çalışmada disk difüzyon yöntemi ile 507 *Candida* suşunun flukonazole duyarlılıklarını incelenmiş ve 390 *C. albicans* suşunun %98,2'sinin, 60 *C. glabrata* suşunun %71,7'sinin, 25 *C. parapsilosis* suşunun %100'ünü, 22 *C. tropicallis* suşunun %81,8'ininin, 10 *C. krusei* suşunun %50'sini duyarlı olarak bildirilmiştir (72).

Negri ve ark. yaptıkları bir çalışmada 70 *Candida* suşunun disk difüzyon yöntemi ile flukonazole duyarlılıkları incelenmiş ve suşların %73'ü duyarlı, %20'si doza bağlı duyarlı, %7'si dirençli olarak bildirilmiştir (73).

Kim ve ark. 31 *Candida* suşu ile yaptıkları çalışmada; 19'unu (%61) disk difüzyon yöntemi ile flukonazole duyarlı, sekizini (%26) doza bağlı duyarlı, dördünü (%13) dirençli olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada Kim ve ark 15 *C. albicans* suşunun 14'ünü (%93,3) duyarlı, birini (%6,6) dirençli; yedi *C. glabrata* suşunun beşini (%71,5) doza bağlı duyarlı, ikisi (%18,5) dirençli; 10 *C. tropicallis* suşunun tümünü (%100) duyarlı olarak bildirmiştir (74).

Kiraz ve ark. 50 *C. glabrata* suşu ile yaptıkları bir çalışmada suşların 46'sı (%96) duyarlı, dördü (%8) doza bağlı duyarlı olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar

standart mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında *C. glabrata* suşları arasında %18 çok yüksek majör hata ve %74 minör hata tespit etmişlerdir (54).

Rodero ve ark yaptıkları çalışmada mikrodilüsyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi arasındaki uyum araştırılmıştır. Bu çalışmada 1193 *Candida* suşunda mikrodilüsyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi arasındaki uyum %94,7 olarak bildirilmiştir (80).

Yukarıdaki çalışmalar değerlendirildiğinde disk difüzyon yöntemi ile *Candida* türlerinin flukonazole %61-%95 arasında duyarlı, %1,7-%26 arasında doza bağlı duyarlı, %3,3-%17,5 arasında dirençli; *C. albicans* suşlarının %93,5-%92,8 duyarlı, %1,5-%6,6 arasında dirençli; *C. glabrata* suşlarının %28-%96 arasında duyarlı, %2,2-%71,5 arasında doza bağlı duyarlı, %4,2-%56 arasında dirençli; *C. parapsilosis* suşlarının %91-%100 arasında duyarlı, %0,5-%6 arasında dirençli; *C. tropicallis* suşlarının %80-%98,9 arasında duyarlı, %0,5-20 arasında doza bağlı duyarlı olduğu bildirilmiştir. Tüm çalışmalar değerlendirildiğinde *Candida* türlerindeki uyum %92,8-%96; *C. albicans* suşlarındaki uyum %98,4-%99,6; *C. glabrata* suşlarındaki uyum %46,1-%71,7; *C. parapsilosis* suşlarındaki uyum %14,2-%93,3; *C. tropicallis* suşlarındaki uyum %65,5-%97,9 olarak bildirilmiştir.

Bu çalışmada disk difüzyon yöntemi ile 50 *Candida* suşunun flukonazole duyarlılıkları incelenmiş ve 49 (%98) suş duyarlı, bir (%2) suş dirençli olarak tespit edilmiştir. 22 *C. albicans*, altı *C. parapsilosis*, iki *C. tropicallis* suşunun tümü (%100) flukonazole duyarlı; 20 *C. glabrata* suşunun 19'u (%95) duyarlı, biri (%5) dirençli olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında tüm *Candida* suşu için %93 uyum, %2 minör hata, %2,04 majör hata; 22 *C. albicans*, altı *C. parapsilosis*, iki *C. tropicallis* suşları için uyum %100; 20 *C. glabrata* için uyum %90, minör hata %5, majör hata %5,26 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmanın sonucunda iki yöntem arasında önemli bir fark bulunmamış, bu nedenle *Candida* türlerinin flukonazole duyarlılıklarının belirlenmesinde uygun maliyetli ve uygulanabilirliği daha kolay olan disk difüzyon yönteminin kullanılabilirliği belirlenmiştir. Ancak *C. glabrata* suşlarında %5 minör hata, %5,26 majör hata tespit edildiğinden bu suşlarla yapılan duyarlılık deneylerinde mikrodilüsyon yöntemi tercih edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

9. KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA.eds. *Medical microbiology*. 6th edition 2010
- 2.Sobel JD, Vazquez JA. Candidiasis. İçinde *Clinical Mycology*, Dismukes W,Pappas P. Oxford University Press. 143-187 (2003)
- 3.Cantón E., Espinel-Ingroff A., Pemán J.: Trends in antifungal susceptibility testing using CLSI commercial methods. *Expert Rev. Anti Infect Ther.* 2009; **7(1)**, 107-119
- 4.Costa C.R., Jesuino R.S., de Aquino Lemos J., de Fátima Lisboa Fernandes O., Hasimoto E., Souza L.K., Passos X.S., do Rosário Rodrigues Silva M.: Effects of Antifungal agents in sap activity of *Candida albicans* isolates. *Mycopathologia*. 2009 Aug 15.
- 5.Antonopoulou S., Aoun M., Alexopoulos E.C., Baka S., Logothetis E., Kalambokas T., Zannos A., Papadias K., Grigoriou O., Kouskouni E., Velegraki A.: Fenticonazole activity measured by the methods of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and CLSI against 260 *Candida vulvovaginitis* isolates from two European regions and annotations on the prevalent genotypes. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**:2181-2184.
- 6.Hazen K.C., Baron E.J., Colombo A.L., Girmenia C., Sanchez-Sousa A., del Palacio A., de Bedout C., Gibbs D.L.and the Global Antifungal Surveillance Group: Comparison of the susceptibilities of *Candida* spp. to fluconazole and voriconazole in a 4-year global evaluation using disk diffusion. *J Clin Microbiol.* **41**:5623-32
- 7.Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. *Candida*. İçinde *Clinical Mycology* (Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA) Elsevier Second Edition.p:197-229 (2009)
- 8.Lee S.C., Lo H.J., Fung C.P., Lee N., See L.C.: Disk diffusion test and E-test with enriched Mueller-Hinton agar for determining susceptibility of *Candida* species to voriconazole and fluconazole. *J Microbiol Immunol Infect.* **42**:148-53.
- 9.Pfaller M.A., Diekema D.J., Gibbs D.L., Newell V.A., Meis J.F., Gould I.M., Fu W., Colombo A.L., Rodriguez-Noriega E.; Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance study, 1997 to 2005: an 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol.* 2007 **45**:1735-45.

10. Pfaller M.A., Diekema D.J., Gibbs D.L., Newell V. A., Ellis D. Tulliono V. Rodloff A. Fu W. Ling TA, and the Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance study, 1997 to 2007: an 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol.* **48**:1366-77.
11. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard- Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008
12. NCCLS. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Approved Guideline. NCCLS M44-A [ISBN 1-56238-532-1]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2004.
13. Pfaller M.A, Diekema DJ, Sheehan DJ. Interpretive Breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: a blueprint for the future of antifungal Susceptibility Testing. *Clinical Microbiology Reviews* 2006, 435-477.
14. Segal E, Elad D. Candididiasis. In Medical Mycology 10th Edition. Merz WG, Hay RJ. (2005)
15. Koç NA. Tıbbi bakımdan önemli olan *Candida* türlerinin mikolojik özellikleri . İçinde Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y, editörler. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No:43. Eskişehir: Oğü Basımevi; 2002. s.47-54.
16. Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. İçinde Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. vol. 2: Washington, D.C: ASM Press; 2007 ;1762-1788
17. Premisler T, Zahedi RP et al. Recent advances in yeast organelle and membrane proteomics. *Proteomics* 2009, 9 , 4731-4743. (2009)
18. Hoog GS, Guarro J, Figueras MJ. *Atlas of Clinical Mycology* 2nd edition (2000)
19. Topçu Willke A, Çerikcioğlu N. *Candida* türleri. İçinde Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre İnfeksiyonlar Cilt 2*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002 s.1797-1809
20. Çerikçioğlu N. *Candidaların ince yapısı*. İçinde Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y, editörler. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No:43. Eskişehir: Oğü Basımevi; 2002. s.3-28.

21. Poulain D, Jouault T. Candida albicans cell wall glycans, host receptors and responses: elements for decisive crosstalk. *Current opinion in microbiology* 2004, 7;342-349
22. Sohn K, Schwenk J, Urban C, Lechner J, Schweikert M, Rupp S. Getting in touch with Candida albicans: the cell wall of a fungal pathogen. *Curr Drug Targets*. 2006 7(4):505-12.
23. Chaffin WL. Candida albicans Cell Wall Proteins. *Microbiology and Molecular Microbiology Reviews*, 2008, 495-544
24. Gozalbo D. et al. Candida and Candidiasis: The cell wall as a potential molecular target for antifungal therapy. *Current Drug Targets- Infectious Disorders*. 2004, 4, 117-135.
25. Shea YR. Algorithms for detection and identification of fungi. In . *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. vol. 2: Washington, D.C. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors: ASM Press; 2007 pp.1762-1788
26. Taşyürek O. Sistemik Mikoza Etkenlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kromojenik Besiyerinin Önemi. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi 2009.
27. Gentry L.O., Wilkinson ID, Lea S et al. Latex agglutination test for detection of C antigen in patients with disseminated disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2: 122-128, 1983.
28. Kerkering TM, et al. Detection of Candida antigenemia by counterimmunoelectrophoresis in patients with invasive candidiasis. *J Infect Dis* 140;695-644. 1979.
29. Obayashi T, Yoshida M, Mori T, Gotto H et al. Plasma (1-3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet* 345:17-20; 1995.
30. Tanısal Moleküler Mikrobiyoloji Teorik ve Uygulamalı Kursu. Teorik Ders Notları GÜ İletişim Fakültesi Basımevi 18-19-20 Aralık.2009 Ankara
31. V. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu. 13-17 Eylül 2010 Hıfısaha. Ankara.
32. SH Raut, A Varaiya. Different of Candida dubliniensis on Chrom agar and Pal's agar. *Indian Journal of Medical Microbiology*, (2009) 27: 55-8

33. Venitia M, Cooke R, J. Miles, R. G. Price, G. Midgley, W. Khamri, and A. C. Richardson. New Chromogenic Agar Medium for the Identification of *Candida* spp. *Applied and Environmental microbiology* July 2002, p. 3622–3627
34. Suvillian D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristic and identification. *J Cil Microbiol*: **36**:329-334, 1998.
35. Hidalgo J A, Brown W. Invasive *Candida dubliniensis* in an HIV-negative patient: A new opportunistic fungal pathogen. *Infect Dis Clin Pract*: 176-179, 2000
36. Annie S. Kao, Mary E. Brandt et al. The Epidemiology of Candidemia in Two United States Cities: Results of a Population-Based Active Surveillance. *Clinical Infectious Diseases* 1999;**29**:1164–70
37. Kourkoumpetis T, Manolakaki D, et al. *Candida* infection and colonization among non-trauma emergency surgery patients. *Virulence* 1:**5**, 359-366;
38. Morace G., Borghi E. Fungal infections in ICU patients: epidemiology and role of diagnosis. *Minerva Anestesiol*;76(11):950-6
39. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clinical microbiology Reviews*, 2007, 133–163
40. Wisplinghoff H, Bischoff T, et al. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Infectious Diseases Society of America* 1058-4838/2004
41. David L. Horn et al. Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clinical Infectious Diseases* 2009; 48:1695–703
42. Oliveira PM, Mascarenhas RE, Lacroix C. *Candida* species isolated from the vaginal mucosa of HIV-infected women in Salvador, Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2011 Jun;15(3):239-44.
43. Dizbay M, Kalkanci A, Sezer BE, Aktas F, Aydogan S, Fidan I, Kustimur S, Sugita T. Molecular investigation of a fungemia outbreak due to *Candida parapsilosis* in an intensive care unit. *Braz J Infect Dis*. 2008 Oct;12(5):395-9.
44. Arikan S, Rex J H. Antifungal Agents. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. vol. 2: Washington, D.C: ASM Press; 2007 pp.1949-1960

45. Welscher YM, et al. Natamycin Inhibits Vacuole Fusion at the Priming Phase via a Specific Interaction with Ergosterol *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, p. 2618–2625
46. Carrillo-Muñoz A.J, Giusiano G. Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. *Rev Esp Quimioterap*, 2006; **19 ;2**: 130-139
47. George R. et al. Overview of Antifungal Agents. *Clin Chest Med* 30 (2009) 203–215
48. Prajna NV et al. Comparison of Natamycin and Voriconazole for the Treatment of Fungal Keratitis. *Arch Ophthalmol*. 2010;**128(6)**:672-678
49. Sharon C A Chen and Tania C Sorrell, Antifungal agents. *MJA* 2007; 187 (**7**): 404-409
50. Gupta AK, Ryder JE, Cooper EA. Naftifine: a review. *J Cutan Med Surg*. 2008;**12(2)**:51-8.
51. Fera MT et al. New triazoles and echinocandins: mode of action, invitro activiti and mechanisim of resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2009 :**7(8)**:981-98.
52. Guinea J, Sánchez-Somolinos M, Cuevas O, Peláez T, Bouza E. Fluconazole resistance mechanisms in *Candida krusei*: the contribution of efflux-pumps. *Med Mycol*. 2006 Sep;**44(6)**:575-8.
53. Pfaller MA, Diekema DJ, Boyken L, Messer SA, Tendolkar S, Hollis RJ. Evaluation of the Etest and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol*. 2003;**41(5)**:1875-80.
54. Kiraz N, Dag I, Oz Y, Yamac M, Kiremitci A, Kasifoglu N. Correlation between broth microdilution and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of caspofungin, voriconazole, amphotericin B, itraconazole and fluconazole against *Candida glabrata*. *J Microbiol Methods*. 2010;**82(2)**:136-40.
55. White TC. Mechanisim of Resistance to Antifungal Agents. İçinde Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. vol. 2: Washington, D.C: ASM Press; 2007 pp.1961-1971

56. Lupetti A, Danesi R et al. Molecular basis of resistance to azole antifungals. Trends in molecular *Medicine* **Vol.8 No2**
57. Ghannoum M, Rice L. *Antifungal agents: mode of action, Mechanism of Resistance and correlation of these mechanism with bacterial Resistance. Clinical Microbiology Reviews*, 2009, p.501-517.
58. Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Infection Diseases* vol2 2002
59. Kontoyiannis D, Rewis RE. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lancet* 2002;**359**:1135-44
60. Wang H, Kong F, Sorrell TC, Wang B, McNicholas P, Pantarat N, Ellis D, Xiao M, Widmer F, Chen SC. Rapid detection of ERG11 gene mutations in clinical *Candida albicans* isolates with reduced susceptibility to fluconazole by rolling circle amplification and DNA sequencing. *BMC Microbiol.* 2009 **14**;9:167.
61. Coste A, Selmecki A, Forche A, Diogo D, Bougnoux ME, d'Enfert C, Berman J, Sanglard D. Genotypic evolution of azole resistance mechanisms in sequential *Candida albicans* isolates. *Eukaryot Cell.* 2007 ;**6(10)**:1889-904.
62. Espinel-Ingroff AV, Pfaller A. Susceptibility Test Methods: Yeast and Filamentous Fungi. İçinde Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. vol. 2: Washington, D.C: ASM Press; 2007 pp.1961-1971
63. Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, Warnock DW. Comparative evaluation of FUNGITEST and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol.* 1998;**36(4)**:926-30.
64. Anaissie EJ, Paetznick VL, Ensign LG, Espinel-Ingroff A, Galgiani JN, Hitchcock CA, LaRocco M, Patterson T, Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG. Microdilution antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* with and without agitation: an eight-center collaborative study. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996 ;**40(10)**:2387-91.

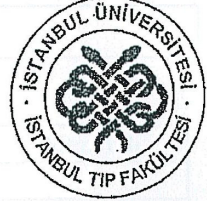
65. Nguyen MH, Yu CY. Influence of incubation time, inoculum size, and glucose concentrations on spectrophotometric endpoint determinations for amphotericin B, fluconazole, and itraconazole. *J Clin Microbiol.* 1999;**37**(1):141-5.
66. Chaturvedi V, Ramani R, Pfaller MA. Collaborative study of the NCCLS and flow cytometry methods for antifungal susceptibility testing of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol.* 2004;**42**(5):2249-51.
67. Neosensitabs susceptibility Testing supplement Users Guide 2006.
68. Guidance for Industry and FDA. Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health. Document no 631. 2009
69. Posteraro B, Romano L, Sanguinetti M, Masucci L, Morace G, Fadda G. Commercial systems for fluconazole susceptibility testing of yeasts: comparison with the broth microdilution method *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000 ;**38**(1):29-36
70. Rubio MC, Gil J, De Ocariz IR, Benito R, Rezusta A. Comparison of results obtained by testing with three different agar media and by the NCCLS M27-A method for in vitro testing of fluconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol.* 2003;**41**(6):2665-8.
71. Espinel-Ingroff A, Canton E, Gibbs D, Wang A. Correlation of Neo-Sensitabs tablet diffusion assay results on three different agar media with CLSI broth microdilution M27-A2 and disk diffusion M44-A results for testing susceptibilities of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B, caspofungin, fluconazole, itraconazole, and voriconazole. *J Clin Microbiol.* 2007; **45**(3):858-64.
72. Noake T, Kuriyama T, White PL, Potts AJ, Lewis MA, Williams DW, Barnes RA. Antifungal susceptibility of *Candida* species using the Clinical and Laboratory Standards Institute disk diffusion and broth microdilution methods. *J Chemother.* 2007;**19**(3):283-7.
73. Negri M, Henriques M, Svidzinski TI, Paula CR, Oliveira R. Correlation between Etest, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of *Candida* species from infection and colonization. *J Clin Lab Anal.* 2009;**23**(5):324-30.

74. Kim TH, Lee MK. Comparison of the Vitek 2 system with the CLSI broth microdilution, disk diffusion, and sterol quantitation methods for determining fluconazole susceptibility against *Candida* spp. *Clin Chem Lab Med*. 2010;**48(2)**:297-8.
75. Pfaller MA, Hazen KC, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Comparison of results of fluconazole disk diffusion testing for *Candida* species with results from a central reference laboratory in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol*. 2004 ;**42(8)**:3607-12.
76. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ. Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by Broth microdilution, disk diffusion, and Etest methods: report from the ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program, 2001. *J Clin Microbiol*. 2003;**41(4)**:1440-6.
77. Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD. Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, Etest, and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;**46(6)**:1781-4.
78. Matar MJ, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. Correlation between E-test, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;**47(5)**:1647-51.
79. Pfaller MA, Boyken LB, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. Validation of 24-hour fluconazole MIC readings versus the CLSI 48-hour broth microdilution reference method: results from a global *Candida* antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol*. 2008 ;**46(11)**:3585-90.
80. Rodero L, Córdoba S, Vivot W, Campo M, Corfield P, Olgún C, Cuirolo A, Soria M, Guelfand L, Canteros CE, Davel G; Disk diffusion method for fluconazole susceptibility testing of *Candida* spp. isolates. *Rev Argent Microbiol*. 2006;**38(3)**:155-63

ETİK KURUL KARARI



T.C.
 İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
 İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
 İSTANBUL 2 NO'LU KLİNİK ARAŞTIRMALAR
 ETİK KURULU



Sayı : 115

Tarih : 18/01/2010

Konu : Prof.Dr. Meltem UZUN hk,

Sayın Prof.Dr. Meltem UZUN
 Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
 Öğretim Üyesi
 İlgili :17.12.2009 tarihli 1072 sayılı yazınız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Biyolog Başak ER'in yürüteceği 2010/13-11 dosya numaralı "Flukonazolün candida cinsi mayalar üzerine etkisinin disk difüzyon yöntemiyle araştırılması" başlıklı yüksek lisans tezi kurulumuzun 06.01.2010 tarihli 01 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
 İstanbul Tıp Fakültesi
 İstanbul 2 No'lu Klinik Araştırmalar
 Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Başak	Soyadı	ER
Doğ. Yeri	İstanbul	Doğ. Tar.	31.07.1985
Uyruğu	TC	TC Kim No	29572877872
Email	basakerr@gmail.com	Tel	05326200755

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İ.Ü Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Üsküdar Çağrıbey Anadolu Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	iyi	iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödüülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):