

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FUNGEMİ ETKENİ *CANDIDA ALBICANS* VE NON-
ALBICANS AYRIMINDA KULLANILAN GERM TÜP
DENEY SÜRESİNİN AZALTILMASINDA
YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Mustafa SUMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Feza OTAĞ

MERSİN - 2010

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FUNGEMİ ETKENİ *CANDIDA ALBICANS* VE NON-
ALBICANS AYRIMINDA KULLANILAN GERM TÜP
DENEY SÜRESİNİN AZALTILMASINDA
YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Mustafa SUMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Feza OTAĞ

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE TM (MS) 2009-1 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 174

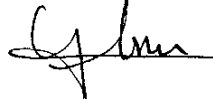
MERSİN – 2010

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan “Fungemi Etkeni *Candida albicans* ve non-*albicans* Ayrımında Kullanılan Germ Tüp Deney Süresinin azaltılmasında Yöntemlerin Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması” başlıklı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

13.09.2010



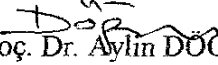
Prof. Dr. Gönül ASLAN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Feza OTAĞ

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi/Danışman



Yrd. Doç. Dr. Aylin DOĞEN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 20.09.2010. tarih ve 2010/283 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım andan itibaren her konuda desteğini gördüğüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ'a, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Feza OTAĞ başta olmak üzere değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN, Sayın Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK, Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALİOĞLU ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN'a, Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Mehmet Sami SERİN'e Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Aylin DÖĞEN'e

Tez çalışması sırasında yardımlarını esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Arzu KANIK, Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN ve Arş. Gör. İlter HELVACI'ya,

Tez çalışmam boyunca laboratuvar ortamında sonsuz desteklerini gördüğüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarında görev yapan Doktora Öğrencisi Şahin DİREKEL başta olmak üzere anabilim dalında çalışan tüm arkadaşlarıma,

Yetişmemde emeği büyük olan, maddi ve manevi destekleriyle yanımda olduklarını sürekli hissettiren aileme,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu tez çalışmam sırasında da beni destekleyen hayat arkadaşım Esra GÜREL SUMAK'a

Sonsuz teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Mantarların Genel Özellikleri ve Tanı Yöntemleri	4
2.1.1. Genel Özellikler	4
2.1.2. Mantar Hücre Yapısı	4
2.1.3. Mantarlarda Üreme Koşulları ve Üreme	5
2.1.3.1. Eşeyli (Seksüel) Üreme	6
2.1.3.2. Eşeyli Sporlar	6
2.1.3.3. Eşeysiz (Aseksüel) Üreme	7
2.1.3.4. Eşeysiz Sporlar	7
2.1.4. Mantarların Sınıflandırılması	9
2.1.5. Mayalar	10
2.1.5.1. Mayaların Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler	11
2.1.5.1.1. Fenotipik Yöntemler	12
2.1.5.1.2. Genotipik Yöntemler	15
2.1.6. Tıbbi Öneme Sahip <i>Candida</i> Türleri	17
2.1.7. <i>Candida</i> 'ların Üreme Koşulları	21
2.1.8. <i>Candida</i> 'ların Hücre Yapısı	21
2.1.8.1. Hücre İskeleti	21
2.1.8.2. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı	21
2.1.8.3. Hücre Membranı	22

2.1.9. <i>Candida</i> 'ların Virulans Faktörleri	22
2.1.10. Patogenez	26
2.1.11. Kandidozların Sınıflandırılması	26
2.1.11.1. Yüzeysel Kandidozlar	27
2.1.11.2. Derin/Sistemik Kandidozlar	27
2.1.12. <i>Candida</i> İnfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Serolojik Yöntemler	28
2.1.12.1. Antikor Saptanması	28
2.1.12.2. Antijen Saptanması	29
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1. Kullanılan Cihazlar	31
3.2. Kullanılan Sarf Malzemeleri	32
3.3. Kullanılan Standart Suşlar	32
3.4. Kullanılan Hazır Toz Besiyerleri, Kimyasal Maddeler, Kullanıma Hazır Ticari Besiyerleri, Kan ve Kan Ürünleri, Hazırladığımız Deney Ortamlarımız (DO)	33
3.4.1. Hazır Toz Besiyerleri	33
3.4.2. Kimyasal Maddeler (Yüzeysel Gerilimini Azaltıcı Maddeler)	33
3.4.3. Kullanıma Hazır Ticari Besiyeri	33
3.4.4. Kan ve Kan Ürünleri	34
3.4.5. Germ Tüp Testi İçin Hazırladığımız Deney Ortamlarımız	34
3.5. Kullanılan Besiyerleri ve Deney Ortamlarının Hazırlanması	35
3.5.1. MUTA, %2 Tween80'li Mısırunlu Agar'ın Hazırlanması	35
3.5.2. MUS, %75'lik Mısırunlu DO'nun Hazırlanması	36
3.5.3. S-MUS, %25 Safralı Mısırunlu DO'nun Hazırlanması	36
3.5.4. TDP-MUS, %25 Taze Donmuş Plazmalı Mısırunlu DO'nun Hazırlanması	36
3.5.5. SS-MUS, %25 Seroloji Serumlu Mısırunlu DO'nun Hazırlanması	37
3.5.6. KDS-MUS, %25 Kan Donör Serumlu Mısırunlu DO'nun Hazırlanması	37

3.5.7. T-MUS, %25 Tween80'li Mısırunlu DO'nun Hazırlanması	37
3.5.8. MHB, Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri DO'nun Hazırlanması	38
3.5.9. S-MHB, %10 Safralı Mueller-Hinton DO'nun Hazırlanması	38
3.5.10. T-MHB, %10 Tween80'li Mueller-Hinton DO'nun Hazırlanması	38
3.5.11. SDB, Sabouraud Dekstroz Sıvı Besiyeri DO'nun Hazırlanması	39
3.5.12. T-SDB, %10 Tween80'li Sabouraud DO'nun Hazırlanması	39
3.5.13. S-KDS, %10 Safralı Kan Donör Serumı DO'nun Hazırlanması	39
3.5.14. T-KDS, %10 Tween80'li Kan Donör Serumı DO'nun Hazırlanması	40
3.5.15. T ₂₀ -KDS, %20 Tween80'li Kan Donör Serumı DO'nun Hazırlanması	40
3.5.16. S-TDP, %10 Safralı Taze Domuş Plazma DO'nun Hazırlanması	40
3.5.17. T-TDP, %10 Tween80'li Taze Domuş Plazma DO'nun Hazırlanması	41
3.5.18. S-SS, %10 Safralı Seroloji Serumı DO'nun Hazırlanması	41
3.5.19. T-SS, %10 Tween80'li Seroloji Serumı DO'nun Hazırlanması	41
3.5.20. SDA, Sabouraud Dekstroz Agar'ın Hazırlanması	42
3.5.21. Modifiye Tuz Tolerans Testi Besiyerinin Hazırlanması	42
3.6. Germ Tüp Deneyi İçin Uygulanan Yöntemler	42
3.7. Çalışma Örneklerinin Kaydedilmesi	43
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	44
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
7. KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ	86

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Mantar hücresi yapısı	5
Şekil 2.2. Askospor oluşumu	6
Şekil 2.3. Zigospor oluşumu	6
Şekil 2.4. Bazidiyosporun oluşumu	7
Şekil 2.5. Maya hücreleri, psödohif, klamidospore, blastospor	7
Şekil 2.6. Eşeysiz sporlar	8
Şekil 2.7. Tuz tolerans testi: Soldan sağa; <i>C. albicans</i> standart suşları ekilmiş petri (üreme var), <i>C. dubliniensis</i> (üreme yok).(Çalışmamızdan)	15
Şekil 2.8. Soldan sağa; <i>C. dubliniensis</i> klinik izolat (üreme yok), <i>C. albicans</i> standart suşları (üreme var) (Çalışmamızdan)	15
Şekil 2.9. <i>C. dubliniensis</i> 'in mısırunlu jelozda çoklu klamidospore üretimi	20
Şekil 2.10. <i>C. albicans</i> 'ın mısırunlu jelozda tekli ve ikili klamidospore üretimi	20

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Alexopulos tarafından 1979'da yapılan sınıflandırma	9
Çizelge 2.2. Mantarların kliniğe yönelik olarak sınıflandırılması	10
Çizelge 2.3. Tıbbi önemi olan mantarların sınıflandırılması	10
Çizelge 3.1. Sonuçların kaydedildiği çizelge örnekleri	44
Çizelge 4.1. Kan kültüründen izole edilen mayaların servislere göre dağılımı	45
Çizelge 4.2. <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. dubliniensis</i> olarak tanımlanmış 73 suşun servislere göre dağılımı	46
Çizelge 4.3. <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. dubliniensis</i> olarak tanımlanmış 73 suşun klinik örneklerle göre dağılımı	47
Çizelge 4.4. <i>C. albicans</i> (44 klinik, 16 hemokültür örneği, 2 standart suş) suşlarının 21 farklı deney ortamındaki GT (+)'lik sayıları	48
Çizelge 4.5. <i>C. tropicalis</i> (10 klinik örnek, 1 standart suş) suşlarının 21 farklı deney ortamındaki GT (+)'lik sayıları	49
Çizelge 4.6. <i>C. albicans</i> ve <i>C. dubliniensis</i> türlerinin modifiye tuz tolerans testi ve 42°C'de üreme durumları (+: Üreme pozitif, -: Üreme negatif)	50
Çizelge 4.7. <i>C. dubliniensis</i> (5 klinik örnek) suşlarının 21 farklı deney ortamındaki GT (+)'lik sayıları	51
Çizelge 4.8. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif (16 hemokültür örneği) suşlarının 13 farklı deney ortamında koloniden GT deneyinde görülen GT (+)'lik sayıları	52
Çizelge 4.9. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif (16 hemokültür örneği) suşlarının 13 farklı deney ortamında doğrudan GT deneyinde görülen GT (+)'lik sayıları	53
Çizelge 4.10. BACTEC- <i>tropicalis</i> pozitif (4 hemokültür örneği) suşlarının 13 farklı deney ortamında doğrudan GT deneyinde görülen GT (+)'lik sayıları	54
Çizelge 4.11. KDS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	55

Çizelge 4.12. KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	55
Çizelge 4.13. TDP-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	55
Çizelge 4.14. T-KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	56
Çizelge 4.15. SS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	56
Çizelge 4.16. TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	56
Çizelge 4.17. T ₂₀ -KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	57
Çizelge 4.18. SS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	57
Çizelge 4.19. S-KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	57
Çizelge 4.20. S-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	57
Çizelge 4.21. T-TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	58
Çizelge 4.22. S-TDP ve T-SS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	58
Çizelge 4.23. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile doğrudan GT deneyinde KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	58
Çizelge 4.24. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile doğrudan GT deneyinde KDS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	59
Çizelge 4.25. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile doğrudan GT deneyinde TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	59

Çizelge 4.26. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile doğrudan GT deneyinde MHB ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	59
Çizelge 4.27. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile doğrudan GT deneyinde S-TDP, S-KDS, SS, S-SS, T-KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	60
Çizelge 4.28. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	60
Çizelge 4.29. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde KDS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	61
Çizelge 4.30. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	61
Çizelge 4.31. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde S-TDP, S-KDS, T-KDS, SS, S-SS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	61
Çizelge 4.32. BACTEC- <i>albicans</i> pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde T-MHB ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar	62

ÖZET

Fungemi Etkeni *Candida albicans* ve non-*albicans* Ayrımında Kullanılan Germ Tüp Deney Süresinin Azaltılmasında Yöntemlerin Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması

Candida albicans ve non-*albicans* türlerinin ayrımında kullanılan germ tüp (GT) deneyinin pozitif reaksiyon verme süresinin azaltılmasına yönelik araştırmaların yapılması için farklı deney ortamları karşılaştırılmış ve benzer sonuçların fungemili hastaların kan kültürlerinden alınan örneklerle de elde edilemeyeceğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na Mart-Ağustos 2009 tarihleri arasında gönderilen, Gram boyama ile maya pozitif saptanmış 105 kan kültür şişesi ile çeşitli klinik örneklerden izole edilen 73 *Candida* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Hazırlanan 21 farklı deney ortamında, klinik izolat kolonilerinden hazırlanan maya süspansiyonları ve maya pozitif BACTEC şişelerinden doğrudan inokülasyonlar 37°C'deki inkübasyonları sırasında 15'er dakika (dk) arayla mikroskopik olarak incelenmiştir.

KDS-MUS (1 kan donör serumu+3 mısır unlu sıvı besiyeri) 45. dk'da %53,33, 60. dk'da %90 oranında, taze donmuş plazma ve kan donör serumu ise 60. dk'dan itibaren %60'ın üzerinde GT pozitifliği veren deney ortamları olarak belirlenmiştir.

Mısır unlu sıvı besiyerine %25 taze donmuş plazma ve kan donör serumu ilavesinin GT oluşturmada başarı oranını arttırdığı gözlenmiştir. Sabouraud Dekstroz, Mueller-Hinton ve mısır unlu sıvı besiyerleri ile biyolojik ürünler olan seroloji serumu, taze donmuş plazma ve kan donör serumuna %10 Tween80 veya safra ilavesinin GT oluşturmada başarı oranını arttırmadığı saptanmıştır.

Maya pozitif kan kültür şişelerinin Gram boyama sonuçları ile KDS besiyerinde GT oluşum sürelerinin birlikte değerlendirilmesiyle *Candida* türlerinden özellikle *C. albicans*'ın ayrımında daha da hızlı tanıya gidilebileceği olanaklı gözükmektedir.

Anahtar Kelimeler: *C. albicans*, Fungemi, Hızlı Germ Tüp Testi, Germ Tüp Deney Ortamları, %25 Kan Donör Serumlu Mısır unlu Sıvı Besiyeri

ABSTRACT

The Compare Investigation of Methods in Decreasing Time Period of Germ Tube Test Used in the Differentiation of Fungemia Agent *Candida albicans* and non-*albicans*

The aim of this study is to compare different test media in terms of reducing the time of positive reaction by germ tube (GT) experiment method used for differentiation *Candida albicans* and non-*albicans* fungemia agents and to detect the performance of these methods on blood culture samples of fungemic patients.

Between March-August 2009, 105 yeast positive blood culture bottles detected by Gram staining and 73 clinical *Candida* isolates which were collected from Mersin University Faculty of Medicine Department of Medical Microbiology Laboratory were included into this study. Yeast suspensions prepared from colonies of clinical isolates and yeast positive BACTEC blood culture bottles were inoculated directly on to 21 different test media, incubated at 37°C and examined microscopically in every 15 minutes.

At the 45th and 60th minutes, positive ratio was 53,33% and 90% respectively for the test medium prepared from blood donor sera+corn meal broth (1:3) and it was determined as the most successful media in detecting GT positivity, after 60th minutes, GT positivity ratio was 60% for the test medium prepared from freshly frozen plasma and blood donor sera.

Addition of 25% freshly frozen plasma and blood donor sera into cornmeal broth increased the success rate in GT formation whereas addition of 10% Tween 80 or bile into Sabouraud Dextrose, Mueller-Hinton and cornmeal broth media with biological products like serology sera, freshly frozen plasma or blood donor sera did not increased the success rate in GT formation.

It seems to be possible that differentiation of *Candida* species, especially for *C. albicans*, evaluation of both Gram stain results and GT formation times in blood donor sera medium results in yeast positive blood culture bottles would provide a rapid diagnosis of fungemia.

Key words: *C. albicans*, Fungemia, Rapid Germ Tube Test, Germ Tube Experiment Medias, Corn Meal Broth plus 25% Blood Donor Sera

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doğada çok sayıda mantar türü bulunmakla beraber (yaklaşık 100,000-150,000) çok azı (150-200) insanlarda hastalık oluşturur. *Candida* türleri doğada yaygın olarak bulunan ve *Cryptococcaceae* ailesinde yer alan eşeysiz maya mantarlarıdır. Bu cins içerisinde 200'e yakın tür bulunmaktadır (1, 2).

Candida türleri normalde insan deri ve mukoza florasında bulunan mikroorganizmalardır. Doğum sırasında veya doğumdan kısa bir süre sonra yenidoğana bulaşarak söz konusu flora içinde yerlerini alırlar. Normal bireylerin %30-50'sinin ağzında ve gastrointestinal kanalında bulunurlar. Bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında kandidemi olarak tanımlanan yüzeysel ve/veya kronik infeksiyonlara neden olurlar. Florada bulunmaları nedeniyle infeksiyonlarının çoğu endojendir. Sistemik mikozlar arasında en sık görülen kandidozdur (3).

Sağlıklı kişilerin çoğunda hastalık yapmazken konak savunmasının bozulduğu kişilerde infeksiyon yapan mantarlar fırsatçı mantarlar denir. Fırsatçı patojen mantarlar arasında *Candida* türleri ve bunlar arasında da *C. albicans* en sık hastalık nedeni olanlardır (4, 5).

Son 20 yılda fırsatçı mantar patojenleriyle oluşan hastane kaynaklı (nozokomiyal) infeksiyonların sıklığının giderek artması günümüzün önemli sorunlarından biridir. Fırsatçı mantar infeksiyonlarının gelişmesine zemin hazırlayan klinik koşullar arasında derinin maserasyonu (örneğin, nem ile), Diabetes Mellitus (DM), hücrel immun yetmezlikler, geniş etki alanlı antibiyotikler, kortikosteroidler ve immunosupresif ilaçlar, bazı viral infeksiyonlar, nötrojeni (malignite veya malignitenin tedavisi nedeniyle), bazı ameliyatlara (organ nakilleri, kalp ve gastrointestinal kanal ameliyatlara), ciddi yanıklar, invazif girişimler (katater, diyaliz, aspirasyon, skopi uygulamaları), kazanılmış immun yetmezlik sendromu (Acquired Immune Deficiency Syndrome-AIDS), kronik yatağa bağlayıcı hastalıklar, damardan narkotik kullanımı yer almaktadır. Ayrıca yoğun bakım ünitelerinin gelişerek destek tedavisindeki hastaların artması fungal infeksiyonlara duyarlı hasta sayısını ve çeşidini değiştirmiştir (3, 4, 6, 7).

Candida türleri hem yüzeysel hem derin sistemik infeksiyonlara sebep olabilmektedir. Yüzeysel infeksiyonlar çoğunlukla toplumda görülürken, derin sistemik infeksiyonlar hastane kökenlidir (8).

Fırsatçı mantar patojenleri arasında *Candida* türleri önemli bir yer tutmaktadır. *Candida* türleri ile fungemi sıklığı ve mortalitesi giderek artan önemli bir sorundur. Geriye dönük yapılmış olan bir çalışmada değişik fungal infeksiyonlarda ölüm oranı %73-84 olarak bildirilmiştir. Kandidemiye bağlı kan infeksiyonları 1980'lerden günümüze %487 artmış ve tüm kan infeksiyonlarındaki oranı %8-15 olarak tespit edilmiştir (9). Kandidemi, neden olduğu hastane infeksiyonlarında yüksek ölüm oranlarına (%40) neden olmaktadır (10). Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention-CDC) ve Ulusal Hastane İnfeksiyonları Sürveyansı (National Nosocomial Infections Surveillance-NNIS)'nın verilerine göre 1980-1990 yılları arasında hastane kaynaklı fungal infeksiyonların oranı her 1000 taburcudada 2'den 3,8'e yükselmiştir (11). Dünya çapında en önemli fırsatçı fungal infeksiyonlar arasında ilk sırada yer alan *Candida* türleri Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde hastane kökenli kan dolaşım infeksiyonları arasında dördüncü sırada yer almakta mortalitesi %40-70 olarak bildirilmektedir (12, 13).

Candida türlerinin *albicans* ve non-*albicans* ayrımının yapılmasıyla erken tanıya gidilebilir. Erken tanı, tedavi ve klinik gidiş bakımından önemlidir. *Candida* türleri her türlü hasta örneğinden izole edilebilir. Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) mayaların primer izolasyonunda kullanılan genel üretim besiyeridir (14).

Mayaların tanımlanmasında kullanılan konvansiyonel yöntemler germ tüp (GT) ve klamidospore oluşumlarının izlenmesidir. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* GT ve klamidospore oluşturan türlerdir. *C. dubliniensis*'in *C. albicans*'dan fenotipik farkı daha çok sayıda klamidospore üretmesi ve 45°C'de üreyememesidir (15). *C. albicans* laboratuvar tanısında GT oluşturmasıyla diğer *Candida* türlerinden ayırt edilmekte ve ayrıca mısırunlu-Tween80 agar (MUTA)'da oluşturdukları tipik klamidosporeler da bu ayırma yardımcı olmaktadır (16).

İnsan serumunda kısa zamanda çimlenme borusu oluşturmasına dayanan yöntem ilk defa 1956 yılında Reynold ve Braude tarafından rapor edilmiştir (14, 17). *C. albicans* insan serumu içinde 37°C'de 2 saat inkübe edildiğinde gerçek hif fasulye filizini andıran kısa uzantılara benzer GT oluşturur (14).

Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin tiplendirilmesi için inokülasyonu takiben en az 18 saatlik bir inkübasyon süresi gerekmektedir. İnkübasyon sonunda %5 koyun kanlı Columbia agar, Eosin Metilen Blue agar (EMB) ve SDA gibi besiyerlerinde üreyen maya kolonileri çimlenme borusu deneyi için insan serumunda 37°C'de 2 saat inkübe edilir ve daha sonra X40'lık ışık mikroskopunda GT varlığı değerlendirilir. Klamidospor, blastospor, gerçek hif ve yalancı hif oluşumlarının izlenmesi için Dalmau metodu ile MUTA'a çizgi ekimi yapılır ve üzeri lamelle kapatılarak 37°C'de bir gece inkübe edilir. Koloni rengine göre tiplendirme yapmak için kromojenik substrat içeren besiyerlerine (Örn. CHROMAagar *Candida*) ekim yapılır. SDA'daki koloni morfolojileri *Candida* türleri arasında farklılık göstermektedir. Çimlenme borusu, MUTA'da klamidospor ve CHROMAagar *Candida* besiyerinde yeşil pigment oluşturan *C. albicans* ve *C.dubliniensis* türlerinin ayrımının yapılması için ısı tolerans testi (42-45°C'de üreme deneyi), tuz tolerans testi ve Staib agarda klamidospor oluşumu deneyi yapılır. Bu yöntemlerle tiplendirilemeyenler ise hızlı asimilasyon ticari kitleri (API 20 C AUX, ATB ID 32 C) veya VITEK maya identifikasyon kartları kullanılarak tür düzeyinde tiplendirme yapılır (3, 18, 19, 20, 21, 22).

Candida türlerinin tiplendirilmesinde mikroskopik morfolojik özelliklerinin incelenmesi ve substrat asimilasyonunun değerlendirilmesine dayanan bu metotlar oldukça zaman gerektiren, rutin laboratuvarlarda iş yükünü arttıran yöntemlerdir. Bu nedenle güvenilir, hızlı, daha az zahmetli ve ucuz tanı yöntemlerine gereksinim vardır.

Bu çalışmada, *Candida albicans* ve non-*albicans* türlerinin konvansiyonel ayrımında ilk başvuru olan hızlı test olan GT deneyinde pozitif reaksiyon süresinin azaltılmasına yönelik çeşitli yöntemlerin geliştirilmesi ve bu yöntemlerin karşılaştırılması, en kısa pozitif reaksiyon süresinin elde edildiği yöntem veya yöntemlerin maya pozitif kan kültür şişelerinden alınan örneklerle uygulanarak benzer sonuçların elde edilip edilemeyeceğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantarların Genel Özellikleri ve Tanı Yöntemleri

Mantarlar, (funguslar) doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Doğada 250,000 tür mantar saptanmasına karşılık 150 tür insan ve hayvanlar için primer patojendir. Günümüzde organ nakli yapılan hasta sayısının artması, uygulanan kemoterapötik ilaçların giderek daha saldırgan hale gelmesi gibi birçok faktörden dolayı enfeksiyona yol açan mantar cins ve tür sayısında artış görülmektedir. Mantarlarla meydana gelen hastalıklara mikoz adı verilmektedir (2, 23, 24).

2.1.1. Genel Özellikler

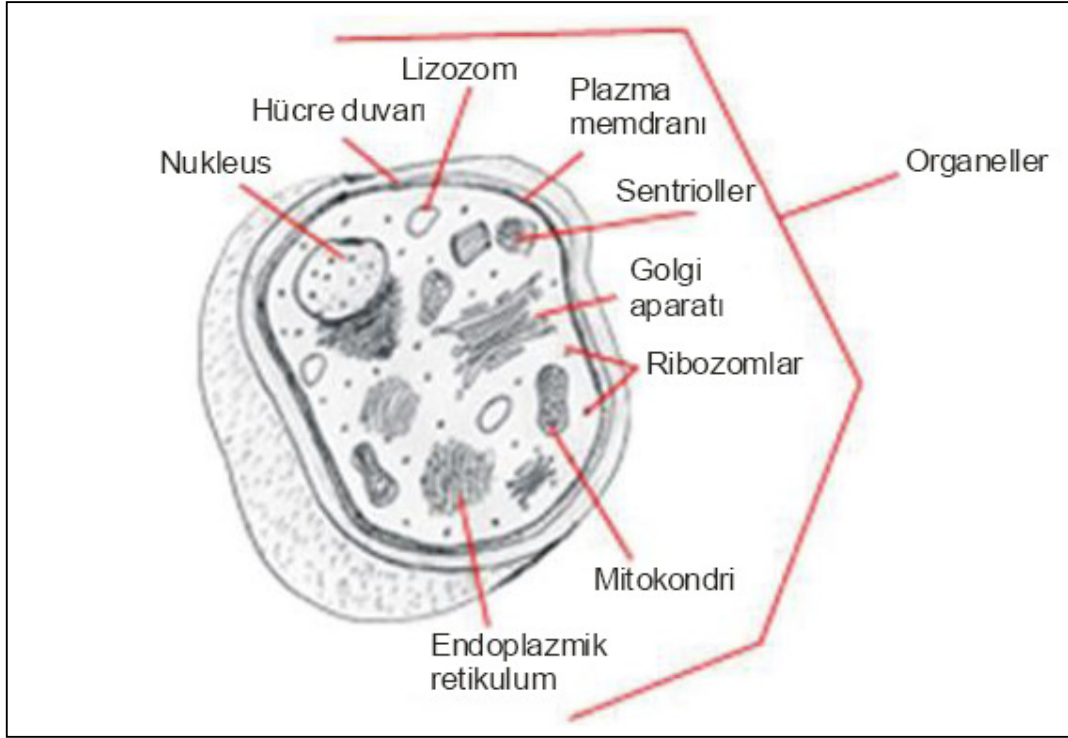
Mantarlar, ökaryot yapısında olan mikroorganizmalardır. Klorofil içermedikleri için fotosentez yapamazlar ve bu özellikleri ile bitkilerden ayrılırlar. Fakültatif anaerop ya da zorunlu aeropturlar. Mantarlar heterotrof mikroorganizmalar olup karbon ve enerji kaynağı olarak organik bileşikleri kullanırlar. Hidrolitik enzimlerini dış ortama salarak besinleri sindirirler ve sindirilmiş besin maddelerini absorpsiyon yoluyla hücre içine alırlar (23, 24).

2.1.2. Mantar Hücre Yapısı

Kapsül, bazı mantarlarda bulunur ve polisakkarit yapısındadır. Antifagositik özellik göstermesi nedeniyle önemli bir virulans faktörüdür. Kapsülü olan en önemli mantar *Cryptococcus neoformans*'tır.

Hücre duvarının %90'ı kitin, glukan, mannan, kitosan gibi polisakkarit polimerlerinden, %10'u proteinler, glikoproteinler ve lipidlerden oluşur. Özellikle mayalarda olmak üzere birçok mantar duvarında peptidomannanlar bulunur. Mannan, galaktomannan ve daha az sıklıkta ramnomannanlar mantarlara karşı oluşan bağışık yanıttan sorumludur. Hücre membranı, memeli membranına benzer şekilde fosfolipit,

protein ve sterollerden oluşan iki tabakalı bir yapıdır. Memeli zarından farklı olarak kolesterol yerine ergosterol ve zimosterol bulunur. Hücre membranının fonksiyonları arasında sitoplazmayı korumak, madde alışverişini düzenlemek ve kapsül ile duvar sentezine yardım etmek yer alır. Günümüzde tedavi amaçlı kullanılan antifungal grubu ilaçların büyük bir bölümünün hedef bölgesi membranda yer alan ergosteroldür (24).



Şekil 2.1. Mantar hücresi yapısı (25).

2.1.3. Mantarlarda Üreme Koşulları ve Üreme

Mantarların üremesi için gerekli olan optimal inkübasyon ısısı mayalarda 37°C iken küflerde 20-26°C'dir. Optimal pH mayalar için 3,0-7,5; küfler için 2,2-9,0 arasında değişmektedir. Mantarlarda üreme yapılarını sporlar oluşturmaktadır. Üreme eşeyli ya da eşeysiz yolla olur (23).

2.1.3.1. Eşeyli (Seksüel) Üreme: İki uyumlu mantar hücresi (haploid)'nin bir araya gelmesi (plazmogami), haploid nükleusların füzyonu (karyogami) ve sonra çekirdeğin bölünmesi (mayoz) ile oluşan haploid hücre oluşumu evrelerinin tümü eşeyli üremeyi oluşturur. Tıbbi önemi olan mantarlarda zigospor, askospor ve bazidiyospor oluşumu ile sonuçlanan eşeyli üreme görülür (23).

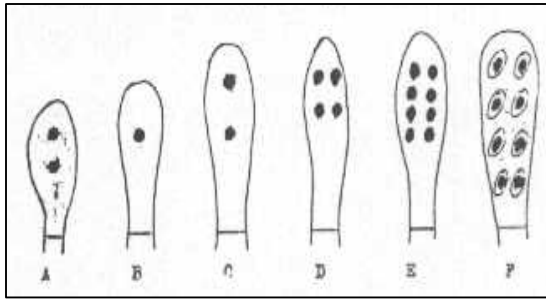
2.1.3.2. Eşeyli Sporlar: Eşeyli sporlar mayoz bölünme sonucunda oluşurlar.

Askospor: Askus kesesi içindeki eşeyli sporlardır (4-8 adet) (23).

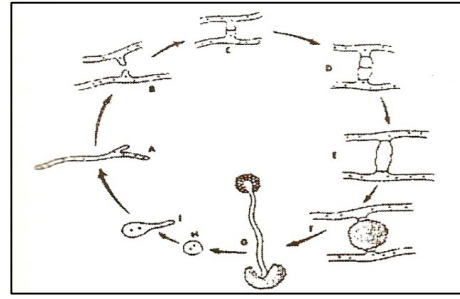
Zigospor: İki eşeyli hücrenin birleşmesi sonucunda meydana gelir (23).

Bazidiyospor: Tokmağa benzer yapıların yüzeyinde oluşan, parmaklı görünümde sporlardır (23).

A-Askospor: *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* gibi mantarlarda askospor oluşumu ile sonuçlanan eşeyli üreme biçimidir. Bir araya gelen hifler farklılaşıp keseye benzer yapılar (askus) içinde askospor olarak adlandırılan sporlar bulunur (2, 23).



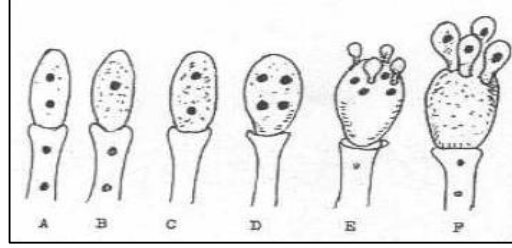
Şekil 2.2. Askospor oluşumu (26).



Şekil 2.3. Zigospor oluşumu (23).

B-Zigospor: *Zygomycetes* sınıfına ait türlerde görülür ve eşeyli üreme ile zigospor oluşur. Birbirine benzeyen iki cins gametin birbirine doğru uzaması ve birleşmesi sonucu kalın duvarlı seksüel spor (zigospor) oluşur (2, 23).

C-Bazidiyospor: Özelleşmiş bir hifin uç kısmının genişlemesi ile bazidiyum denilen yapılar oluşur. Bu temel yapı üzerinde kısa birer sapla tutunan bazidiyosor adı verilen hücreler doğar (23).



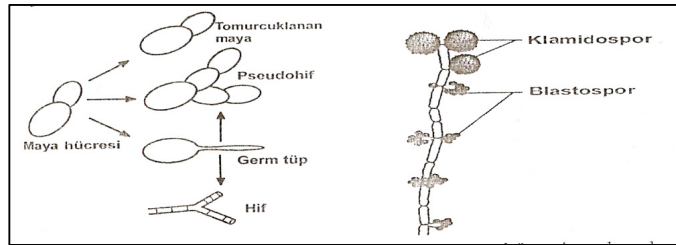
Şekil 2.4. Bazidiyosporun oluşumu (23).

2.1.3.3. Eşeysiz (Aseksüel) Üreme: Eşeysiz sporlar ile olur. Çekirdekler arası birleşme olmaz (24).

2.1.3.4. Eşeysiz Sporlar

Tek bir ana hücrenin mitoz bölünmesi ile oluşur. Mantarlarda başlıca 5 tür aseksüel spor oluşumuna rastlanmaktadır.

Blastospor: Maya veya maya benzeri koloniler oluşturan mantarlarda görülen bu sporlanmada, ana hücrenin çeşitli yerlerinden çoğunlukla birden fazla sayıda tomurcuklar (blastosporlar) oluşur. Örnek: *Saccharomyces* ve *Candida* türleri (2).



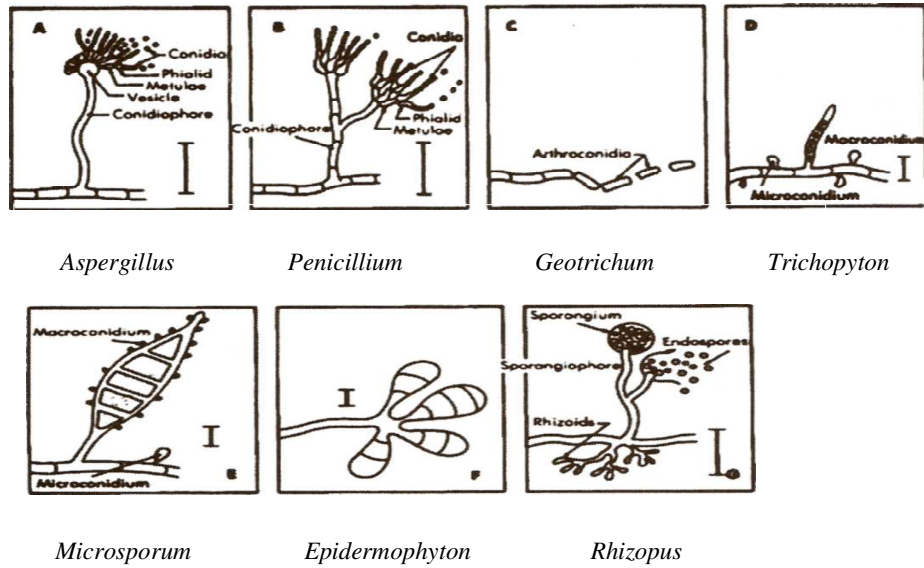
Şekil 2.5. Maya hücreleri, psödohif, klamidospor, blastospor (4).

Artrospor: Olgunlaştınca hiften kopup ayrılan tesbih tanesi ya da dikdörtgen şeklindeki sporelerdir. *Geotrichum*, *Trichosporon*, *Coccidioides* gibi mantarlar artrospor oluştururlar (23, 24).

Klamidospor: Isıya ve kuruluğa oldukça dayanıklıdır. *C. albicans*, *C. dubliniensis* gibi mantarlar klamidospor oluştururlar. *C. tropicalis*'in bazı kökenleri, özellikle de ilk ayrıldıkları sırada klamidosporlar yaparlar. Ancak bunlar *C. albicans*'a ait klamidosporlardan, bir destek (süspansör) hücrenin bulunmamasıyla farklılık gösterir ve daha sonra yapılan pasajlarda kaybolur (2, 14).

Konidiyosporlar: Bu tür sporelere, filamentöz *Ascomycetes* ve birçok *Deuteromycetes* (Fungi imperfecti) mantarlarında rastlanmaktadır. Sporlar (konidiya), özel üretici hiflerin (konidiyofor) yanlarında veya uçlarında meydana gelirler. Bu hifler, havasal hiflerin farklılaşması sonucu oluşur (2, 23, 24).

Sporangiyospor: Sporangiyum kesesi içinde bulunan yuvarlak şekilli sporelerdir. Kesenin patlamasıyla ortama saçılırlar (2).



Şekil 2.6. Eşeyssiz sporlar (24).

2.1.4. Mantarların Sınıflandırılması

Mantarların sınıflandırılması; taksonomik, morfolojik, kliniğe yönelik olarak ve tıbbi önemlerine göre yapılabilir (23, 24).

Taksonomik Sınıflandırma: Doğadaki tüm mantarlar için Alexopoulos (1979'da) tarafından yapılan taksonomik sınıflandırma çizelgede verilmiştir (27).

Çizelge 2.1. Alexopoulos tarafından 1979'da yapılan sınıflandırma (27).

Alem (Kingdom):	<i>Mycetae</i> (Mantarlar)
Divizyon:	<i>Mycota</i>
Altdivizyon-1:	<i>Myxomycota</i> (Hücre duvarı olmayan mantarlar)
Altdivizyon-2:	<i>Eumycota</i> (Hücre duvarı olan mantarlar)
Sınıf-1:	<i>Mastigomycotina</i> (Zoosporlu mantarlar)
Sınıf-2:	<i>Zygomycotina</i> (<i>Zygomycetes</i>)
Sınıf-3:	<i>Ascomycotina</i> (<i>Ascomycetes</i>)
Sınıf-4:	<i>Basidiomycotina</i> (<i>Basidiomycetes</i>)
Sınıf-5:	<i>Deuteromycotina</i> (<i>Deuteromycetes</i> , <i>fungi imperfecti</i>)

Morfolojik Sınıflandırma: Mantarlar, morfolojik görünümüne göre mayalar ve küfler olmak üzere ikiye ayrılır. Bir grup mantar ise ortam koşullarına göre hem maya hem de küf morfolojisi gösterebilir. Bu mantarlara dimorfik mantarlar adı verilir (2, 23).

Mantarların Kliniğe Yönelik Olarak Sınıflandırılması: Klinik örneklerden soyutlanan mantarların tanımlanması ve adlandırılması gerekir. Mantarlar birbirinden ayrılmasını sağlayan eşeyli üreme biçimleri, yapıları, yaşam döngüleri ve bazı fizyolojik özelliklerine göre sınıflandırılır. Eşeysiz üreyen mantarlar *Deuteromycota*, eşeyli üreyen mantarlar ise *Zygomycota*, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* sınıflarında incelenir. Filogenetik sınıflandırmaya uygun, klinisyenlere yönelik sınıflandırma, klinik mikoloji laboratuvarında hastalık etkeni olarak soyutlanan mantarları içerir (23).

Çizelge 2.2. Mantarların kliniğe yönelik olarak sınıflandırılması.

Zygomycetes	Aspergillus türleri	Hyalohyphomyces	Feohyphomyces
<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.
<i>Absidia</i> spp.	<i>A. flavus</i>	<i>Scopulariopsis</i> spp.	<i>Curvularia</i> spp.
<i>Cunninghamella</i> spp.	<i>A. niger</i>	<i>Acremonium</i> spp.	<i>Bipolaris</i> spp.
		<i>Fusarium</i> spp.	
		<i>Scedosporium</i> spp.	
Dimorfik mantarlar	Kromomikoz etkenleri	Dermatofitler	Mayalar
<i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Exophiala</i> spp.	<i>Microsporum</i> spp.	<i>Candida</i> spp.
<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Wangiella</i> spp.	<i>Trichophyton</i> spp.	<i>Cryptococcus</i> spp.
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>			<i>Trichosporon</i> spp.
<i>Blastomyces dermatitidis</i>			

Tıbbi Önemlerine Göre Mantarların Sınıflandırılması: Mantarların tıbbi önemlerine göre sınıflandırılması çizelgede verilmiştir (23).

Çizelge 2.3. Tıbbi önemi olan mantarların sınıflandırılması.

Sınıf	İnsan patojenlerine örnek
Zygomycota (Zygomycetes)	<i>Rhizopus</i> ve <i>Absidia</i> türleri
Ascomycota (Ascomycetes)	<i>Penicillium</i> türleri, <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Aspergillus nidulans</i>
Basidiomycota (Basidiomycetes)	<i>Filobasidiella neoformans</i> (<i>Cryptococcus neoformans</i>)
Deuteromycota (Deuteromycetes, Fungi imperfecti)	<i>Candida</i> türleri, <i>Blastomyces dermatitidis</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Microsporum</i> türleri

2.1.5. Mayalar

Deuteromycota (Deuteromycetes, Fungi imperfecti)

Mayalar, tek hücreli mantarlardır. 1-5 µm eninde, 5-30 µm boyunda olan küresel ya da oval şekilde yapılarıdır. Mikroskopik olarak incelendiklerinde Gram pozitif boyanma özelliği gösteren oval ya da yuvarlak şekilde oluşumlar olarak görülürler. Bir kaç istisna dışında, *Candida* cinsi içindeki mayaların makroskopik ve mikroskopik

özellikleri farklılık göstermez. Hepsisi 25°C ya da 37°C'de 2-3 günde SDA'da (pH:5,5) 2-3 mm çapında, beyaz veya krem renginde, düzgün yüzeyli veya göbekli koloniler oluşturur. Uzayan inkübasyonla birlikte kıvrımlı hale gelen, mat ya da parlak koloniler gözlenir (3, 8, 23).

Candida'lar tomurcuklanarak çoğalırlar. Türlerin çoğu "yalancı hif" oluşturur. Bazen tomurcuklanan maya hücreleri ana hücrelerinden kopmadan uzamaya devam eder. Bu yapı küflerin oluşturdukları hif yapısına benzediği için yalancı hif (psödohif) olarak adlandırılır. Hifte boğumlar bulunmazken yalancı hifte boğumlar bulunur. Pek çok maya türü yalancı hif oluştururken, *C. glabrata* ve *C. neoformans*'ta bu yapıya rastlanmaz. Yalancı hif, epitelde kolonizasyonu takiben mayanın derin dokulara yayılımını kolaylaştırmaktadır. *C. albicans* blastokonidyum + yalancı hif yanında gerçek hif de oluşturarak dimorfik özellik gösterir (2, 3, 23).

Tomurcuklanan maya hücreleri (blastospor) ya da yalancı hif gibi mantar yapılarının görülmesi çoğu *Candida* türü ve *Trichosporon* türleri için karakteristiktir. Yalancı hif olmaksızın sadece tomurcuklanan maya hücrelerinin görülmesi *C. glabrata*, *Cryptococcus* türleri, *Rhodotorula* türleri ve *H. capsulatum* için ipucu olabilir. Anne hücreden birden fazla tomurcuğun meydana gelerek gemi dümenine benzer bir görünüm oluşturması *Paracoccidioides brasiliensis* için karakteristiktir (24).

Mayaları üretmek için en sık kullanılan besiyeri SDA'dır; %2 ya da %4 glukoz içeren formülleri kullanılabilir. Bu besiyeri asidik pH'ya (pH:5,5) sahip olması nedeniyle bakterilerin üremesini inhibe etmektedir (24).

Mantarlarda anamorf tanımı; mantarın aseksüel durumunu tanımlamada kullanılırken, teleomorf tanımı; plazmogami ve nükleer rekombinasyonun bir sonucu mantarların yeniden ortaya çıkan yapısını ifade etmede kullanılmaktadır.

2.1.5.1. Mayaların Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

Mayaların tanımlanmasında fenotipik ve genotipik yöntemlerden yararlanılır (19, 21).

2.1.5.1.1. Fenotipik Yöntemler

GT oluşumu, klamidospor oluşturma durumu, SDA'da koloni morfolojisi, mayahif dimorfizminin gözlenmesi, kromojenik substrat içeren besiyerlerinde pigment oluşumunun incelenmesi, karbonhidrat asimilasyon testleri, fenol oksidaz (*C. neoformans*) ya da üreaz, (*C. lipolytica*) gibi özgül enzimlerin varlığının araştırılması, tuz tolerans testi gibi metotlar kullanılır (19, 21).

GT oluşumu: *C. albicans*, *C. dubliniensis* ve *C. tropicalis*'in bazı kökenleri "çimlenme borusu (germ tüp, gerçek hif)" oluşturma özelliğine sahiptir. İnsan serumu içinde 37°C'de 2 saatlik inkübasyon süresinde *C. albicans* hücreleri gerçek hif veya GT oluştururlar. Ancak rutinde izole edilen *C. albicans*'ların %5'i GT negatif sonuçlanabilmektedir (28).

Klamidospor oluşumu: *C. albicans* safıralı jeloz veya MUTA gibi yüzey gerilimini azaltan ortamlarda tipik olarak iri küre şeklinde klamidosporlar oluşturur. Klamidosporlar, hiflerde bulunan hücrelerin bazıları daha büyür, gelişir, hücre duvarları kalınlaşır ve protoplazması yoğun hale gelerek klamidosporları oluştururlar. Bu tarzda meydana gelen ve etrafı kalın bir hücre duvarı ile çevrili olan sporlar, çevresel koşullara (mekanik, fiziksel ve kimyasal faktörler) çok dayanıklılık gösterirler. Klamidosporlar, hiflerin, orta ve uçlarında meydana gelebilirler (3, 14, 29).

Mısırunlu-Tween80 agar besiyerinde klamidospor özelliklerinin belirlenmesi: SDA'da üremiş 24 saatlik koloniden iğne öze ile alınarak MUTA üzerine 1,5 cm uzunluğunda, besiyerini delmeden yan yana 1 cm aralıklarla öze ile çizgiler çizilir. Çizgilerin üzeri steril bir lamelle kapatılır. Plaklar oda ısısında 24-48 saat inkübe edilir. İnkübasyon sırasında belirli aralıklarla mikroskopi ile hif, psödohif ve spor yapıları incelenir. Tekli, ikili veya üçlü zincir şeklinde ya da hif ucunda küme halinde klamidospor oluşturma özelliğine bakılır. *C. dubliniensis* bu besiyerinde bol miktarda ikili, üçlü, grup ya da zincir halinde klamidospor oluşturmaktadır. *C. albicans* ise tekli ya da nadiren ikili klamidospor oluşturabilmektedir (Şekil 2.9., Şekil 2.10.) (21).

SDA'da koloni morfolojisi: Uzayan inkübasyon sürelerinde *C. albicans* kolonilerinde petri yüzeyine yayılan hifsel uzantılar gözlenir. *C. tropicalis* besiyerine gömülü, mat koloniler, *C. krusei* tebeşir tozu görünümlü ince ve mat koloniler, *Trichosporon* spp, minik ve sivriimsi kuru ve kötü kokulu koloniler oluşturarak ürerler (30).

Maya hif dimorfizminin gözlenmesi: Oda sıcaklığında besiyerlerinde küf, 35-37°C'de maya şeklinde üreyen mantarlara dimorfik veya difazik mantarlar denir. Küf şekline maya şekline dönüşümü pek çok faktör etkiler. Isının 35-37°C'ye yükselmesi, ortamda basit şekerlerin çokça bulunması, sistein gibi sülfidril gruplarının varlığı, bir organik nitrat kaynağının bulunmasıdır (21, 23).

Kromojenik substratlı besiyerlerinde pigment oluşumunun izlenmesi: Türler arası morfolojik farklılıklar kromojenik substrat içeren hazır besiyerlerinde saptanabilir. CHROMAgar Candida (CAC) hazır besiyeri öncelikle *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* için tasarlanmış olup *C. albicans* yeşil, *C. tropicalis* çelik mavi, *C. krusei* toz pembe renkte koloniler oluşturur. Bu nedenle CAC, *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*'nin tanımlanmasında seçtirici ve ayırt ettirici besiyeri olarak kullanılır. Bu besiyerinde ayrıca *C. glabrata* parlak beyaz, *C. parapsilosis* zamanla beyazdan koyu pembe-mor renge değişen renkte koloniler oluşturur (18).

Karbonhidrat asimilasyon testleri: Bu testler mayaların besiyerlerinde karbon kaynağı olarak çeşitli karbonhidrat substratlarını kullanıp kullanmamaları esasına dayanır (22). Klasik olarak karbonhidrat kullanma özellikleri Wickerham'ın asimilasyon ve fermentasyon yöntemleriyle incelenir. Klinik laboratuvarların çoğunda bu testlerin yerini API 20 C AUX, ATB ID 32 C ve Uni-Yeast-Tek gibi hazır ticari test sistemleri almıştır. Bunların içerisinde en yaygın kullanılanlar API sistemleridir (21). API 20 C AUX'da bulanıklık artışı, API Candida ve Uni-Yeast-Tek de ise renk oluşumu ile değerlendirme yapılmaktadır. RapID Yeast Plus System ile 4-5 saat içinde sonuç alınmaktadır (19). VITEK 2, biyokimyasal reaksiyonlarla 18 saat içinde sonuç veren tam otomatik identifikasyon sistemidir. VITEK 2 ileri kolorimetrik maya identifikasyon kartları (YST) ile API 20 C AUX (API) sistemin kıyaslandığı bir

çalışmada YST kartların klinik izolatların %98,5'ini doğru olarak tanımladığı bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca YST kartların %18,9 oranında düşük ayırım olarak tanımlanan sonuç verirken API'nin %30 oranında düşük ayırım sonucu verdiği bildirilmiştir (31).

Özgül enzimlerin araştırılması

- **Üreaz testi:** Bu test klinik önemi olan *Candida* türlerini diğer mayalardan ayırmaktadır. Christensen üre agarda yapılan testte mayadaki üreaz enzimiyle açığa çıkan amonyağın neden olduğu alkali pH'da renk pembeye dönüşürse pozitif, renk değişimi olmazsa negatif reaksiyon olarak değerlendirilir. *Candida* cinsi içerisinde hem üreaz pozitif, hem de negatif türler bulunmaktadır. Ancak klinik önemi olan türlerin büyük çoğunluğu üreaz negatiftir (21). *C. neoformans*, *C. laurentii*, *C. albidus*, *C. krusei* üreaz pozitif, *C. albicans* üreaz negatiftir (3, 21).

- **Fenol oksidaz testi:** *C. neoformans* membrana bağlı fenol oksidaz oluşturur. Bu enzim L-dopa, L-dopamin, klorojenik asit ve kafeik asit gibi çeşitli O-difenolik bileşiklerin oksidasyonunu kataliz eder. *C. neoformans* bu bileşikleri içeren besiyerlerinde (Niger Seed Agar) ürettikleri zaman, substrata bağlı olarak beş gün içerisinde koyu kahve-siyah renkli koloniler oluşturur. Bunun sebebi niger seed ekstraktının kriptokoksik fenol oksidaz için substrat olarak kafeik asit içermesidir.

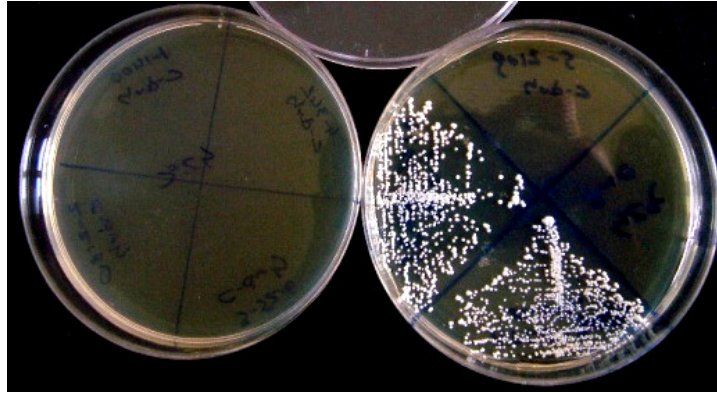
Bir haftadan daha uzun süre 30°C'de inkübasyona bırakılan koloninin rengi açık kahverengi (Niger Seed Agarda) veya koyu griye (L-dopa veya dopamin agarda) dönerse bu koloni *C. neoformans*'a ait değildir (21).

- **Tuz tolerans testi:** SDA'da 37°C'de üremiş 24 saatlik kültürden 0,5 McFarland süspansiyon hazırlanarak içinde %6,5 tuz bulunan SDA besiyerine ekim yapılır. 37°C'de 24 saatteki üreme durumları gözlenir. *C. albicans* bu besiyerinde ürerken, *C. dubliniensis* üreyemez (32).



Şekil 2.7. Tuz tolerans testi: Soldan sağa; *C. albicans* standart suşları ekilmiş petri (üreme var), *C. dubliniensis* klinik izolat (üreme yok) (Çalışmamızdan).

Isı tolerans testi: Maya kolonisinin 0,5 McFarland yoğunluğundaki süspansiyonundan SDA üzerine çizgi ekim yapılarak 42-45°C’de inkübe edilir ve üreme durumları izlenir. *C. dubliniensis* bu sıcaklıkta üremezken, *C. albicans* ise üreyebilmektedir (22, 33).



Şekil 2.8. Soldan sağa; *C. dubliniensis* klinik izolat (üreme yok), *C. albicans* standart suşları (üreme var) (Çalışmamızdan)

2.1.5.1.2. Genotipik Yöntemler

Özellikle invazif mikozlar olmak üzere erken ve doğru tanı koymak, mümkün olan en kısa zamanda antifungal tedaviye başlayabilmek açısından büyük önem

taşımaktadır. Son yıllarda bu amaçla kullanılan klinik örneklerde fungal DNA aranması ve antijen tespiti gibi yöntemler önem kazanmıştır. İnfeksiyon etkeni mantarların saptanması ve tanımlanmasında nükleik asit amplifikasyon ve hibridizasyon problemlerinin kullanıldığı sinyal amplifikasyon yöntemlerinden yararlanır. Nükleik asit amplifikasyon teknolojilerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) veya benzeri yöntemler kullanılır (34).

PZR: Çift iplikli bir DNA molekülünde, hedef dizilere iki oligonükleotid primerinin bağlanması ve uzaması esasına dayanır. Testin pozitifliği için gerekli süre iki gün olup duyarlılığı (kan örneklerinde birden fazla çalışıldığında) %100'dür. Revers transkriptaz (RT) PZR'da hedef RNA'nın çoğaltılması amaçlanır. Çeşitli mantarların saptanmasını amaçlayan PZR-parmak izi (PZR-fingerprinting), mitokondriyal sitokrom b gen dizi analizi, multipleks PZR, gerçek zamanlı PZR (real-time PZR), yuvarlanmış PZR (nested PZR), kesilmiş parçaların uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP), rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA-RAPD) ve PZR ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay-PZR-EIA) yöntemleri PZR temeline dayanmaktadır (34).

Kırk iki *C. neoformans* izolatının kullanıldığı bir çalışmada, *C. neoformans* Accu-Probes (Gen-Probe) tekniğinin duyarlılık ve özgüllüğünün %100 olduğu bulunmuştur (21). Kan kültürü örneklerinde RFLP ve nested PZR yöntemi ile *Candida* türlerinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada yöntemin duyarlılığının %98, özgüllüğünün ise %50 olduğu bildirilmiştir (35).

Floresan in situ hibridizasyon (FISH): rRNA'yı hedef alan floresanla işaretli problemler kullanılarak, hedefin işaretlenmesi ve floresan mikroskopunda görüntülenmesi prensibine dayanan ve kısa sürede tanı koyan hibridizasyona dayalı moleküler bir yöntemdir (36).

FISH yöntemiyle kan kültürü örneklerinde *Candida* türlerinin hızlı tanısına yönelik yapılan bir çalışmada yöntemin identifikasyon süresinin yaklaşık 2 saat olduğu, duyarlılığının ve özgüllüğünün %100 olduğu bildirilmiştir (36). *C. albicans* tanımlanmasına yönelik yapılan başka bir çalışmada maya (+) kan kültürü örneklerinde peptid nükleik asit FISH yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur

(37). PNA FISH yöntemiyle *C. albicans-dubliniensis* ayrımının araştırıldığı bir çalışmada kullanılan her iki prob için yöntemin %100 duyarlılık ve özgüllük sergilediği bildirilmiştir (38).

2.1.6. Tıbbi Öneme Sahip *Candida* Türleri

İnvazif girişimlerin en sık uygulandığı, immun sistem yetersizliği olan hastaların uzun süreli tedavi gördüğü yoğun bakım ünitelerinde fungal infeksiyonlara daha sık rastlanmakta olup *albicans/non-albicans* oranlarında tersine artış olduğu bildirilmektedir (6, 20, 39, 40, 41, 42). Non-*albicans Candida* (NAC)'lar diğer *Candida* türleri arasında 1990 yılı öncesinde %10-40 oranında saptanırken, 1990 sonrasında bu oran %35-63'e ulaşmıştır (43, 44, 45, 46, 47, 48, 49).

***C. albicans*:** SDA'da düzgün yüzeyli, beyaz renkli veya geniş yüzeyli, yassı, yüzeyi pürüklü (R), gri renkli koloniler oluşturur. Kanlı agarda ise yıldız şeklinde çıkıntılı olan koloniler oluşturur. Mısırunlu jelozda klamidospor oluşturarak ürediğinden diğer türlerden ayrılır. Uç kısımlarda geniş, kalın çeperli, genellikle tekli klamidospor oluşturur. İnsan serumunda 37°C'de 2 saatte GT oluşturur. Kromojenik substrat içeren besiyerlerinde yeşil, orta büyüklükte mat renkli koloniler yapar. Maya-hif dönüşümü göstermesi ve bazı hidrolitik enzimleri üretmesi nedeniyle, virulansı en yüksek türdür. *C. albicans* tüm kandidozlarda en sık görülen etkindir (3, 24, 30).

***C. tropicalis*:** Koloni morfolojisi kremi, uç kısımlarda parlak miselyal saçaklar ya da buruşuk yapılar görülür. SDA'da besiyerine gömülü, kuru koloniler oluştururken kanlı agarda yayvan koloniler oluşturur. Kromojenik substrat içeren besiyerlerinde mavi-yeşil, orta büyüklükte, mat renkli koloniler yapar. Mısırunlu jelozda bazı türleri klamidospor oluşturabilmektedir (30). Ancak *C. albicans*'a ait klamidosporlardan, bir destek hücresinin bulunmamasıyla farklılık gösterir ve daha sonra yapılan pasajlarda kaybolur (14). Sıklıkla paroniki, otitis eksterna, endokardit, endoftalmit, artrit ve peritonit infeksiyonlarda görülmektedir (3). Çeşitli yönleri ile *C. albicans*'a benzeyen, virulansı yüksek bir türdür. İnvazif infeksiyonlarda gastrointestinal kolonizasyonun rolü

belirgin olup hematolojik maligniteli hastalarda kolonizasyondan sonra %80'e varabilen oranlarda invazyon yaptığı gösterilmiştir (50).

C. parapsilosis (C. parakrusei): SDA'da krem renğinde koloniler yapar. Mısırunlu agarda, 3 günlük inkübasyon sonunda uzun, düzenli olarak dallanan ve “çam ormanını” andıran yalancı hifler oluşturur. Kromojenik substrat içeren besiyerlerinde koyu pembe-mor renkte koloniler oluşturur. Vulvovajinit, bağırsak infeksiyonları, bronko pulmoner ve sistemik hematopoetik malignensili, diyabetli ve embolik deri lezyonları olanlarda daha sıklıkla izole edilmektedir (3). *C. parapsilosis*'in son yıllarda önemli hastane kökenli patojenler arasında yer aldığı ve kandidemilerin %7-10'unu oluşturduğu hatta bazı merkezlerde bu oranın %30-50'lere ulaştığı bildirilmektedir (20). *C. parapsilosis* yüksek glikoz konsantrasyonunda daha iyi proliferasyon gösteren ve akrilik yüzeylere daha iyi penetre olmakta ve ekzojen kökenli hastane infeksiyonuna neden olmaktadır (20).

C. glabrata: SDA'da düz yüzeyle, sarımsı, krema renğinde koloniler yapar. Mısırunlu jelozda yalancı hif oluşturmadan ürettiğinden diğer türlerden ayrılır (24). *C. glabrata* nozokomiyal üriner sistem infeksiyonlarına sebep olan önemli bir patojendir. *C. glabrata*'ya bağlı kandidemiler genellikle solit tümörler ve onkoloji dışı hastalarda saptanmaktadır. Flukonazole doğal direnci vardır (51). Profilaktik olarak uzun süre flukonazol kullananlarda *C. glabrata* kolonizasyonu artmaktadır. Kolonizasyon solunum yolları, cerrahi yaralar ve genitoüriner yollarda yoğunlaşmaktadır (50).

C. krusei: SDA'da düz yüzeyle, büyük ve kuru koloniler oluşturur. Kromojenik substrat içeren besiyerlerinde pembe renkli, büyük ve yaygın koloniler yapar. Bir haftalık inkübasyon sonunda, uzayan blastosporların boyutu 25 µm'ye erişir (24). *C. krusei*'nin doğal azol direnci vardır (19). Antifungal tedavi sonrası *C. glabrata*'ya benzer şekilde kolonizasyonu artar (50). Yapılan bir çalışmada kan kültürü örneklerinde NAC türlerinde yüksek oranlarda (%62,50) flukonazol direnci tespit edildiği bildirilmiş olup kan kültürü örneklerinde rastlanan flukonazole dirençli *C. krusei* suşlarının bulunmasının yoğun bakım ünitesi servisi profilaktik antifungal tedavi protokollerine bağlı olabileceği belirtilmiştir (51).

C. kefyi (C. pseudotropicalis): SDA'da düz, yumuşak ve sarımsı koloniler yapar. SDA'da, 25°C'de 3 günlük inkübasyon sonundaki kolonileri, diğer türlerinkine göre daha küçüktür. Mısırunlu jelozda ise uzayan blastokonidiyalar psödohife paralel dizilerek tipik nehirde yüzen kütük görünümündedir (24, 30).

C. guilliermondii: İnsan deri florasının ve mukozal yüzeylerinin bir parçasıdır. SDA'da başlangıçta yassı, düzgün kenarlı, genellikle kremi renkteki koloniler zaman geçtikçe pembemsi renge dönüşür. Ancak bazen Mısırunlu jelozda, kökene bağlı olarak yalancı hif oluşumu çok fazla ya da çok seyrek olabilir. Blastosporlar kısa zincirler ya da kümeler halinde gözlenebilir (24). Uygun konaklarda derin infeksiyonlar veya fungemi oluşturduğu gözlenmiştir. Kan dolaşım infeksiyonları; kanser, yoğun bakım ünitesi hastalarında görülmekle birlikte santral venöz kataterle ilişkilidir (52).

C. norvegensis: Teleomorfu, *Pichia norvegensis* adını alan ve askosporları ile çoğalan bir mayadır (24). İlk kez 1942'de Norveç'te izole edilmiştir. İnsanlarda nadiren infeksiyon yapar. İnvazif infeksiyon oluşturan bu türün flukonazole dirençli olduğu bildirilmiştir (44). Sandven ve ark. (53) 10 hastadan almış oldukları boğaz, kan, idrar balgam, abdominal drenaj örneklerinden izole ettikleri *C. norvegensis*'in flukonazole dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

C. lipolytica: İmmun sistemi baskılanmış hastalarda ortaya çıkan fırsatçı patojen bir türdür. SDA'daki koloni morfolojisi kremi, düzgün kenarlı olmakla birlikte buruşuk da olabilmektedir. Mikroskopik morfolojisi ise; yuvarlak veya oval görünümde, 3-6 x 4-16 µm boyutunda, mısırunlu jelozda 25°C'de 72 saatte psödohifler septalı, gerçek hiflerse kısa zincirlerde katlanan uzun blastokonidyumlar şeklindedir (30).

C. lucitaniae: İmmun sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı patojen olarak karşılaşılmaktadır. SDA'daki koloni morfolojisi krema renginde, parlak düzgün kenarlıdır. Mikroskopik morfolojisi ise; yuvarlak veya oval görünümde, 2-6 x 3-10 µm boyutunda, mısırunlu jelozda 25°C'de 72 saatte psödohifler azalan kısa zincirler halinde olup uzayan blastokonidyumlar gözlenir. Sıklıkla amfoterisin B'ye dirençli olarak rapor edilmektedir (30). Kemik iliği transplant alıcılarında sık görülür (3). Solunum

yolları, genitoüriner yollar başta olmak üzere endojen kaynaklı hastalıklar oluşturur (50). Görülme sıklığının 1990'dan buyana %2-9 aralığında olduğu bildirilmektedir (44).

C. pelliculosa: Teleomorfu, *Hansenula anomala* ya da *Pichia anomala* olarak adlandırılan ve askosporlarıyla çoğalan bir mayadır (24). Sıklıkla toprak, bitki ve diğer organik bileşiklerde bulunmakla birlikte nadiren immün suprese hastalarda fungemiye yol açmaktadır. Kalkancı ve ark. (54) çalışmalarında neonatal yoğun bakım ünitesinde yatan 4 bebeğin kan kültüründen *C. pelliculosa* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

C. dubliniensis: İlk kez 1995'te yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. *C. albicans* ile filogenetik açıdan yakın akrabadır. SDA'da hamur kıvamında, krema renginde pürüzsüz koloniler oluşturur. Mısır unlu jelozda 25°C'de 72 saatte psödohif ve bazı gerçek hifler oluşturur, bu besiyerinde klamidospore oluşturma yetenekleri incelendiğinde *C. albicans*'ın uç kısımda kalın çeperli, tek ya da nadiren çiftler halinde klamidospore oluşturduğu; *C. dubliniensis*'in ise ince duvarlı, bol miktarda ikili, üçlü, grup ya da zincir halinde klamidospore oluşturduğu gözlenmiştir (29). Septalarda kümelenmiş yuvarlak blastokonidialar yer alır (30). Epidemiyolojik çalışmalarda tüm dünyada yaygın olduğu, Human Immunodeficiency Virus (HIV)'la infekte hastalarda orofarenjiyal infeksiyonlarla ilişkili olduğu belirtilmektedir (33). Çimlenme borusu oluşturabilen bu mikroorganizmayı *C. albicans*'tan ayıran başlıca özellikleri; 42-45°C'de üreyememesi ya da çok zayıf üremesi, çok miktarda klamidospore üretmesi ve beta-glukosidaz aktivitesinden yoksun olmasıdır (14, 24).



Şekil 2.9. *C. dubliniensis*'in mısır unlu jelozda çoklu klamidospore üretimi.



Şekil 2.10. *C. albicans*'in mısır unlu jelozda tekli ve ikili klamidospore üretimi

2.1.7. *Candida*'ların Üreme Koşulları

Candida'lar, aerop koşullarda, zenginleştirilmiş ya da minimal ortamda, 2-8 arasında değişen pH ve 20-40°C arasındaki ısılarda ürerler. Bütün türler glukozu fermente eder, hiç biri nitratı asimile edemez. Kültürlerinde etanol, asetoin ve asetik asit, formik asit, laktik asit, propionik asit, piruvik asit, süksinik asit gibi organik asitlerden zengin metabolik son ürünler oluşur (24).

Candida türleri aerobik ortamda en iyi üreme göstermekle birlikte, yüksek CO₂'li ortamda zayıf da olsa ürerler. Tüm patojen türler 37°C'de iyi üremekle birlikte, bu ısı özellikle *C. albicans* ve *C. tropicalis* gibi iki virulan tür için optimaldir. Çoğalma hızları ortama göre değişmekle birlikte *C. albicans* ve *C. tropicalis* için 1 saatten daha kısa bir süredir (24).

2.1.8. *Candida*'ların Hücre Yapısı

2.1.8.1. Hücre İskeleti

Fungal iskelet, turgor basıncına karşı koyan dinamik bir sistemdir. İskelet, hücre duvarı ve hücre membranı ile bağlantılıdır. İskelet bileşenlerinden olan mikrotübüller, membranın dinamizminde rol alırlar. İskeletin bir diğer bileşeni olan aktin, sitoplazmik akışkanlıktan sorumludur. Miyozin ise, aktinle birlikte organellerin hareketliliğini sağlar. İskelet içeriklerinin birbirleri ile ilişkileri açısından Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ ve H⁺ iyonlarının yoğunlukları önemlidir. Bu iyonların hücre içine giriş çıkışları ile organellerin hareketliliği ve hifsel uzama düzenlenir (24).

2.1.8.2. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı

Hücre duvarı, maya hücresinin değişik yüzeylere tutunmasında (adezyon) doğrudan görev alır. Duvar yapısında bulunan bazı maddeler antifungal ajanlar için

hedef oluştururken, bazıları aynı zamanda immunolojik determinantları taşır. Duvar bileşenlerinin %80-90'ı karbonhidratlar, %5-15'i protein ve %2-5'i lipidlerden oluşur. Karbonhidratların ise %20-30'u mannoprotein, %50-60'ı β -glukanlar ve %0,6-9'u kitin yapısındadır (24).

2.1.8.3. Hücre Membranı

Hücre membranı taşıdığı ozmo enzimler aracılığı ile moleküllerin iç ve dış ortama geçişinde rol alır. Kitin sentetaz gibi, duvar içeriklerinin sentezinde rolü olan enzimler de membranda bulunur. Ayrıca *C. albicans*'ın morfogenezi (maya-hif dönüşümü ve hifin uçtan uzaması) için gerekli olan sinyal iletiminde rol alan fosfolipaz, adenilat siklaz, proteaz gibi enzimler de membranda yer alırlar. *Candida*'ların hücre membranında; fosfatidil kolin, fosfatidil etanol amin, fosfatidil serin ve fosfatidil inozitol gibi fosfolipidler bulunur. Tüm mantarlarda olduğu gibi, *Candida*'ların da hücre membranında bulunan sterol, membran lipidlerinin %20'sini oluşturur. Sterolün %95'i ergosterol formundadır. Ergosterol, antifungal ilaçlar için en önemli hedeftir (24).

2.1.9. *Candida*'ların Virulans Faktörleri

A-Konak Hücre Yüzeyine Tutunma (Adezyon)

Adezyon, mayanın konak ile ilişki kurmasında ilk basamağı oluşturur. *C. albicans*, aderansı en yüksek tür olmakla birlikte, aynı tür içinde adezyon yetenekleri farklı kökenler bulunabilir. Maya hücresinin konak hücre yüzeyine tutunmasında konağın hormonal ve immunolojik koşullarının yanı sıra, mantarın yüzey özelliklerinin de önemi vardır (24).

- **Hücre yüzeyinin hidrofobik özelliği:** Negatif yüklü yüzeylerin birbirini çekmeleri, hidrofobik moleküllerin varlığı ile mümkündür. Yüksek galaktoz yoğunluğunda üreyenlerin yanı sıra, 25°C'de üreyen mayaların ve hifsel formların hidrofobluğu daha fazladır (24).

- **Yüzey adezinleri:** Konağın epitel ve endotel hücrelerine tutunmada rolleri olan moleküllerdir (24).
- **iC3b reseptörü:** Maya hücre yüzeyindeki bu molekül, konak hücre yüzeyindeki arjinin-glisin asparajin tabiatındaki reseptörlere tutunur. Bu molekül memelilerdeki CR-3 integrin reseptörleri ile benzerlik gösterir (24).
- **C3d reseptörü:** Komplemanın C3d komponenti için reseptör görevi gören ve memelilerdeki CR2 integrin reseptörü ile benzerliğe sahip bir moleküldür. Glukoz ve mannan açısından da zengin olup özellikle plastik yüzeylere tutunmada rol alır (24).
- **Fibronektin reseptörü:** Konak hücreye tutunmada Ca^{++} iyonlarına bağımlılık gösteren bir moleküldür. *C. albicans* ve *C. tropicalis* kökenleri fibronektin reseptörleri aracılığı ile subendotelial ekstra selüler matriks proteinlerine tutunur (24).
- **Östrojen reseptörü:** Üreme hormonlarının vajen epitelindeki glikojeni artırıcı etkisi ve maya hücrelerindeki östrojen reseptörleri, vajinal kolonizasyonu kolaylaştırır (24).
- **Yapışkan mannoprotein:** Bu glikoprotein ifadesi, yüksek galaktozlu ortamda fibriller yapısının artışı ile paralellik gösterir. *C. albicans*'ın mannoproteinini ile yüzeyinde fukoz bulunduran epitel arası ilişki ilgi çekicidir. Gerek "O" kan grubuna sahip olan gerekse salgısal olmayıp Lewis antijeni taşıyan bireylerin ağız ve vajen epitelinde bulunan fukoz ile *Candida* mannoproteinleri arası birbirini tanımaya dayalı ilişki belirtilen özellikteki kişilerde oral ve vajinal kandidemi eğilimini açıklamaktadır (24).
- **Salgısal asit proteinaz:** Konak hücrelerinde invazyon ve kavitasyon gibi olaylardan sorumlu olan bu enzim, aynı zamanda hücrenin infeksiyonuna yol açan bir adezyon faktörüdür (24).
- **Faktör 6 (Antijen 6):** *C. albicans* serotip A kökenlerinde mannoprotein katmanının en dışında yer alan bir epitoptur (24).
- **Laminin reseptörü:** Bu reseptörlerin aracılığı ile *Candida*'lar, aortik ve mikrovasküler endotelial hücrelerdeki ligandlara tutunurlar (24).
- **Fibrinojen bağlayan proteinler:** Bu reseptörler *C. albicans*'ın GT ve hisfel formunda bulunur. Özellikle böbrek ve üretral epitelere tutunmada rol alırlar (24).
- **ALS (Aglütinin-like sequence) proteinleri:** Bunlar, serin-treonin içeren proteinler olup, insan yanak epitelere ve fibronektine tutunmakta rol alırlar. ALS 1 p

proteini özellikle infeksiyonun erken döneminde maya hücresinin ağız mukozasına tutunmasından sorumludur (24).

- **HWP 1 P ve INT-1 proteinleri:** Bu proteinler, maya formundan hifsel forma geçişte ve insan yanak epitellerine tutunmada rol almaktadır (24).

B-Maya-Hif Dimorfizmi

Özellikle *C. albicans* kökenlerinde kromozomal düzeyde önemli değişiklikler olabilmektedir. Bu değişikliklerin yansımaları arasında yer alan dimorfizm, maya-GT (hif) dönüşümünü belirleyen bir süreç olup önemli bir virulans faktörüdür. Bu süreci etkileyen dış faktörlerden CO₂, pH (7,5-8,0), ısı (37°C); N-asetil glukoz, prolin ve aminoasitler maya hücresinin membranındaki reseptörler tarafından algılanan sinyaller olup hücre içine iletilirler. Hücre içinde cAMP, cGMP ve bazı iyonların miktarlarında değişiklikler meydana gelir. Oluşan iyon akımı sonucunda hifsel uzama gerçekleşir. Hifsel forma dönüşümün ilk basamağı GT'dir. Sinyalizasyon zayıf, ısı ve pH düşük ise septum yapımı gecikir, iyon akımı olmaz ve daha plastik bir duvar oluşur ve buradan dışarı doğru balonlaşma sonucu küresel hücre (tomurcuk) şekillenir (24).

C-Fenotipik Değişim

C. albicans kökenlerinde yüksek sıklıkta spontan fenotipik değişim saptanmıştır. Bu değişim, başlıca iki kategoride gerçekleşmektedir (24).

a) Kolonilerdeki White-Opaque (w-o) (beyaz opak) değişimi, 10⁻⁴ sıklıkta oluşur ve koloni düzeyinde olduğu kadar mikroskopik olarak da hücrelerin küresel ya da uzamış şekilde farklı görüntülerine yol açar (24).

b) Koloni morfolojisinde 10⁻², 10⁻³ sıklıkta oluşan değişim sonucu "Smooth"(s) (düzgün yüzeyle) tipinden miselyal forma, yıldız tipi, halka tipi gibi değişik formlara değişim olabilir. *In vivo* koşullarda da gerçekleşen bu durumun, antifungal ilaçlara karşı direnç gelişiminde etkili olduğu belirtilmektedir (24).

D-Salgısal Aspartil Proteinazlar (SAP)

Kimyasal özelliklerinden dolayı karboksil proteinaz, asit proteinaz isimlerini de alan salgısal aspartil proteinaz, asit pH'da ve nitrojen kaynağı olarak bir proteinin bulunduğu ortamda salgılanır. Enzim, *C. albicans* kökenlerinin çoğu tarafından ve daha az oranda *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* kökenlerince üretilir. *C. kefir*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* ise nadiren salgılar. Proteinaz; serum albumini, ovalbumin, hemoglobini, keratin, kollajen, laminin, fibronektin, İmmünglobulin (Ig) A, IgG'nin Fc kısmı ve komplemanın C3 bileşenini hidrolize ederek, başta *C. albicans* olmak üzere *Candida* kökenlerinin dokularda invazyon oluşturma yeteneklerini artırıcı etki göstermektedir. *C. albicans* kökenlerinde bu enzimleri kontrol eden SAP 1, 2, 3 genleri maya hücrelerinde; SAP 4, 5 ve 6 genleri ise hifsel formlarda ifade bulmaktadır. Bunlardan SAP 1 ve 3 yalnızca oral kandidozlu hastalarda saptanırken; 2, 4, 5 ve 6 hem taşıyıcılarda hem de aktif oral kandidozlularda saptanmıştır. *C. tropicalis* kökenlerinde de SAP 1-4 genleri ve *C. dubliniensis*'de ise 7 farklı proteinaz saptanmıştır (24).

E-Fosfolipazlar

Maya ve hifsel formdaki *C. albicans* kökenlerinin %79'unda fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Bu enzimler özgül olarak kopardıkları ester bağlarına göre A, B, C ve D olarak sınıflandırılmaktadır. B en sık saptanan sınıftır ve hem hidrolaz hem de lizofosfolipaz transaçilaz etkinliklerine sahiptir (24).

F-Not 5 Proteini

CCR-NOT kompleksinde yer alan NOT 5 geni tarafından kodlanan bu proteinin, *C. albicans* kökenlerindeki bazı virulans faktörlerinin transkripsiyonunda düzenleyici role sahip olduğu saptanmıştır. Bu ürün, mantarın hif oluşturmamasından, sodyum dodezil sülfat deterjanına direncinden ve insan yatak epitellerine tutunmasından sorumludur (24).

G-Biyofilm

Biyofilmler, bir yüzeye tutunan ve dış polimerik matriks içinde gömülü olarak bulunan mikrobiyal topluluklardır. *C. parapsilosis* santral venöz katateri bulunan hastalarda katater yüzeyinde oluşturduğu biyofilm nedeniyle daha sık soyutlanmaktadır (50).

2.1.10. Patogenez

Kandidemi; kanıtlanmış organ tutulumu olmaksızın bir ya da daha fazla kan kültüründe *Candida* cinsi maya hücrelerinin üremesi, mikoz; mantarlarla meydana gelen hastalıklar, kandidoz ise *Candida* cinsine ait türlerce meydana getirilen hastalıklara verilen genel isimdir. *Candida* normal koşullarda, özellikle gastrointestinal olmak üzere, florada bulunduğundan infeksiyonları çoğu kez endojen kaynaklıdır. Genellikle infeksiyondan önce florada bulunan mantar o bölgede kolonize olur ve daha sonra infeksiyon gelişir (24).

2.1.11. Kandidozların Sınıflandırılması

Kandidozlar, yüzeysel ve derin/sistemik kandidoz olarak iki grupta sınıflandırılabilir. Yüzeysel kandidozlar deri ve mukozaların, derin kandidozlar ise iç organ ve sistemlerin infeksiyonlarıdır. Yüzeysel kandidozlarda *Candida* deri veya mukozadaki bir çatlaktan yalancı hifleri ile doku içine girer, yalancı hifler ve bunlardan tomurcuklanma ile oluşan blastokonidyumları ile dokuya yayılır. Derin veya sistemik kandidozlarda çoğu kez önce gastrointestinal kanalda bir kolonizasyon vardır. Gastrointestinal mukozayı geçerek veya başka yolla kana ulaşan mantar, fagositik etkinliği yetersiz olan hastalarda kanda çoğalıp hemen hemen her organ veya sisteme yerleşebilir (3).

2.1.11.1. Yüzeyel Kandidozlar

- **Ağız Kandidozu:** Dudaklar, dil, damak, dişetleri, yanak mukozası olmak üzere ağzın her yerinde gelişebilir. Genellikle lezyonlar pamukçuk şeklindedir. Daha çok antibiyotik veya kortikosteroid kullanan hastalar, diyabetikler veya hücrel bağışıklık bozukluğu gösteren hastalarda gelişir. AIDS hastalarının büyük bir bölümünde görülür. Yenidoğanda görülen ağız kandidozunda infeksiyon kaynağı genellikle infekte anne vajinasıdır (3).
- **Genital Kandidoz:** Vulvovajinitlerin en sık etkenlerinden biri *Candida*'dır. Vulvovajinal kandidoz, daha çok doğurganlık çağındaki kadınlarda görülür. Geniş etki alanlı antibiyotik kullanımı, doğum kontrol hapı kullanımı, DM ve gebelik önemli zemin hazırlayan faktörleridir (3).
- **Deri Kandidozu:** Derinin daha çok koltukaltı, memealtı, anüs çevresi, el ve ayak parmak araları gibi sıcak ve nemli kat yerlerinde görülür. Şişmanlık, DM, travma veya maserasyon zemin hazırlayan faktörleridir. Lezyonlar, yüzeyel erozyonlar şeklinde kızamık ve nemli olup bazılarında veziküller gelişebilir. El parmak aralarında görülen kandidoz daha çok bir meslek hastalığıdır. Elleri sürekli nemli kalan ev kadınları, bulaşık yıkayıcılar, çamaşırhane işçileri, aşçılar, konserve işçileri ve balıkçılarda sık görülür (3).
- **Onikomikoz:** *Candida*'ya bağlı tırnak infeksiyonu ellerde daha sık görülür. Tırnak ile birlikte tırnak çevresindeki yumuşak dokunun da infekte olması karakteristiktir (3).
- **Kronik Muko-Kütanöz Kandidoz:** Genellikle erken çocukluk döneminde başlayan, hücrel immun yetmezlikle ilişkili bir hastalıktır. Deri ve/veya mukozaların bir bölgesinde veya her yerinde süregelen yüzeyel kandidoz lezyonları ile karakterize olup antifungal tedavi etkisizdir (3).

2.1.11.2. Derin/Sistemik Kandidozlar

Derin/sistemik kandidoz, kandidemiye izler. Kandidemiye (Kanıtlanmış organ tutulumu olmaksızın bir ya da daha fazla kan kültüründe *Candida* cinsi maya hücreleri

üremesi) neden olan faktörler; santral damar kataterleri, cerrahi girişimler, aspirasyon, deri veya gastrointestinal mukozadaki harabiyet ve damar içi narkotik madde kullanımınıdır. Konak savunmasının normal olduğu durumlarda, kandidemi geçici olup vücut kısa sürede mantarı kandan uzaklaştırır. Buna karşılık, yetersiz fagositik etkinlik durumlarında *Candida* kandan uzaklaştırılmaz. Mantar kanda çoğalıp herhangi bir organ veya sisteme yerleşerek infeksiyon odakları oluşturur. En sık tutulan organlar, böbrekler, deri, göz, kalp, karaciğer, dalak ve beyin zarlarıdır (3).

Sistemik kandidoz en sık kortikosteroid veya başka immunosupresif ilaç kullanan lösemi, lenfoma ve aplastik anemi gibi hematolojik hastalıkları olan ve kronik granülatöz hastalıklı kişilerde görülür (3).

2.1.12. *Candida* İnfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Serolojik Yöntemler

Kan kültürlerinin negatif çıkması ya da geç pozitif vermesi ve biyopsi gibi invazif işlemlerin durumu ağır hastalardaki sınırlı uygulanması gibi nedenlerle rutin tanı yaklaşımları yetersiz kalabilmektedir. Gerek bu nedenlerden dolayı *Candida* infeksiyonlarının tanısında, gerekse infeksiyonların kategorik ayrımında ve tedavi yaklaşımında yardımcı olmak amacıyla serolojik testlerden yararlanılma yoluna gidilmiştir (55).

2.1.12.1. Antikor Saptanması

Kaba Ekstrelelere Karşı Oluşan Antikorların Saptanması

Bu antikorların saptanması amacıyla pasif hemagglütinasyon ve presipitasyon testleri kullanılmaktadır. Daha çok 1960 ve 1970'li yıllarda uygulanan bu yöntemlerde kullanılan antijenlerin iyi karakterize edilemediği, dahası laboratuvarlar arasında verimli sonuçlar alınabilecek kadar iyi standardize edilemediği belirtilmektedir (55).

Sitoplazmik Antijenlere Karşı Antikorların Araştırılması

İnvazif ve yüzeysel kandidemi ayrımında serolojik testlerden daha fazla yararlanmak amacıyla *Candida*'ların sitoplazmik antijenlerinin saflaştırılması ve özelliklerinin belirlenmesiyle ilgili yapılmış olan çalışmalarda 40-60 kDA arasında değişik antijenler izole edilmiştir (55).

Hücre Duvarı (Mannan) Antijenine Karşı Antikor Araştırılması

Hücre duvarında bol miktarda bulunan mannan, polisakkarit yapısında bir antijendir. Radyo-immun-assay (RIA) ve ELISA ile anti-HDM antikorlarının invazif infeksiyonlular kadar, sağlıklı insanların serumunda da varlığı gösterilmiştir. Kantitatif ELISA yöntemlerinin geliştirilmesi ve birden çok serum örneklerinin test edilmesi gibi yollarla anti-HDM testinin kantitasyonu ve dolayısıyla duyarlılık ve özgüllüğünün araştırılması sağlanmaya çalışılmaktadır (55).

Miselyal Faz Antijenlerine Karşı Antikor Varlığının Araştırılması

C. albicans'ın miselyal fazının, doku invazyonunda önemli bir virulans faktörü olduğu anlaşılmıştır. Bu başta olmak üzere, *C. albicans*'ın maya formuna karşı kemik iliği nakli yapılanlar ile normal sağlıklı kişilerin en az %50'sinde aynı düzeyde antikor saptanmış olması gibi nedenlerle, özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda, mantarın GT antijenine karşı antikor varlığı araştırılmıştır. İndirekt immunofloresan yöntemine dayalı çalışmaların sonuçlarına göre; bu antikorun saptanmasının invazif, yüzeysel infeksiyonların ayrımı ve önceden geçirilmiş bir infeksiyonun varlığı ya da infeksiyonun olmadığı durumun belirlenmesinde ve erken tanı ve kemik iliği nakli öncesinde uygun tedavi yönteminin seçiminde yararlı olabileceği belirtilmektedir (55).

2.1.12.2. Antijen Saptanması

Günümüzde fungal antijenleri tespit için kullanılan birçok test (EIA, Radyoimmunosorbant-RIS, Lateks Aglutinasyon-LA gibi) mevcuttur. Kandidemi

tanısında antijen saptanması D-arabinitol *Candida* türlerinin bir metabolitidir ve invazif kandidemide biyokimyasal belirteç olarak kullanılmaktadır. D ve L-arabinitol normalde insan serumunda ve idrarında bulunmaktadır. *Candida* türlerinin D-arabinitol oluşturması nedeniyle invazif kandidemide bu metabolitin seviyesinde yükselme tespit edilir. Bunun dışında sitoplazmik enolaz, hücre duvarında bulunan mannan, mannoprotein gibi dolaşımda bulunan *Candida* antijenleri de invazif kandidemi tanısında kullanılabilir (24).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmanın çeşitli aşamalarında kullanılan, laboratuvarında mevcut olan ya da BAP desteği ile satın alınan demirbaş ve sarf malzemelerin listesi aşağıdadır.

3.1. Kullanılan Cihazlar

- Bakteriyolojik inkübatör (Mettler, Almanya)
- Santrifüj (ROTINA V20, 2000-5000 rpm)
- Vortex (NM-110)
- Güvenlik kabini (II. Seviye, Nuair Biological Safety Cabinets, ABD)
- Otoklav (Nüve-OT 020)
- Hassas terazi (Sartorius, Kanada)
- Pasteur Fırını (Mettler UE 500)
- Basit ışık mikroskobu (Olympus, Japonya)
- Buzdolabı (Ev tipi, Uğur, Türkiye)
- Distile su cihazı (Millipore, Fransa)
- Fotoğraf makinesi (C7070, Olympus, Japonya)
- Otomatik mikro pipet, 1000 µl (Gilson, Fransa)
- Otomatik mikro pipet, 100 µl (Gilson, Fransa)
- Yatay çalkalayıcı (IKA® VIBRAX VXR basic, Brezilya)
- Sterifil Aseptic System (Steril edilebilir membran filtrasyon ünitesi) (Millipore, ABD) (Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi BAP-SBE TM (MS) 2009-1 YL nolu proje kapsamında temin edilmiştir)
- Vakum basınç pompası (Millipore, ABD) (Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi BAP-SBE TM (MS) 2009-1 YL nolu proje kapsamında temin edilmiştir)

3.2. Kullanılan Sarf Malzemeleri

- Falkon tüp 50 ml (ISOLAB)
- Tek kullanımlık enjektör filtresi 0,45 µm (Whatman, ABD)
- Tek kullanımlık enjektör filtresi 0,20 µm (MFS, Japonya)
- Petri kapları, preparat saklama kutusu, zeler, endorf tüpler, enjektör
- MF, (MCE) 1,2 µm, 47 mm düz beyaz membran filtre (Millipore, ABD)
(Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi BAP-SBE TM (MS) 2009-1 YL
nolu proje kapsamında temin edilmiştir)
- MF, (MCE) 0,22 µm, 47 mm düz beyaz membran filtre (Millipore, ABD)
(Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi BAP-SBE TM (MS) 2009-1 YL
nolu proje kapsamında temin edilmiştir)
- Cam malzemeler,
 - Mikroskop lamı
 - Mikroskop lameli (20 x 20 mm)
 - Deney tüpü (cam, vida kapaklı, 16 x 100 mm)

3.3. Kullanılan Standart Suşlar

- a) *C. albicans* ATCC 90028
- b) *C. albicans* ATCC 10235
- c) *C. tropicalis* RSKK 02011

Standart suşların tamamı T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı'ndan liyofilize suş olarak temin edilmiştir. Kullanmadan önce 1 ml distile su ile rehidrate edilen suşlar SDA'ya ekilerek 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerden her deneyde tek sefer kullanılmak üzere %0,9'luk serum fizyolojik içeren steril endorf tüplerde saklamaya alınmıştır.

3.4. Kullanılan Hazır Toz Besiyerleri, Kimyasal Maddeler, Kullanıma Hazır Ticari Besiyerleri, Kan ve Kan Ürünleri, Hazırladığımız DeneY Ortamlarımız (DO)

3.4.1. Hazır Toz Besiyerleri

- Mueller-Hinton Broth (MHB) [(MERCK, Almanya)]
- Sabouraud DekstroZ Broth (SDB) [(HiMedia, Hindistan)]
- Mısırunlu Agar (MUA) [(HiMedia, Hindistan)]
- Sabouraud DekstroZ Agar (SDA) [(HiMedia, Hindistan)]

3.4.2. Kimyasal Maddeler (Yüzey Gerilimini Azaltıcı Maddeler)

- Tween80 (MERCK, Almanya)
- Sığır safrası

Sığır safrası stoğu: Mersin Büyükşehir Belediyesi Mezbahası'ndan temin edilmiştir. Steril balon içine alınmış olan safra güvenlik kabininde, etilen oksit ile steril edilmiş kurutma kağıtlarından 10 kez geçirilerek kaba süzme işlemeine tabi tutulmuştur. Daha sonra 0,20 µm'lik membran filtre ile süzülerek steril edilmiştir. Elli ml'lik steril falkon tüplere bölünerek çalışmada kullanmak üzere -25°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Kullanmadan önce derin dondurucudan çıkartılarak ev tipi soğutucuda bir gece bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır.

3.4.3. Kullanıma Hazır Ticari Besiyeri

CHROMAgar Candida (Becton Dickinson, Almanya)

3.4.4. Kan ve Kan Ürünleri

SS, Seroloji serumu: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda testleri çalışılmış ve tıbbi atığa ayrılmış non-steril serumların 50 ml'lik steril falkon tüplerde havuzlanmasıyla oluşturulmuştur. Eksi 25°C'de muhafaza edilen havuzlanmış seroloji serumu deneysel çalışmalarda kullanılmadan önce ev tipi soğutucuda bir gece bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır.

KDS, Havuzlanmış kan donör serumu: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kan Merkezi'nden temin edilmiştir. Donör tarama testleri (HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV 1+2, VDRL) çalışılmış ve infeksiyöz reaksiyon veren örnekler ayıklandıktan sonra serumlar 50 ml'lik steril falkon tüplerde havuzlanarak -25°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılmadan önce derin dondurucudan çıkartılarak ev tipi soğutucuda bir gece bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır.

TDP, Taze donmuş plazma: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kan Merkezi'nden raf ömrü dolmuş 1 ünite TDP temin edildikten hemen sonra 50 ml'lik steril falkon tüplere bölüştürülerek -25°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılmadan önce derin dondurucudan çıkartılarak ev tipi soğutucuda bir gece bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır.

3.4.5. Germ Tüp Testi İçin Hazırladığımız Deney Ortamlarımız

- **MUTA:** %2 Tween80'li Mısırunlu Agar
- **MUS:** %75'lik Mısırunlu DO
- **S-MUS:** %25 Safralı Mısırunlu DO
- **TDP-MUS:** %25 Taze Donmuş Plazmalı Mısırunlu DO
- **SS-MUS:** %25 Seroloji Serumlu Mısırunlu DO
- **KDS-MUS:** %25 Kan Donör Serumlu Mısırunlu DO
- **T-MUS:** %25 Tween80'li Mısırunlu DO

- **MHB:** Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri DO
- **S-MHB:** %10 Safralı Mueller-Hinton DO
- **T-MHB:** %10 Tween80'li Mueller-Hinton DO
- **SDB:** Sabouraud Dekstroz Sıvı Besiyeri DO
- **T-SDB:** %10 Tween80'li Sabouraud DO
- **S-KDS:** %10 Safralı Kan Donör Serumı DO
- **T-KDS:** %10 Tween80'li Kan Donör Serumı DO
- **T₂₀-KDS:** %20 Tween80'li Kan Donör Serumı DO
- **S-TDP:** %10 Safralı Taze Donmuş Plazma Deney Ortamı
- **T-TDP:** %10 Tween80'li Taze Donmuş Plazma DO
- **S-SS:** %10 Safralı Seroloji Serumı DO
- **T-SS:** %10 Tween80'li Seroloji Serumı DO
- **SDA:** Sabouraud Dekstroz Agar

3.5. Kullanılan Besiyerleri ve Deney Ortamlarının Hazırlanması

3.5.1. MUTA, %2 Tween80'li Mısırunlu Agar'ın Hazırlanması

Candida türlerinin gerçek hif, yalancı hif ve klamidospor yapılarının incelenmesinde kullanılan genel amaçlı besiyeridir.

Mısırunu infüzyonu	2,0 g/L
Agar	15 g/L

Toz besiyeri 17,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritildi. Bir litreye 20 ml Tween80 eklendi. Otoklavda 121°C'de 15 dakika dk sterilize edildi ve steril petri kutularına 12,5'er ml döküldü. Deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.2. MUS, %75'lik Mısırunlu DO'nun Hazırlanması

Mısırunlu agar modifiye edilerek hazırlanmıştır (17). Mısırunlu agardan steril balon jöjeye 17 g tartılıp 1 L soğuk distile suyla karıştırıldıktan sonra +4°C'de bir gece yatay karıştırıcıda bırakıldı. Ertesi gün çözünmeyen partiküller 0,20 µm membran filtre ile uzaklaştırıldıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildi. Üç kısım MUS ve bir kısım distile su olacak şekilde hazırlanan sıvı karışım 2 ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek kullanıma hazır hale getirildi. Deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.3. S-MUS, %25 Safraı Mısırunlu DO'nun Hazırlanması

MUS	75 ml
Safra	25 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.4. TDP-MUS, %25 Taze Donmuş Plazmalı Mısırunlu DO'nun Hazırlanması

MUS	75 ml
TDP	25 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.5. SS-MUS, %25 Seroloji Serumlu Mısırunlu DO'nun Hazırlanması

MUS	75 ml
SS	25 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.6. KDS-MUS, %25 Kan Donör Serumlu Mısırunlu DO'nun Hazırlanması

MUS	75 ml
KDS	25 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.7. T-MUS, %25 Tween80'li Mısırunlu DO'nun Hazırlanması

MUS	75 ml
Tween80	25 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.8. MHB, Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri DO'nun Hazırlanması

Et özütü	300 g/L
Kazein asit hidrolizat	17,50 g/L
Nişasta	1,5 g/L

Toz besiyerinin 21 gramı 1000 ml distile suda süspanse edildi. Kaynayana kadar ısıtılarak suda çözündürüldü. Otoklavda 121°C'de 15 dk sterilize edildi ve İki ml'lik steril endorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.9. S-MHB, %10 Safraı Mueller-Hinton DO'nun Hazırlanması

MHB	90 ml
Safra	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril endorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.10. T-MHB, %10 Tween80'li Mueller-Hinton DO'nun Hazırlanması

MHB	90 ml
Tween80	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril endorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.11. SDB, Sabouraud Dekstroz Sıvı Besiyeri DO'nun Hazırlanması

Pepton	10 g/L
Dekstroz	20 g/L

Toz besiyerinin 30 gramı 1000 ml distile suda süspanse edildi. Kaynayana kadar ısıtılarak suda çözündürüldü. Otoklavda 121°C'de 15 dk sterilize edildi ve 2 ml'lik steril ependorf tüplerine bölündü. Deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.12. T-SDB, %10 Tween80'li Sabouraud DO'nun Hazırlanması

SDB	90 ml
Tween80	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.13. S-KDS, %10 Safralı Kan Donör Serumı DO'nun Hazırlanması

KDS	90 ml
Safra	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.14. T-KDS, %10 Tween80'li Kan Donör Serumı DO'nun Hazırlanması

KDS	90 ml
Tween80	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril endorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.15. T₂₀-KDS, %20 Tween80'li Kan Donör Serumı DO'nun Hazırlanması

KDS	80 ml
Tween80	20 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril endorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.16. S-TDP, %10 Safra Taze Donmuş Plazma DO'nun Hazırlanması

TDP	90 ml
Safra	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril endorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.17. T-TDP, %10 Tween80'li Taze Donmuş Plazma DO'nun Hazırlanması

TDP	90 ml
Tween80	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.18. S-SS, %10 Safralı Seroloji Serumı DO'nun Hazırlanması

Seroloji serumu	90 ml
Safra	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.19. T-SS, %10 Tween80'li Seroloji Serumı DO'nun Hazırlanması

SS	90 ml
Tween80	10 ml

Olacak şekilde steril falkon tüplerde vorteksle 5 dk karıştırılarak hazırlandı. İki ml'lik steril ependorf tüplerine bölünerek deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.5.20. SDA, Sabouraud Dekstroz Agar'ın Hazırlanması

Besiyerleri mikrobiyoloji laboratuvarına bağı besiyeri ünitesinde hazırlanmıştır. Besiyerleri 90 mm çapındaki petrilere döküldükten sonra kalite kontrolleri yapılarak çalışmada kullanılmıştır.

Papain enzimi ile işlenmiş soya unu	10 g/L
Dekstroz	10 g/L
Agar	15 g/L

Toz besiyerinden 35 g 1000 ml distile suda süspanse edildi. Kaynayana kadar ısıtılarak suda çözüldü. Otoklavda 121°C'de 15 dk sterilize edildi. Petri kaplarına 12,5'er ml dağıtıldı.

3.5.21. Modifiye Tuz Tolerans Testi Besiyerinin Hazırlanması

Bu deney ortamı Akgül (56)'ün çalışmasında olduğu gibi yüksek tuz yoğunluğu kullanmak yoluyla modifiye edilerek hazırlanmıştır.

SDA içine %6,5 tuz eklenerek 121°C'de 15 dk steril edildi ve steril petri kutularına 12,5'er ml döküldü.

3.6. Germ Tüp Deneyi İçin Uygulanan Yöntemler

A- **Subkültürden GT deneyi:** Kan kültürü ve diğer klinik örneklerden izole edilen *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. dubliniensis* suşları SDA'ya ekilerek 37°C'de bir gece inkübe edilmiştir. Ertesi gün sub kültürü yapılan bu maya kolonilerinden içinde %0,9'luk serum fizyolojik (SF) içeren 2 ml'lik steril ependorf tüplere iğne öze ile alınarak +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Ependorf tüplerde muhafaza edilen *C. albicans*, *C. dubliniensis* ve *C. tropicalis* suşları deneylerde kullanılmadan önce vorteksle bir dk karıştırılmıştır. Daha sonra maya

süspansiyonları SDA'ya pasajlanarak 37°C'de 24-48 saatliğine inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda SF ile 2 McFarland yoğunlukta maya süspansiyonları hazırlanmıştır. GT deneylerinde kullanılacak olan besiyerleri ve deney ortamları da hazırlandıktan sonra maya süspansiyonundan 50 µl ve besiyerinden 1 ml alınarak 37°C'de GT deneyleri uygulanmıştır. Deney sürelerinin sonunda steril lam üzerine otomatik pipetle 20 µl maya süspansiyonu konulup üzeri steril bir lamelle kapatılarak X40'luk ışık mikroskopunda incelenmiştir. Deneyler 2 saat boyunca her 15 dk'da bir ve daha sonra saat başı olmak üzere toplam 4 saat takip edilerek yapılmıştır.

B- Kan kültür şişelerinden doğrudan GT deneyi: Çalışmada mikrobiyoloji laboratuvarına kültür için gönderilen BACTEC kan kültür şişeleri (Yetişkinler için BACTEC Plus+Aerobic/F, çocuklar için BACTEC Peds Plus/F) kullanılmıştır. Kan kültürleri BACTEC-9120 (Becton-Dickinson, İngiltere) otomatik inkübatör sisteminde takip edilmiştir. Pozitif sinyal veren ve Gram boyama ile maya hücreleri saptanan şişelere kültüründe daha önce maya üremesi olup olmadığına bakılmaksızın doğrudan GT deneyi uygulanmıştır. Doğrudan GT deneyi için maya (+) saptanan kan kültür şişelerinden alınan 0,5 ml örnek içlerinde 0,5 ml besiyeri bulunan cam deney tüplerine inoküle edilerek 37°C'de GT deneyleri uygulanmıştır. Koloniden ve kan kültür örneklerinden yapılan GT deneylerinde Hilmioğlu ve ark. (57)'nin çalışmasında olduğu gibi X40'luk ışık mikroskopunda incelenen 100 maya hücresinden en az 1'i çimlenme borusu oluşturmuş ise GT pozitif kabul edilmiştir.

2005-2007 yılları arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı'nda API ID 32 C (Bio-Merieux, Fransa) ile *C. dubliniensis* tanısı konmuş olan türlere *C. albicans* ve *C. dubliniensis* ayırımı yapmak için 42°C'de üreme deneyi ve tuz tolerans testi uygulanmıştır.

3.7. Çalışma Örneklerinin Kaydedilmesi

Örneklerin toplanması, kaydedilmesi, laboratuvar çalışmalarında kolaylık sağlaması bakımından çalışma örneklerinin kodlanması planlanmıştır. Bunun için

laboratuvara gönderilen klinik örneklerin rutin tanısında kullanılan laboratuvar kayıt defterinde örneklere verilen kayıt numaraları esas alınmıştır.

Örneğin; 3976 kayıt numarası doku örneği olup çocuk cerrahisi servisinde yatan hastaya ait klinik örnektir. Bu hastanın doku örneğinde *C. albicans* türü maya izole edilmiştir.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Her deneysel çalışmadan sonra belirlenen GT sayıları hesaplanarak bilgisayarda Microsoft Excel programında hazırlanan tablolara yazılmıştır. Hazırlanan veriler çok gruplu oran karşılaştırması yaparken Marascuillo procedure düzeltilmesi yöntemi kullanılmıştır (58). Toplam 16 *C. albicans* suşunun çalışıldığı koloniden ve doğrudan GT deneyi sonuçlarının karşılaştırılmasında; hazırlanan veriler SPSS 11.5 programına girilerek iki oran karşılaştırması için “z testi yöntemi” uygulanmıştır (59).

Aşağıdaki **Çizelge 3.1.**'de sonuçları kaydetmede kullanılan Excel çalışma tablosu örneği gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Sonuçların kaydedildiği çizelge örnekleri.

DENEY ORTAMI: KDS		<i>C. albicans</i>									
	Kayıt No	Süre (dk)									
		15	30	45	60	75	90	105	120	180	240
1	ATCC 10235	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	ATCC 90028	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
3	3976	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
4	3880	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	1517	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
6	11606	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
7	5695	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
8	3890	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
9	83	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
10	683	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
11	327	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
12	96	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

DENEY ORTAMI: SS		<i>C. albicans</i>									
	Kayıt No	Süre (dk)									
		15	30	45	60	75	90	105	120	180	240
1	ATCC 10235	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	ATCC 90028	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
3	3976	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
4	3880	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
5	1517	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
6	11606	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
7	5695	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
8	3890	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
9	83	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
10	683	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
11	327	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
12	96	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

4. BULGULAR

Mart-Ağustos 2009 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na kan kültürü için gönderilen örneklerden 105 maya suşu, *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* ATCC 10235, *C. tropicalis* RSKK 02011 standart suşları ve aynı dönemde diğer klinik örneklerden izole edilen 73 *Candida* suşu çalışma kapsamına alınmıştır.

Çalışmaya alınan 105 kan kültür örneğinden konvansiyonel yöntemlerle ve gerektiğinde API ID 32 C hızlı asimilasyon kitleriyle toplam 23 farklı hastadan 83 tane *C. parapsilosis*, 10 farklı hastadan 16 tane *C. albicans*, 2 farklı hastadan 4 tane *C. tropicalis*, 1 hastadan 1 tane *Cryptococcus albidus* ve 1 hastadan 1 tane *Geotrichum capitatum* izole edilmiştir. Kan kültürlerinden izole edilen mayaların servislere göre dağılımları **Çizelge 4.1.**'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kan kültüründen izole edilen mayaların servislere göre dağılımı.

(n=105)	Suş sayısı	Hasta sayısı
<i>C. parapsilosis</i> (n=83)	83	23
Genel cerrahi	28	5 farklı hasta
Çocuk hastalıkları	17	7 farklı hasta
Genel yoğun bakım ünitesi	10	1 hasta
Kadın hastalıkları ve doğum	6	1 hasta
Neonataloji	5	2 farklı hasta
Kardiyoloji	5	1 hasta
Çocuk yoğun bakım ünitesi	4	2 farklı hasta
Beyin cerrahisi	4	1 hasta
Nöroloji	2	1 hasta
Nefroloji	1	1 hasta
Enfeksiyon hastalıkları	1	1 hasta
<i>C. albicans</i> (n=16) *	16	10
Çocuk hastalıkları	7	3 farklı hasta
Genel cerrahi	4	3 farklı hasta
Enfeksiyon hastalıkları	2	1 hasta
Hematoloji	2	2 farklı hasta
Beyin cerrahisi	1	1 hasta
<i>C. tropicalis</i> (n=4)	4	2
Genel cerrahi	3	1 hasta
Enfeksiyon hastalıkları	1	1 hasta
<i>C. albidus</i> (n=1)	1	1
Enfeksiyon hastalıkları	1	1 hasta
<i>G. capitatum</i> (n=1)	1	1
Hematoloji	1	1 hasta
* Hastaların birinden <i>C. albicans</i> ile birlikte <i>Trichosporon asahii</i> 'de izole edilmiştir.		

Kan kültürleri en erken birinci gün, en geç altıncı gün pozitif sinyal (ortalama 1,97 gün=47,28 saat) vermiştir.

KDS'ler 192 erkek (yaş ortalaması 35,34), 4 kadın (yaş ortalaması 48) toplam 196 sağlıklı kan donöründen temin edilmiştir.

Diğer klinik örneklerden izole edilen 73 *Candida* suşu; 58 *C. albicans*, 10 *C. tropicalis*, 5 *C. dubliniensis*'ten oluşmuştur. Bu suşların servislere göre dağılımı **Çizelge 4.2.**'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* olarak tanımlanmış 73 suşun servislere göre dağılımı.

Servisler	Adet		
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. dubliniensis</i>
Çocuk acil	9	0	1
Göğüs hastalıkları	8	0	0
Hematoloji	7	0	1
Göğüs cerrahisi	6	1	0
Nefroloji	4	0	0
Onkoloji	3	0	0
Nöroloji	2	3	0
Reanimasyon	2	1	0
Genel cerrahi	2	1	0
Kardiyoloji	2	0	0
Beyin cerrahisi	2	0	0
Çocuk hastalıkları	2	0	0
Kardiyovasküler cerrahi	2	0	0
Acil	1	0	2
Çocuk cerrahisi	1	1	0
Endokrin	1	0	0
Dahiliye	1	0	0
Dermatoloji	1	0	0
Enfeksiyon hastalıkları	1	0	0
Çocuk enfeksiyon	1	0	0
Gastroloji	0	0	1
Kulak burun boğaz	0	1	0
Plastik ve rekonstrüksiyon cerrahisi	0	1	0
Üroloji	0	1	0
Toplam	58	10	5

Klinik örneklerden konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan 58 *C. albicans* suşu 44 farklı hastaya ait 16 balgam ve kan, 7 katater idrarı, 4 trakeal aspirat kültürü (TAK), 4 orta akım idrarı, 3 yara, doku ve ağız içi sürüntüsü, 1 periton sıvısı ve boğaz kültürü örneğinden, 10 *C. tropicalis* suşu 9 farklı hastaya ait 3 kan, 2 gaita, 1 balgam, katater idrarı, yara, apse ve TAK örneğinden, API ID 32C ile identifikasyon, 42°C’de üreme deneyi ve tuz tolerans testi ile *C. dubliniensis* olarak konfirme edilen 5 *C. dubliniensis* suşu ise 4 farklı hastaya ait 2 yara, katater idrarı ve 1 balgam örneğinden izole edilmiştir.

Çizelge 4.3. *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. dubliniensis* olarak tanımlanmış 73 suşun klinik örneklere göre dağılımı.

Klinik örnekler	Adet		
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. dubliniensis</i>
Balgam	16	1	1
Kan	16	3	0
Katater idrarı	7	1	1
TAK	4	1	0
Orta akım idrarı	4	0	0
Yara	3	1	2
Doku	2	0	0
Ağız içi sürüntü	2	0	0
Her türlü materyal	1	0	0
Mantar kültürü	1	0	0
Periton sıvısı	1	0	0
Boğaz	1	0	0
Gaita	0	2	0
Abse	0	1	0
Katater	0	0	1
Toplam	58	10	5

Çalışmaya dahil edilen *C. albicans* en çok balgam ve kan, *C. tropicalis* kan, *C. dubliniensis* ise yara örneğinden izole edilmiştir.

Elli sekiz *C. albicans* suşu, *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. albicans* ATCC 10235 standart suşları toplam 60 *C. albicans* suşu ile yapılan GT deneyi sonuçları ve 21 farklı DO’larında gözlenen GT pozitiflik (+) durumları **Çizelge 4.4.**’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. *C. albicans* (42 klinik, 16 hemokültür örneği, 2 standart suş) suşlarının 21 farklı deney ortamındaki GT (+)'lik sayıları.

Sıra no	Deney ortamı	Sub kültürden GT deneyi (n=60)									<i>C. albicans</i>	
		Süre (dk)										
		15	30	45	60	75	90	105	120	180	240	
1	SDB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	T-SDB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	MHB	0	0	0	4	12	30	48	60*	60	60	60
4	T-MHB	0	0	0	0	4	18	45*	57	60	60	60
5	S-MHB	0	0	0	8	22*	43	53	58	60	60	60
6	MUS	0	0	0	0	9	26	46*	60	60	60	60
7	T-MUS	0	0	0	0	5	21	41	60*	60	60	60
8	S-MUS	0	0	0	7	31*	46	54	60	60	60	60
9	TDP-MUS	0	0	1	24*	45	54	59	60	60	60	60
10	SS-MUS	0	0	13	44*	55	60	60	60	60	60	60
11	KDS-MUS	0	0	32	54*	58	60	60	60	60	60	60
12	SS	0	0	0	8*	20	41	54	60	60	60	60
13	T-SS	0	0	2	12	25*	46	57	60	60	60	60
14	S-SS	0	0	0	7	40	51*	57	60	60	60	60
15	TDP	0	0	6	43*	60	60	60	60	60	60	60
16	T-TDP	0	0	0	14*	33	47	56	60	60	60	60
17	S-TDP	0	0	0	10	34	41	51	54*	60	60	60
18	KDS	0	0	12	36*	47	54	58	60	60	60	60
19	T-KDS	0	0	2	21*	49	59	60	60	60	60	60
20	T₂₀-KDS	0	0	1	19*	44	58	60	60	60	60	60
21	S-KDS	0	0	1	17*	43	54	58	60	60	60	60

(*)-*C. albicans* ATCC 90028 ve *C. albicans* ATCC 10235'in ilk GT oluşturduğu süre

C. albicans suşları ile yapılan koloniden GT deneylerinde, DO'ların hiç birinde 30. dk'ya kadar GT (+)'lik görülmezken 45. dk'dan itibaren GT (+)'lik görülmeye başlanmış olup 45. ve 60. dk'larda en fazla GT (+) KDS-MUS, 75. dk'da TDP, 90. dk'da SS-MUS, KDS-MUS ve TDP, 105. dk'da SS-MUS, KDS-MUS, TDP, T-KDS ve T₂₀-KDS DO'larında görülmüştür. Tüm DO'larına bakıldığında 120. dk'da 3 DO hariç diğer DO'larında 60 suşun 60'ı da GT (+) bulunurken 180. dk'da tüm DO'larında GT (+)'lik saptanmıştır.

C. tropicalis RSKK 02011 ve diğer klinik örneklerden izole edilen 10 *C. tropicalis* suşu ile yapılan koloniden GT deneylerinde, GT sonuçları ve 21 farklı deney DO'da görülen GT (+)'lik durumları **Çizelge 4.5.**'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. *C. tropicalis* (10 klinik örnek, 1 standart suş) suşlarının 21 farklı deney ortamındaki GT (+)'lik sayıları

Sıra no	Deney ortamı	Sub kültürden GT deneyi (n=11)									<i>C. tropicalis</i>	
		Süre (dk)										
		15	30	45	60	75	90	105	120	180	240	
1	SDB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	T-SDB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	MHB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10*	11
4	T-MHB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10*	11
5	S-MHB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6*	11
6	MUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
7	T-MUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9*	11
8	S-MUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
9	TDP-MUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
10	SS-MUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10*	11
11	KDS-MUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
12	SS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
13	T-SS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
14	S-SS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
15	TDP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
16	T-TDP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10*	11
17	S-TDP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9*	11
18	KDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
19	T-KDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
20	T₂₀-KDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11
21	S-KDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11*	11

(*)-*C. tropicalis* RSKK 02011'in ilk GT oluşturduğu süre

C. tropicalis ile yapılan koloniden GT deneylerinde tüm DO'larında 120. dk'da GT (+)'lik görülmezken 240. dk'da tüm DO'larında 11 suşun 11'i de GT (+) olarak saptanmıştır.

Standart *C. tropicalis* RSKK 02011'in SDB ve T-SDB DO'ları hariç diğer 19 DO'nun tamamında 180. dk'da GT oluşturduğu saptanmıştır. Klinik örnekler için *C. tropicalis* ve standart *C. tropicalis* suşlarının tamamının 19 farklı DO'nun hepsinde 240. dk'da GT (+) olarak tespit edilmiştir.

Standart suşlardan *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* ATCC 10235 ve 5 tane muhtemel *C. dubliniensis* türlerinin modifiye tuz tolerans testi ve 42°C’de üreme özelliklerini gösteren durum **Çizelge 4.6.**’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* türlerinin modifiye tuz tolerans testi ve 42°C’de üreme durumları (+: Üreme pozitif, -: Üreme negatif).

ORTAM		42°C-SDA				37°C-SDA				37°C & % 6,5 lik SDA			
Süre: Saat		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
1	<i>C. albicans</i> ATCC 10235	+	+	+	+	+	+	+	+	zayıf üreme	+	+	+
2	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	Kayıt no:1400 <i>C. dubliniensis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
2	Kayıt no:2130 <i>C. dubliniensis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
3	Kayıt no:526 <i>C. dubliniensis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
4	Kayıt no:342 <i>C. dubliniensis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
5	Kayıt no:2109 <i>C. dubliniensis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

Subkültürü yapılarak -25°C’de gliserinli buyyon içeren ependorf tüplerde bekletilen *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* ATCC 10235, çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve laboratuvar kayıt noları 1400, 2130, 526, 342, 2109 olan *C. dubliniensis* suşları, ısı ve modifiye tuz tolerans testleri çalışılmadan önce +4°C’de bir gece bekletildikten sonra SDA ve %6,5’lik SDA’ya ekilip inkübe edilmiştir.

C. albicans standart suşları 24. saatte SDA’da 37°C ve 42°C’de ürerken *C. dubliniensis* sadece 37°C’de üreme göstermiştir. Diğer taraftan *C. albicans* ATCC 10235 %6,5’lik SDA’da 24. saatte zayıf üreme göstermiş, 48. saatten itibaren üreme pozitif saptanmıştır. *C. albicans* ATCC 90028 ise 24. saatten itibaren üreme pozitif bulunurken %6,5’lik SDA’da *C. dubliniensis* suşlarının hiç birinin üremediği saptanmıştır.

Toplam 5 *C. dubliniensis* ile 21 farklı DO'da yapılan GT deneylerinde GT (+) görülme durumları **Çizelge 4.7.**'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. *C. dubliniensis* (5 klinik örnek) suşlarının 21 farklı deney ortamındaki GT (+)'lik sayıları.

Sıra no	Deney ortamı	Sub kültürden GT deneyi (n=5)									<i>C. dubliniensis</i>	
		Süre (dk)										
		15	30	45	60	75	90	105	120	180		240
1	SDB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	T-SDB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	MHB	0	0	0	0	0	1	2	5	5	5	5
4	T-MHB	0	0	0	0	0	1	4	5	5	5	5
5	S-MHB	0	0	0	0	0	0	4	5	5	5	5
6	MUS	0	0	0	3	4	5	5	5	5	5	5
7	T-MUS	0	0	0	0	1	2	3	5	5	5	5
8	S-MUS	0	0	0	0	0	3	5	5	5	5	5
9	TDP-MUS	0	0	0	0	3	4	5	5	5	5	5
10	SS-MUS	0	0	0	0	3	4	5	5	5	5	5
11	KDS-MUS	0	0	0	1	4	5	5	5	5	5	5
12	SS	0	0	0	0	0	2	4	5	5	5	5
13	T-SS	0	0	0	0	0	2	3	5	5	5	5
14	S-SS	0	0	0	0	0	4	5	5	5	5	5
15	TDP	0	0	0	2	4	5	5	5	5	5	5
16	T-TDP	0	0	0	2	3	5	5	5	5	5	5
17	S-TDP	0	0	0	0	0	1	4	5	5	5	5
18	KDS	0	0	1	2	5	5	5	5	5	5	5
19	T-KDS	0	0	0	0	2	4	5	5	5	5	5
20	T₂₀-KDS	0	0	0	0	0	1	3	5	5	5	5
21	S-KDS	0	0	0	0	1	3	5	5	5	5	5

C. dubliniensis ile yapılan koloniden GT deneylerinde, 30. dk'ya kadar GT (+) görülmezken 45. dk'da KDS DO'da 1 tane GT (+) görülmüş, 60. dk'da en fazla GT (+) MUS DO'da, 75. dk'da KDS DO'da, 90. dk'da MUS, KDS-MUS, TDP, T-TDP ve KDS DO'larında görülmüştür. *C. dubliniensis* suşlarının tamamı 120. dk'da GT (+) olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. dubliniensis* suşlarının SDB ve T-SDB DO'larında GT oluşturmadığı gözlenmiştir.

Çalışmamızın ilk aşamasında 42 klinik örnek, 16 hemokültür ve 2 standart *C. albicans* suşunun GT (+)'lik oranları 21 DO'da denendikten sonra ikinci aşaması olan BACTEC maya (+) şişelerden doğrudan GT deneylerine geçilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasındaki kan kültür örneklerinde koloniden GT deneylerinde saptanan GT (+)'lik sayıları **Çizelge 4.8.**'de gösterilmiştir. **Çizelge 4.8. ve Çizelge 4.9.**'da belirtilen sıra nolar **Çizelge 4.4.**'teki sıra nolar baz alınarak listelenmiştir.

Çizelge 4.8. BACTEC-*albicans* pozitif (16 hemokültür örneği) suşlarının 13 farklı deney ortamında koloniden GT deneyinde görülen GT (+)'lik sayıları.

Sıra no	Deney ortamı	Koloniden GT deneyi (n=16)									<i>C. albicans</i>	
		Süre (dk)										
		15	30	45	60	75	90	105	120	180	240	
3	MHB	0	0	0	0	2	8	16	16	16	16	
4	T-MHB	0	0	0	0	2	4	13	16	16	16	
5	S-MHB	0	0	0	2	3	12	14	16	16	16	
12	SS	0	0	0	3	10	16	16	16	16	16	
13	T-SS	0	0	0	0	0	8	16	16	16	16	
14	S-SS	0	0	0	0	10	14	16	16	16	16	
18	KDS	0	0	6	15	16	16	16	16	16	16	
19	T-KDS	0	0	1	3	10	16	16	16	16	16	
21	S-KDS	0	0	0	5	12	16	16	16	16	16	
15	TDP	0	0	3	14	16	16	16	16	16	16	
16	T-TDP	0	0	0	0	8	15	16	16	16	16	
17	S-TDP	0	0	0	2	14	16	16	16	16	16	
11	KDS-MUS	0	0	8	13	14	16	16	16	16	16	

Kan kültür örneklerinde yapılan koloniden GT deneyinde DO'ların hiç birinde 30. dk'ya kadar GT (+)'lik görülmezken 45. dk'dan itibaren GT (+)'lik görülmeye başlanmış olup en fazla GT (+) görülen DO 45. dk'da KDS-MUS, 60. dk'da KDS, 75. dk'da KDS ve TDP, 90. dk'da SS, KDS, T-KDS, S-KDS, TDP, S-TDP ve KDS-MUS olurken 105. dk'da T-MHB ve S-MHB hariç diğer tüm DO'larda GT (+)'lik saptanmıştır. Çalışılan 16 suşun 16'sı da 120. dk'da GT(+) olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, klinik örneklerle yapılan koloniden GT deneylerinin 60. dk sonuçlara göre GT oluşturmada başarılı bulunan 13 DO'da

doğrudan GT deneyleri uygulanmıştır. BACTEC-*albicans* pozitif şişelerden doğrudan GT deneylerinde saptanan GT (+)'lik sayıları **Çizelge 4.9.**'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. BACTEC-*albicans* pozitif (16 hemokültür örneği) suşlarının 13 farklı deney ortamında doğrudan GT deneyinde görülen GT (+)'lik sayıları.

Sıra no	Doğrudan GT deneyi sonucu (n= 16)										<i>C. albicans</i>	
	Deney ortamı	Süre (dk)										
		15	30	45	60	75	90	105	120	180		240
3	MHB	0	0	0	0	1	6	16	16	16	16	
4	T-MHB	0	0	0	0	2	8	16	16	16	16	
5	S-MHB	0	0	0	0	5	15	16	16	16	16	
12	SS	0	0	0	4	13	16	16	16	16	16	
13	T-SS	0	0	0	0	1	12	16	16	16	16	
14	S-SS	0	0	0	2	11	16	16	16	16	16	
18	KDS	0	0	3	15	16	16	16	16	16	16	
19	T-KDS	0	0	0	1	12	16	16	16	16	16	
21	S-KDS	0	0	0	7	13	16	16	16	16	16	
15	TDP	0	0	2	14	16	16	16	16	16	16	
16	T-TDP	0	0	0	0	7	15	16	16	16	16	
17	S-TDP	0	0	0	3	16	16	16	16	16	16	
11	KDS-MUS	0	0	0	12	12	14	16	16	16	16	

Çalışmanın 45. ve 60. dk'larında en fazla GT (+)'lik görülen DO, KDS, 75. dk'da KDS, TDP ve S-TDP, 90. dk'da SS, S-SS, KDS, T-KDS, S-KDS, TDP ve S-TDP olurken 105. dk'da tüm DO'larında 16 suşun 16'sı da GT (+) saptanmıştır.

BACTEC-*tropicalis* pozitif 4 kan kültür örneğiyle yapılan doğrudan GT deneylerinde 120. dk'ya kadar hiç bir DO'da GT (+)'lik görülmezken 180. dk'dan itibaren GT (+)'lik görülmeye başlanmış olup 4 *C. tropicalis*'in 4'ü de 240. dk'da GT (+) olarak saptanmıştır (**Çizelge 4.10.**).

Toplam 60 *C. albicans* suşunun çalışıldığı 21 farklı DO'nun 15. ve 30. dk'larında GT oluşturma açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır (P>0,05).

Atmış *C. albicans* suşu ile yapılan çalışmada GT oluşturma açısından en fazla anlamlı farklılığı oluşturan DO, KDS-MUS olurken DO'ları arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılık gösteren süreler 45., 60., 75. ve 90. dk'lar olmuştur.

Çizelge 4.10. BACTEC-*tropicalis* pozitif (4 hemokültür örneği) suşlarının 13 farklı deney ortamında doğrudan GT deneyinde görülen GT (+)'lik sayıları.

Sıra no	Doğrudan GT deneyi sonucu (n= 4)										<i>C. tropicalis</i>		
	Deney ortamı	Süre (dk)										180	240
		15	30	45	60	75	90	105	120				
3	MHB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
4	T-MHB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
5	S-MHB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
12	SS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	
13	T-SS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
14	S-SS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	
18	KDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	
19	T-KDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
21	S-KDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
15	TDP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	
16	T-TDP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
17	S-TDP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	
11	KDS-MUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	

Kan kültür örneklerinde doğrudan ve koloniden GT deneyleri karşılaştırıldığında sadece 45. dk'da KDS-MUS DO'da GT oluşturma açısından anlamlı farklılık saptanmıştır ($P < 0,001$). Bunun haricinde diğer zaman periyotlarında ve DO'ları arasında GT oluşturma açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($P > 0,005$).

Toplam 60 *C. albicans* suşu ile yapılan GT deneylerinde 90. dk ve sonrasında çalışılan 21 farklı DO'nun hiç birinde GT oluşturma açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($P > 0,005$).

C. tropicalis ve *C. dubliniensis* suşları ile yapılan koloniden GT deneylerinde 21 farklı DO'nun hiç birinde, hiç bir zaman periyodunda GT oluşturma açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($P > 0,005$).

Çizelge 4.11-Çizelge 4.22.'de 60 *C. albicans* suşu ile koloniden GT deneylerinde DO'ları arasında GT oluşturma açısından istatistiksel farklılıklar gösterilmiştir. Çizelgelerde GrpA; ifade edilen sürede en çok sayıda GT (+)'lik veren DO'nı ifade ederken GrpB, GrpA ile aynı sürede ancak daha az GT (+)'lik sergileyen DO'larını göstermektedir.

Çizelge 4.11. KDS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 45. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
KDS-MUS	MUS	<0,001	KDS-MUS	MUS	<0,001	KDS-MUS	MUS	<0,001	KDS-MUS	MUS	<0,001
	T-MUS			T-MUS			T-MUS				
	MHB			MHB			MHB				
	T-MHB			T-MHB			T-MHB				
	S-TDP			S-TDP			S-TDP		S-TDP	=0,023	
	S-MUS			S-MUS			S-MUS		S-MUS	=0,002	
	S-MHB			S-MHB			S-MHB		S-MHB	<0,001	
	SS			SS			SS		SS		
	T-SS			T-SS			T-SS		T-SS		
	T-TDP			T-TDP			T-TDP		T-TDP	=0,011	
	T-KDS			T-KDS			T-KDS		T-KDS		
	T ₂₀ -KDS			T ₂₀ -KDS			T ₂₀ -KDS		T ₂₀ -KDS		
	S-KDS			S-KDS			S-KDS		S-KDS	=0,001	
	S-SS			S-SS			S-SS		S-SS		
	TDP-MUS			TDP-MUS			TDP-MUS		TDP-MUS		
TDP	TDP	=0,032									

Çizelge 4.12. KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
KDS	MUS	<0,001	KDS	MUS	<0,001	KDS	MUS	=0,007
	T-MUS			T-MUS				
	T-MHB			T-MHB				
	MHB			MHB		<0,001		
	S-MHB			S-MHB			=0,001	
	S-MUS			S-MUS			=0,004	
	S-SS			S-SS			=0,013	
	SS			SS				

Çizelge 4.13. TDP-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
TDP-MUS	MUS	=0,005	TDP-MUS	MUS	<0,001	TDP-MUS	MUS	=0,007
	T-MUS			T-MUS				
	T-MHB			T-MHB				
	MHB	MHB		<0,001				

Çizelge 4.14. T-KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
T-KDS	MUS	=0,040	T-KDS	MUS	<0,001	T-KDS	MUS	<0,001
	T-MUS			T-MUS			T-MUS	
	T-MHB			MHB			MHB	
	T-MHB	T-MHB						
	S-MHB	=0,045			S-MHB			
				SS	=0,010			

Çizelge 4.15. SS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
SS-MUS	MUS	<0,001	SS-MUS	MUS	<0,001	SS-MUS	MUS	<0,001
	MHB			MHB			MHB	
	T-MUS			T-MUS			T-MUS	
	T-MHB			T-MHB			T-MHB	
	SS			T-SS	=0,001			
	S-MHB			SS	<0,001			
	S-MUS			S-MHB				
	S-TDP							
	S-SS							
	T-SS							
	T-TDP		=0,005					

Çizelge 4.16. TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
TDP	MUS	<0,001	TDP	MUS	<0,001	TDP	MUS	<0,001
	MHB			MHB			MHB	
	T-MUS			T-MUS			T-MUS	
	T-MHB			T-MHB			T-MHB	
	S-MUS			S-MUS				
	S-MHB			S-MHB				
	S-TDP			S-TDP				
	T-TDP			=0,013				
	T-SS			=0,002				
	SS			<0,001				
	S-SS							

Çizelge 4.17. T₂₀-KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
T ₂₀ -KDS	MUS	<0,001	T ₂₀ -KDS	MUS	<0,001
	MHB			MHB	=0,001
	T-MUS			T-MUS	<0,001
	T-MHB			T-MHB	

Çizelge 4.18. SS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
S-SS	T-MUS	<0,001	S-SS	T-MUS	=0,003
	T-MHB			T-MHB	<0,001
	MUS	=0,001			
	MHB	=0,025			

Çizelge 4.19. S-KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk			<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
S-KDS	MUS	<0,001	S-KDS	MUS	=0,007
	T-MUS			T-MUS	<0,001
	T-MHB			T-MHB	
	MHB	=0,002			

Çizelge 4.20. S-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
S-MUS	T-MUS	=0,023
	T-MHB	=0,007
<i>C. albicans</i> 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P
S-MUS	T-MHB	=0,029

Çizelge 4.21. T-TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

C. albicans 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
T-TDP	T-MUS	=0,005
C. albicans 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P
T-TDP	T-MHB	=0,012

Çizelge 4.22. S-TDP ve T-SS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

C. albicans 60 suş koloniden GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
S-TDP	T-MUS	=0,002
	T-MHB	<0,001
C. albicans 60 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P
T-SS	T-MHB	=0,029

BACTEC maya (+) kan kültür örneklerine uygulanan doğrudan GT deneyleri sonucunda istatistiksel olarak GT oluşturma açısından saptanan anlamlı farklılıkları gösteren çizelgeler aşağıdaki gibidir.

Çizelge 4.23. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile doğrudan GT deneyinde KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

C. albicans 16 suş doğrudan GT deneyi 60. dk		
GrpA	GrpB	P
KDS	T-SS	<0,001
	MHB	
	S-MHB	
	T-MHB	
	T-TDP	
	T-KDS	
	S-SS	
	S-TDP	
	SS	=0,002

C. albicans 16 suş doğrudan GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
KDS	T-SS	<0,001
	MHB	
	T-MHB	
	S-MHB	

Çizelge 4.24. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile doğrudan GT deneyinde KDS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

C. albicans 16 suş doğrudan GT deneyi 60. dk		
GrpA	GrpB	P
KDS-MUS	T-SS	<0,001
	MHB	
	T-MHB	
	S-MHB	
	T-TDP	
	T-KDS	=0,002
	S-SS	=0,050

C. albicans 16 suş doğrudan GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
KDS-MUS	T-SS	=0,002
	MHB	
	T-MHB	=0,050

Çizelge 4.25. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile doğrudan GT deneylerinde TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

C. albicans 16 suş doğrudan GT deneyi 60. dk		
GrpA	GrpA	P
TDP	T-SS	<0,001
	MHB	
	T-MHB	
	S-MHB	
	T-TDP	
	T-KDS	
	S-SS	
	S-TDP	=0,004
	SS	=0,050

C. albicans 16 suş doğrudan GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
TDP	T-SS	<0,001
	MHB	
	T-MHB	
	S-MHB	

Çizelge 4.26. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile doğrudan GT deneylerinde MHB ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

C. albicans 16 suş doğrudan GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P
MHB	S-TDP	=0,009
	S-SS	
	S-KDS	
	KDS	
	T-KDS	
	SS	
	TDP	

Çizelge 4.27. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile doğrudan GT deneylerinde S-TDP, S-KDS, SS, S-SS, T-KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 16 suş doğrudan GT deneyi 75. dk		
GrpB	GrpA	P
S-TDP	T-SS	<0,001
	MHB	
	T-MHB	
	S-MHB	
S-KDS	T-SS	<0,001
	MHB	
	T-MHB	=0,004

SS	T-SS	<0,001
	MHB	
S-SS	T-MHB	=0,004
	T-SS	=0,029
MHB		
T-KDS	T-SS	=0,002
	MHB	
	T-MHB	=0,050

Maya (+) kan kültür örneklerinden, konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonu yapılan ve *C. albicans* tanısı konmuş olan 16 *C. albicans*'a uygulanan koloniden GT deneyi sonucunda istatistiksel olarak GT oluşturma açısından saptanan anlamlı farklılıkları gösteren çizelgeler aşağıdaki gibidir.

Çizelge 4.28. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde KDS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 60. dk		
GrpA	GrpB	P
KDS	MHB	<0,001
	T-MHB	
	S-MHB	
	SS	
	T-SS	
	S-SS	
	S-TDP	
	S-KDS	=0,029
	T-KDS	<0,001
	T-TDP	

<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
KDS	MHB	<0,001
	T-MHB	
	S-MHB	

Çizelge 4.29. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde KDS-MUS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
KDS-MUS	MHB	<0,001	KDS-MUS	MHB	<0,001
	T-MHB			T-MHB	
	S-MHB	=0,004		S-MHB	=0,004
	T-SS	<0,001		T-SS	<0,001
	S-SS				
	S-TDP	=0,004			
	T-TDP	<0,001			

Çizelge 4.30. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde TDP ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 60. dk			<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P	GrpA	GrpB	P
TDP	MHB	<0,001	TDP	MHB	<0,001
	T-MHB			T-MHB	
	S-MHB			S-MHB	
	S-TDP		=0,004		
	S-SS				
	SS	=0,004			
	T-SS	<0,001			
	T-TDP				
	T-KDS	=0,004			

Çizelge 4.31. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde S-TDP, S-KDS, T-KDS, SS, ve S-SS ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 75. dk		
GrpA	GrpB	P
S-TDP	T-SS	<0,001
	MHB	
	T-MHB	
	S-MHB	=0,004
S-KDS	T-SS	<0,001
	MHB	=0,050
	T-MHB	
T-KDS	T-SS	=0,009
SS	T-SS	=0,009
S-SS	T-SS	=0,009

Çizelge 4.32. BACTEC-*albicans* pozitif suşları ile koloniden GT deneylerinde T-MHB ile diğer DO'lar arasında GT oluşumu açısından anlamlı farklılıklar.

<i>C. albicans</i> 16 suş koloniden GT deneyi 90. dk		
GrpA	GrpB	P
T-MHB	SS	<0,001
	S-SS	=0,050
	TDP	<0,001
	S-TDP	
	T-TDP	=0,002
	KDS	<0,001
	S-KDS	
	T-KDS	
	KDS-MUS	

5. TARTIŞMA

Mantar hastalıkları, önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olarak insan sağlığındaki önemini korumaktadır. Bir yandan yüzeysel mikozlar ve allerjik mantar hastalıkları en az eskisi kadar sık görülmeye devam ederken, öte yandan, fırsatçı mikozlar, immun sistemi baskılanmış olguların artması ve tanı ve tedavideki sorunlar nedeniyle daha da önemli bir grup olarak karşımıza çıkmaktadır (60, 61).

İnsanlarda infeksiyon oluşturabilen ve en sık görülen fırsatçı patojen mantarlardan olan *Candida* türleri, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda invazif olmayan yüzeysel infeksiyonlardan, derin dokuları tutan sistemik infeksiyonlara kadar geniş hastalık spektrumuna sebep olurlar. Yüzeysel kandidoz ağız boşluğu, farinks, özofagus, barsaklar, mesane ve vajinayı kapsayan mukozalar, tırnak ve deriyi tutarken, derin kandidozun sıklıkla gözlendiği organlar; böbrekler, karaciğer, dalak, beyin, gözler ve kalptir. *Candida*'lar bu organları tutarak derin yerleşimli sistemik infeksiyon ve kandidemi gibi çeşitli infeksiyonlara neden olmaktadır (11, 62).

C. albicans ve non-*albicans* ayrımında konvansiyonel yöntemler; GT, klamidospore oluşumunun incelenmesi (MUTA veya safralı agar ile) ve ayrıca SDA'da koloni morfolojisi, kromojenik substrat içeren besiyerlerinde koloni rengi, hızlı asimilasyon ticari kitleri (API 20 C AUX, ATB ID 32 C) veya VITEK maya identifikasyon kartları ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır (3, 18, 19, 20, 21, 22).

Bu çalışmada *C. albicans* ve non-*albicans* ayrımı için koloniden GT deneyleri 21 farklı DO'da gerçekleştirilmiştir. Kan kültür örneklerinden doğrudan GT deneyleri ise koloniden GT deneylerinde başarılı bulunan 13 DO ile yapılmıştır. Daha sonra kan kültürlerinde doğrudan ve koloniden GT deneyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Gram boyama ile maya hücreleri saptanan kan kültür örneklerinden konvansiyonel yöntemlerle *C. albicans*'ın tanısı en erken 48, NAC'ların tür düzeyinde tanısı için 48-72 saatlik bir süreye gereksinim vardır. Bu nedenle kan kültür örneklerinde doğrudan GT deneyi yapılması ve mümkün olan en kısa sürede *C. albicans* ve non-*albicans* ayrımı yapılarak sonucun klinisyene derhal bildirilmesi hayati önem arz etmektedir (18).

Ülkemizde kandidemilerde *C. albicans* oranı %32-65 arasında değişmektedir (8). Genel olarak bakıldığında ikinci sırada bulunan tür *C. parapsilosis*'tir. *C. glabrata* ülkemizde genel olarak düşüktür. Ener (8) çalışmasında ülkemizde kandidemilerde tür dağılımına ilişkin bazı çalışmalara yer vermiştir. Buna göre *C. albicans* görülme oranı 1998'de Kayseri'de yapılan çalışmada %51,4, İzmir'de 1996-2000 yılları arasında yapılan çalışmada %31,8, 1998-1999 arasında yapılan çalışmada %60, 2000-2003 yılları arasında yapılan çalışmada %57,7, Ankara'da 1995-2000 yılları arasında yapılan bir çalışmada %42, 1996-1998 yılları arasında yapılan bir çalışmada %48,2, 1996-2000 yılları arasında yapılan bir çalışmada %65, Bursa'da 1996-2000 yılları arasında yapılan bir çalışmada ise %34 olarak bildirilmiştir.

Yücel ve Kantarcıoğlu (63) ülkemizde hastane kaynaklı kan dolaşım infeksiyonlarının %25'inde kandidemi tespit edildiğini ve etkenin yaklaşık %60'ının *C. albicans* olduğunu bildirmişlerdir.

Ener ve ark. (39) Ocak 1996-Aralık 2000 tarihleri arasında 285 hastada fungemi etkeni saptamışlardır. İzole edilen türler arasında %34'lük oranıyla *C. albicans* ilk sırada yer almıştır. Aynı çalışmada belirtildiğine göre 1998'de Kayseri'de yapılan çalışmada %51,4, 1996-2000'de İzmir'de yapılan çalışmada %31,8, 1996-1998'de Ankara'da yapılan çalışmada %48,2, 1998-1999 yılları arasında İzmir'de yapılan çalışmada ise %60 oranında *C. albicans* tespit edildiği belirtilmiştir.

Gürcüoğlu ve ark. (64) hastane kökenli kandidemi epidemiyolojisine yönelik yapmış oldukları çalışmada 1996-2007 yılları arasında hastanede yatan 392,724 hastanın 743'ünde kandidemi tespit ettiklerini, kandidemiye neden olan *Candida*'ların ilk sırada %45'ini *C. albicans*'ın, sonra sırasıyla %26'sını *C. parapsilosis*'in, %7'sini *C. tropicalis* ve *C. krusei*'nin, %3,5'ini ise *C. glabrata*'nın oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Hastanede yatan çocuk hastalarda Ocak 1991-Aralık 2001 yılları arasında gelişen fungemi sıklığını araştırmaya yönelik yapılan bir çalışmada, 1991-1996 yılları arasında 32 hastanın 16'sının (%50), 1997-2001 yılları arasında 65 hastanın 29'unun (%45) fungemi sebebiyle hayatını kaybettiği bildirilmiştir (65).

Doğru ve ark. (66)'nın 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 378 *Candida* cinsi maya arasında %85,2'lik görülme oranıyla *C. albicans* ilk sırada yer almıştır. *C. albicans*'ların 52 tanesi (%13,76) kan kültüründen izole edilmiştir.

Gürol ve ark. (67) onkoloji servislerinde yatmakta olan hastalardan izole edilen 19 *Candida* suşunun sekizini kan kültüründen izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Candan ve ark. (68) çocuk hastalıkları bölümünde malignite tanısı ile takip edilen ve kemoterapi alan 40 hastanın 79 klinik örneğinden 70 *Candida* cinsi maya tanımladıklarını, bu mayaların 25'ini kan kültüründen izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar, hastanede klinik tablosu en ağır seyreden, invazif girişimlerin yoğun olarak uygulandığı, parenteral antibiyotiklerin en çok kullanıldığı ve hastanede yatış süresi en fazla olan hastalardır. Akçay ve ark. (69) yoğun bakım ünitesinde yatan hastalara ait idrar örneklerinden 347 suş izole etmişler ve izole edilen suşlar arasında *Candida* spp.'nin %25'lik oranla ilk sırada yer aldığını bildirmişlerdir.

Hematolojik malignitesi olan hastalar, hastalığa ve uygulanan tedavilere bağlı olarak immun sistemi baskılanmış, ciddi infeksiyon riski ile karşı karşıya, tıbbi açıdan genel durumu bozuk ve birçok invazif girişim uygulanması gereken bir gruptur. Şahin ve ark. (43)'nın 2006 yılında hematolojik maligniteli nötropenik ateşli hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesine yönelik yapmış oldukları çalışmada %44,3 oranında *C. albicans*, %55,7 oranında ise NAC türlerinin izole edildiği bildirilmiştir.

Şahin ve ark (41)'nin yoğun bakımlarda nozokomiyal kan dolaşım infeksiyon etkenleri (NKDİ) ve bunların yıllara göre dağılımını belirlemeye yönelik çalışmasında ise 134 hastada NKDİ saptanmış ve bu hastalardan 174 mikroorganizma izole edilmiştir. İzole edilen 174 mikroorganizmanın 2004'te 2'si, 2005'te 10'u ve 2006'da 15'ini *Candida* spp. oluşturmuştur. Kandidemi etkenlerinin yıllara göre dağılımlarını ise şöyle bulmuşlardır: 2004'de izole edilen 2 *Candida* spp.'nin 1'i, 2005'de 10 *Candida* spp.'nin 3'ü, 2006'da ise 15 *Candida* spp.'nin 3'ü *C. albicans* olarak tanımlanmıştır.

Kremery ve ark. (44)'nin çalışmasında NAC türlerinin genel hasta popülasyonu arasındaki tüm kandidemilerde görülme oranının %35-65 arasında olduğu bildirilmiştir. Çalışmada NAC'ların hematolojik maligniteli hasta ve kemik iliği alıcılarında (%40-70), yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda ve cerrahi işlem uygulanan hastalarda (%35-55), çocuklarda (%1-35), HIV pozitif hastalarda (%0-33) oranında görüldüğü bildirilmiştir.

Doğrumanal ve ark. (6) çalışmalarında çeşitli klinik örneklerden %47,4 oranında *C. albicans*, %52,6 oranında da NAC izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Gürçüoğlu ve ark. (64) hastane kökenli kandidemi sıklığını belirlemeye yönelik çalışmalarında %45 oranında *C. albicans*, %55 oranında ise NAC izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmada NAC türleri arasında en sık *C. parapsilosis*'in izole edildiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde *C. parapsilosis* NAC'lar arasında en sık izole edilen tür olarak saptanmıştır.

Horn ve ark. (47). NAC türlerince oluşturulan kandideminin görülme sıklığını %54,4 olarak bildirirken, Akçam (49) çalışmasında 2003-2007 yılları arasında *C. albicans*'ın görülme oranının %38,3, NAC'ların görülme oranının ise %61,7 olduğunu bildirmiştir.

Dimopoulos ve ark. (70)'nın çalışmasında yoğun bakım ünitesindeki hastalardan %35,7 oranında *C. albicans*, %64,3 oranında ise NAC'ların izole edildiği bildirilmiştir.

Zer ve Balcı (51)'nin çalışmasında yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların 1060 klinik örneğinden 205 *Candida* cinsi maya (%19,33) izole edildiği, bu 205 suşun 24'ünün (%11,70) kan kültüründen elde edildiği ve bu suşların 8'ini (%33,33) *C. albicans*'ın, 16'sını (%66,66) ise NAC türlerinin oluşturduğu bildirilmiştir.

Anunnatsiri ve ark. (71) HIV ile infekte olmayan 142 yetişkin fungemili hastadan izole edilen 138 *Candida* cinsi mayanın 40'ını (%29) *C. parapsilosis*'in, 37'sini (%26,8) *C. albicans* ve *C. tropicalis*'in oluşturduğunu bildirmişlerdir.

NAC görülme oranının giderek arttığını bildiren çok sayıda çalışma olsa da tam tersi yönünde bildirim yapan çalışmalar da mevcuttur.

Özkan ve ark. (72) Haziran 2001-Mart 2002 tarihleri arasında, 0-18 yaş grubu 80 çocuk hastadan 80 *Candida* cinsi maya tanımladıklarını, bu mayaların 67'sinin *C. albicans* olduğunu ve 5 *Candida* cinsi mayayı da kan kültüründen izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Erben ve ark. (73) 7 yıllık dönemde (Ocak 2000-Aralık 2006) toplam 1103 hastada 1236 nozokomiyal üriner sistem infeksiyonu (NÜSİ) saptamışlardır. NÜSİ'li gruplarda en sık *E. coli*, *C. albicans* ve NAC izole ettiklerini, 7 yıllık dönemde toplam 1236 NÜSİ etkeni arasında 222 *C. albicans* ve 135 NAC tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Kaya ve ark. (74) 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada çeşitli klinik örneklerden 103 *Candida* suşunu klasik yöntemler ve VITEK 2 sistemi ile tanımladıklarını, çalışmaya aldıkları 103 suşun 64'ünü *C. albicans*'ın, 22'sini *C. glabrata*'nın, 6'sını *C. tropicalis*'in, 4'ünü *C. parapsilosis*'in, 3'ünü *C. dubliniensis*'in, 1'ini ise *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. norvegensis*, *C. lusitaniae*'nin oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Jung ve ark. (75) kan kültüründen izole ettikleri 639 *Candida* cinsine ait mayanın %38'ini *C. albicans*'ın, %62'sini ise NAC'ların (%26 *C. parapsilosis*, %20 *C. tropicalis*, %11 *C. glabrata* ve %5 diğer NAC'lar) oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada kan dolaşımından izole edilen tüm *Candida*'ların yaklaşık %60'ını NAC'ların oluşturduğu belirtilmiştir.

Solid organ alıcıları genel sağlık durumları ve cerrahi komplikasyonlar göz önüne alındığında invazif fungal infeksiyonlar açısından risk altında bulunurlar. İnvazif fungal infeksiyonlar, immun sistemi baskılanmış konakta önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmekte, bu infeksiyonlarda etken olan mantarların dağılımı ve görülme sıklığı yıllar içerisinde bir çok faktöre bağlı olarak değişime uğrayabilmektedir. Bu değişime yol açan etkenlerin başlıcaları arasında, tedavi ve profilaksi yaklaşımları ve konak faktörleri sayılabilir (76). Neofytos ve ark. (77)'nin solid organ transplant alıcılarında invazif fungal infeksiyonlarının epidemiyolojisine yönelik yapmış oldukları çalışmada %59'luk oranla en çok *Candida* türlerinin invazif fungal infeksiyonlara sebep olduğu belirtilmiştir.

Uyar ve ark. (78) klasik yöntemlerle 50 *Candida* suşunun 30'unu (%60) *C. albicans*, 7'sini (%14) *C. parapsilosis*, 6'sını (%12) *C. glabrata*, 3'ünü (%6) *C. krusei*, 2'sini (%4) *T. asahii*, 1'ini (%2) *C. kefyr*, 1'ini (%2) *Saccharomyces* cinsi olarak tanımlamışlardır. Sobezak'ın boya deneyi ile ise 45 (%90) suşun klasik yöntemlerle tanımlamada aynı sonucu verdiğini, 5 suşun ise Sobezak'ın boya deneyi ile tanımlanamadığını belirtmişlerdir. Çalışmada asimilasyon deneyleri ile mayaların tanımlanmasında ticari kit kullanımının pahalı olduğu belirtilmiştir. Sobezak'ın boya deneyi ile tanımlamanın ise ucuz, kısa sürede sonuç veren, yorumlaması kolay bir yöntem olduğu vurgulanmıştır.

GT oluşturan *Candida* türlerinden *C. albicans* ve *C. dubliniensis* ayırımında çeşitli besiyerlerinde klamidospore oluşturup oluşturmama durumuna göre ayırım

yapılabilmektedir. Bu amaçla Khan ve ark. (79) Sunflower Seed Agar içine kreatinin ve potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) ekleyerek modifiye ettikleri besiyerinde 25 *C. dubliniensis* suşunun tamamının bol klamidospore oluşturduğunu, 53 *C. albicans* kökeninin ise bu besiyerinde klamidospore oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Rimek ve ark. (80) çalışmalarında *C. albicans* ile *C. dubliniensis* ayrımını yapmak üzere Sabouraud Glukoz Agar (%2)'da 37°C'de 24-72 saatlik inkübasyon sonucunda saf olarak üreyen maya kolonisinden Mueller-Hinton Agara (MHA) çizim yapmışlar ve 37°C'de 2 saat inkübe etmişlerdir. İnkübasyon sonunda 632 *C. albicans*'ın 578'inin ve 10 *C. dubliniensis*'in 6'sının GT oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada MHA'nın GT deneyinde kullanılabilir uygun bir besiyeri olduğu, insan serumu ile yapılanlara göre daha kolay ve güvenli olduğu vurgulanmıştır.

Rutin çalışılan kültürde karışık *Candida* türlerinin tanımlanmasında kullanılan kromojenik besiyerleri bulunmaktadır. Kromojenik substratlar kromoforlardan veya floroforlardan oluşur. Kromojenik substratlar besiyerinde bulunan karbonhidratlara, aminoasitlere veya fosfatlara tutturulmuştur. Hedef mikroorganizma kendine özgü enzimlerle bu substratları kullandığı zaman kromoforlar veya floroforlar mikroorganizma içinde serbest kalır ve mikroorganizma kolonileri renkli gözlemlenir (81, 82, 83, 84).

Sivakumar ve ark. (85) yaygın *Candida* türlerinin ayrımında CHROMagar'ın kullanımına yönelik yapmış oldukları çalışmada orofarenjiyal kandidemisi olan HIV'li hastalardan konvansiyonel yöntemlerle (şeker asimilasyon ve fermentasyon, GT ve klamidospore oluşumu) 135 *Candida* cinsi maya izole ettiklerini, izole edilen mayaların 41'ini *C. albicans*'ın, 40'ını *C. krusei*'nin, 24'ünü *C. guilliermondii*'nin, 16'sını *C. glabrata*'nın, 8'ini *C. tropicalis*'in, 4'ünü *C. parapsilosis*'in 2'sini *C. kefyr*'in oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında kontrol amaçlı *C. albicans* ATCC 90028, *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. tropicalis* ATCC 13803 standart suşları kullanılmıştır. Araştırmacılar standart suşları ve 135 *Candida* izolatını CHROMagar *Candida* besiyerine ektiklerini, tüm *C. albicans* ve standart *C. albicans* suşlarının açık yeşil koloni oluşturduğunu, 8 *C. tropicalis*'in sadece 5'inin karakteristik mat, mavi renkli, kalan 3 koloninin ise açık yeşil renkli koloni oluşturduğunu belirtmişlerdir. Çalışma 87 ilave *C. tropicalis* ile sürdürülmüş olup suşların 85'i mavi, 2'si yeşilimsi koloni oluşturmuştur. Çalışmada kullanılan *C. krusei* suşları pembe, *C. guilliermondii*, *C.*

kefyr, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* türleri pembe-mor renkli koloniler oluşturmuştur. Çalışmanın sonucunda CHROMagar Candida besiyerinin *C. albicans* ve *C. krusei* türlerinin ön tanısında kullanılabileceği diğer tüm *Candida* türlerinin koloni morfolojisine göre ayrımında CHROMagar Candida besiyerinin tek kriter olarak kullanılamayacağı vurgulanmıştır.

Otağ ve ark. (20)'nin çalışmasında 471 hastaya ait 811 örnekten izole edilen 872 maya suşu konvansiyonel ve gerektiğinde API ID 32 C hızlı asimilasyon kitleriyle tür düzeyinde tanımlanmıştır. Tüm örnek gruplarında *C. albicans*'ın, kan örneklerinde ise *C. parapsilosis*'in (%51,86) en sık izole edilen türler olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmada da toplam 37 hastaya ait 105 kan kültür örneğinden izole edilen 105 maya suşu tür düzeyinde tanımlanmış ve en sık *C. parapsilosis* (%79,05) izole edilmiştir.

Sağlık çalışanlarının ellerinde maya taşıyıcılığıyla yapılmış çalışmalarda en sık *C. parapsilosis*'in izole edildiği bildirilmektedir (86, 87).

Otağ ve ark. (88)'nin BACTEC maya (+) şişelerden hızlı *C. albicans* tanısına yönelik çalışmasında önceden tanımlanmış *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* suşlarının SF deki 0,5 McFarland yoğunluktaki süspansiyonlarından BACTEC kan kültür şişelerine ekimleri yapılmış ve otomatize kan kültür sistemine yerleştirilmiştir. Pozitif sinyalle inkübatörden çıkartılan şişelerden doğrudan MUTA yüzeyine bir damla örnek bırakıldıktan sonra lamel ile kapatılıp 30-35°C'de inkübe edilmiştir. Klamidospor ve hif oluşumunun saptanması amacıyla yarım saat arayla mikroskopik olarak incelenmiştir. Çalışmada *C. albicans* inoküle edilmiş şişelerden yapılan damlatma ekimlerde birinci saatten itibaren klamidospor ve yalancı hif oluşumlarının gözlemlendiği bildirilmiştir.

Pfaller ve ark. (89)'nin 1997-1999 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Latin Amerika ve avrupayı kapsayan 71 merkezde yaptıkları bir araştırmada 1184 kandidemi etkeninin %55'inin *C. albicans*, %15'inin NAC gruplarından *C. glabrata* ve *C. parapsilosis*, %9'unun *C. tropicalis*'ten oluştuğu tespit edilmiştir. NAC'lar içinde en sık *C. parapsilosis*'in görüldüğü bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde %45 NAC ve en sık *C. glabrata*'nın Kanada'da %40 NAC ve en sık *C. parapsilosis*'in, Latin Amerika'da %65 NAC ve en sık *C. parapsilosis*'in görüldüğü belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca Türkiye'de iki merkezden izole edilen *C. albicans*'ın görülme oranlarının sırasıyla %73 ve 74 olduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada yıllık ortalama 200,000 bakteriyemi ve fungemi vakasının meydana geldiği ve bu vakalarda ölüm oranının %20 ile %50 arasında olduğu belirtilmiştir. Fungal kan kültürlerde 1972-1992 yılları arasında 889 hastaya ait 3038 pozitif kültürde *C. albicans*, 274 hastaya ait 682 pozitif kültürde *C. tropicalis*, 261 hastaya ait 666 pozitif kültürde *C. glabrata* ve 302 hastaya ait 612 pozitif kültürde *C. parapsilosis* izole edildiği bildirilmiştir (90).

Çalışmamızın ilk aşamasında 42 klinik örnek, 16 hemokültür ve 2 standart *C. albicans* suşunun GT (+)'lik oranları 21 farklı DO'da denenmiştir.

KDS-MUS 45. dk'da %53,33, 60. dk'da %90 oranında GT (+)'liği veren en başarılı DO olarak saptanmıştır. TDP ve KDS ise 60. dk'da itibaren %60'ın üzerinde GT (+)'lik veren DO'ları olarak belirlenmiştir.

MUS'a %25 TDP ve KDS ilavesinde GT oluşturmada başarı oranının arttığı gözlenmiştir. Sabouraud Dekstroz, Mueller-Hinton ve mısır unlu sıvı besiyerleri ile biyolojik ürünler olan SS, TDP ve KDS'ye %10 Tween80 veya safra ilavesinde GT oluşturmada başarı oranının artmadığı saptanmıştır.

Nakamoto (17)'nin %75'lik MUS DO'da 60. dk'da elde ettiği GT (+)'lik %82,4 iken çalışmamızda aynı DO'ya %25 KDS ekleyerek %90 oranında GT (+)'liği saptadık. Çalışmamızda MUS'a %25 KDS eklenmesi %7,6 oranında başarı sağlanmasına neden olmuştur.

Çalışmamızda **Çizelge 4.4.**'te yer alan 1, 2, 6, 7, 8 ve 20 sıra nolu DO'larda 60. dk'da GT (+)'lik oranları daha düşük seyrettiğinden, 9, 10 ve 11 sıra nolu DO ise kendi aralarında 60. dk'da GT oluşumları açısından kıyaslandığında 9 ve 10 sıra nolu DO'ların 11'e göre daha başarısız olmasından dolayı kan kültür örnekleri ile yapılan doğrudan GT deneylerine dahil edilmemiştir.

SDB ve MHB DO'larının hem tek başlarına, hem %10 Tween80 ve safra ilavesinde GT oluşturmada başarılı olmadıkları görülmüştür. Aynı durum biyolojik ürünler olan SS, TDP ve KDS'ye %10 Tween80 veya safra ilavesinde de saptanmıştır. MUS'a %25 TDP ve KDS ilavesinde ise GT oluşturmada başarı oranının arttığı gözlenmiştir.

Hilmioğlu ve ark. (57) 2007'de yapmış oldukları çalışmada farklı inkübasyon süreleri ile 12 farklı sıvı besiyerinin *Candida* türlerinde GT oluşumu üzerine olan etkilerini kıyaslamışlardır. Bu amaçla 193 *Candida* cinsi maya (157'si *C. albicans*,

36'sı *C. tropicalis*) suşunu 7 biyolojik ürün (insan, keçi, koyun, tavşan domuz, at, fetal dana serumu) ve 5 farklı besiyerinde (triptik soy, pepton, Sabouraud Glukoz, beyin kalp infüzyon sıvı besiyerleri, RPMI), 37°C'de 2, 2,5, 3 ve 4 saatlik inkübasyonda gerçekleştirmişlerdir. En çok GT oluşumunu sırasıyla insan serumu (%98) ve tavşan serumunda (%89,8) tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca *C. tropicalis*'in 2 saatlik inkübasyon sonunda GT oluşturmadığı ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmada olduğu gibi 2 saatlik inkübasyon sonunda *C. tropicalis*'in GT oluşturmadığı saptanmıştır.

Çalışmamızın ilk aşamasında 42 klinik örnek, 16 hemokültür ve 2 standart *C. albicans* suşunun GT (+)'lik oranları 21 DO'da denenmiştir. Yirmi bir DO'nun 60. dk'daki göstermiş olduğu GT (+)'lik oranlarına bakılarak çalışmamızın 2. aşaması olan BACTEC maya (+) şişelerden doğrudan GT deneylerinde kullanılmak üzere DO sayısı 13'e azaltılmıştır.

Doğrudan GT deneylerinde 60. dk'da sırasıyla KDS, TDP ve KDS-MUS en başarılı DO'ları olarak saptanmıştır. Bunlara ek olarak 75. dk'da sırasıyla S-TDP, SS, S-KDS ve T-KDS DO'ları başarılı bulunmuştur.

Doğrudan GT deneylerinde 60. dk'da %10 safra veya Tween80 ilaveli veya ilavesiz MHB (biyolojik ürün olmayan) DO'larında GT (+)'liği saptanmamıştır. Biyolojik ürünler (SS, KDS, TDP) içeren DO'larında ise 60. dk'da GT (+)'likler saptanmıştır. Bu ürünlerdeki başarı sırasına bakıldığında, koloniden GT deneylerinde olduğu gibi, sırasıyla KDS, TDP ve en son sırada da SS'in yer aldığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda raf ömrü dolmuş TDP kullanılmıştır. Böylece hem infeksiyon etkenlerinin kontaminasyon riski elimine edilmiş hem de kan ürünü kaybı önlenmiştir. KDS; Anti HCV, Anti HIV, HBs Ag, VDRL pozitif reaksiyon veren donör serumlarından ayıklandıktan sonra havuzlanmıştır. SS'de ise infeksiyon etkeni riski vardır. Bu nedenlerden dolayı *C. albicans* ve non-*albicans* ayırımında GT oluşumunun incelenmesi amacıyla KDS ve TDP kullanımı SS kullanımından daha güvenli olup bünyesinde kan merkezi bulunan hastanelerden temini daha kolaydır.

Serumun *in vitro* ortamda dermatofitlerin üremelerini inhibe ettiği oldukça uzun yıllar önce gösterilmiş ve serumda dermatofitleri inhibe eden aktiviteden sorumlu maddelere serum inhibitör faktör (SİF) ismi verilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalara göre, genel olarak SİF her serumda bulunur ve fungistatiktir (91). Kaya ve

ark. (91) onikomikozlu hasta popülasyonunda SİF araştırdıklarını ve bu hastaların serumlarında SİF etkisi tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri bulgular çerçevesinde onikomikozlu hastaların serumlarında SİF bulunmadığı yönünde değerlendirilebileceğini, çoğu insanın hayatı boyunca dermatofitlere maruz kalırken, sadece bazılarında gelişen kronik dermatofit olan onikomikozun, bu kişilerde SİF eksikliği sebebi ile oluştuğu hipotezini ileri sürmüşlerdir.

İnsan serumunun patojenik mayaların üremelerinde inhibisyon etkisi gösterdiğine yönelik çalışmalar mevcuttur. Frank ve ark. (92) kan örneklerinin göbek bağı ve yaşamlarının ilk 8-10 haftasında olan infantlardan alınması ile inhibitör aktivitenin büyük oranda azaltıldığını bildirmişlerdir. Çalışmada normal yetişkin serumunun *C. albicans*'ın *in vitro* üretilmesinde belirgin bir inhibe etme kapasitesinin olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar akut kan hastalığı olan hastalarda inhibitör kompleksinin aktivitesinde veya konsantrasyonunda belirgin azalmanın olduğunu, ancak sistemik mikozlu, kütanöz kandidozlu, diyabetli, karsinomalı ve lupus eritematozuslu hastaların serumlarında böyle bir azalmanın olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada 12 gün boyunca oral tetrasiklin alan hastaların serumlarında *C. albicans*'ın üremesini inhibe edici bir etkinin olmadığı bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca NAC türlerinin normal serumda üremelerinin ciddi bir biçimde baskılandığı, *C. albicans*'ın ise serumda en az inhibisyona uğradığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada belirtildiği üzere farklı nitrojen kaynaklarının, artmış dekstrozu ve vitamin konsantrasyonlarının kullanımının serumun inhibitör aktivitesini önemli oranda azaltılmasında başarısız olduğu vurgulanmıştır.

Kim ve ark. (93) 105'i *C. albicans* 198 *Candida* cinsi maya ile yapmış oldukları çalışmada tavşan serumu ve YEPD'de (Yeast extract, pepton, dekstrozu,) farklı sıcaklıklarda (30, 35, 37, 39, 42 ve 45°C) GT oluşumlarını değerlendirmişlerdir. Tavşan serumunda 37°C'de 2 saatlik inkübasyon sonunda *C. albicans*'ın %60'tan fazlasının GT oluşturduğunu, YEPD'de 39°C'de 30. dk'da GT oluşumlarının gözlenmeye başladığını ve 1 saatlik inkübasyon sonunda 39°C'de *C. albicans*'ın %60'tan fazlasının GT oluşturduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada YEPD ile yapılan GT deneyinde 30, 35, 37°C'de GT (+)'liğin saptanılmadığı belirtilmiştir. Tavşan serumunda 37°C'de 2 saatlik inkübasyon sonunda 105 *C. albicans*'ın 103'ü, kalan 93 *Candida* türlerinden ise 28'i GT oluştururken YEPD'de 39°C'de 2 saatlik inkübasyon sonunda 105 *C. albicans*'ın

105'i GT oluşturmuş diğer *Candida* türleri GT oluşturmamıştır. Araştırmacılar çalışmalarında YEPD'de 39°C'de 2 saatlik inkübasyon sonunda sadece *C. albicans*'ın GT oluşturduğunu diğer *Candida* türlerinin oluşturmadığını, bu nedenle *C. albicans* ve non-*albicans* ayırımının 39°C'de YEPD ile yapılmasının hızlı ve uygun bir yöntem olacağını vurgulamışlardır.

Terlecka ve ark. (94) doğrudan BacTAlert kan kültür şişelerinden *C. albicans* ve non-*albicans* ayırımı için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada otomatize kan kültür sisteminde pozitif sinyalden sonra Gram boyama ile maya hücreleri saptanan 31 kan kültür şişesi örneğine TDP ile 35-37°C'de 2 saatlik inkübasyon şeklinde doğrudan GT deneyi uygulamışlardır. Kan kültür örneklerinden konvansiyonel yöntemlerle 13 *C. albicans* olarak adlandırılan suşların doğrudan GT deneyi ile 12'sini GT (+) olarak tespit etmişlerdir. Koloniden GT deneyinde 13 *C. albicans* izolatının 1'ini GT(-) olarak tespit etmişler ve bu izolatın GT oluşturmayan *C. albicans* olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada kan kültür şişelerinden doğrudan GT deneyinin hızlı sonuç veren (24-48 saati bulan rutin kültür sonuçlarına göre 3 saatin altında bir sürede sonuç alındığını) pratik, ucuz ve basit bir yöntem olduğunu, uygun antifungal tedavisine kültür sonucundan daha kısa sürede başlanmasına imkan sağladığı vurgulanmıştır. Bu çalışmada GT sonucuna 2 saat sonra bakılmıştır. Bizim çalışmamızda inkübasyondan itibaren her 15 dk'da bir GT oluşumları değerlendirilmiştir. Toplam 105 kan kültür örneğinin 16'sı konvansiyonel yöntemlerle *C. albicans* olarak tanımlanmış ve bu 16 kan kültür örneğine pozitif sinyalden sonra Gram boyama ile maya (+) saptanır saptanmaz uygulanan doğrudan GT deneyinde 45. dk'dan itibaren GT (+)'lik görülmeye başlanmıştır. Çalışmamızda 60. dk'da KDS'de 16 *C. albicans* suşunun 15'i (%93,75), TDP'de 14'ü (%87,50) ve KDS-MUS DO'da 12'si (%75,00) GT (+) olarak saptanmıştır. Çalışmamızın 60. dk'sındaki GT deneyi sonuçlarına bakıldığında KDS ile %93,75 GT (+)'lik oranı saptanmıştır. Çalışmamızın, Terlecka ve ark. (94)'nın, GT sonuçlarını 2 saatlik süre sonunda değerlendirmiş olmaları göz önüne alındığında erken GT pozitifliğinin saptanmasında zaman açısından %50'lik bir avantaj sağladığı görülmektedir. Çalışmamızda kan kültür örnekleri ile doğrudan GT deneylerinde KDS'nin TDP'den daha başarılı olduğu gözlenmiştir.

Harrington ve ark. (95) doğrudan kan kültürlerinden yapılan Gram boyama ile *C. albicans* ve non-*albicans* ayırımı yapmaya yönelik yapmış oldukları çalışmada 60

ardışık kan kültür şişesinden BACTEC 9240 sistemi pozitif sinyali verdikten sonra Gram boyama ve kültür yapmışlar. Gram boyama sonucunda görülen maya hücreleri morfolojik değişikliklerine göre değerlendirilmiş, bir ya da daha fazla tomurcuklanan salkım içeren, dallanmış, uzamış ve üst üste gelmiş psödohif içeren maya *C. albicans* olarak tanımlanmıştır.

Doymaz ve ark. (96) maya pozitif kan kültür örneklerinde Gram boyamayla kümelenmiş psödohif saptanmasına yönelik yapmış oldukları çalışmada maya pozitif 78 kan kültür örneğinden 31'i çeşitli mikolojik testlerle (MUTA, CHROMAgar Candida, GT, PNA FISH, Vitek 2 YBC) *C. albicans* olarak tanımlanmıştır. Çalışmada 31 *C. albicans*'ın 29'unun doğrudan Gram boyalı örneklerinde psödohif saptanırken, 2'sinde saptanmamıştır. Diğer 47 maya (+) kan kültür örneğinin Gram boyama sonucunda yapılan incelenmesinde ise birinde psödohif gözlenmiş, psödohif gözlenen bu örnek yapılan mikolojik testler sonucunda *C. tropicalis* olarak saptanmıştır. Araştırmacılar çalışmalarında maya pozitif kan kültür şişelerinden Gram boyama ile psödohif araştırılmasının *C. albicans*'ın hızlı ön tanısında kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Sheppard ve ark. (97) maya pozitif kan kültür şişelerinden *C. albicans*'ın doğrudan identifikasyonunda germ tüp testinin yararlığına yönelik yapmış oldukları çalışmada Gram boyama ile 67 maya pozitif kan kültür şişesinden 31'ini *C. albicans* olarak saptamışlardır. Maya pozitif kan kültür şişelerinde doğrudan ve SDA'daki sub kültürlerdeki üremiş koloniden GT deneyi yapmışlardır. Çalışmada doğrudan GT deneyini tavşan serumu ile koloniden GT deneyini ise tavşan plazması ile 37°C'de 3 saat inkübe ederek gerçekleştirmişlerdir. İnkübasyon sonunda, doğrudan GT deneyinde 31 *C. albicans*'ın 27'sinin, koloniden GT deneyinde ise 31 *C. albicans*'ın tamamının GT oluşturduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında doğrudan GT deneyinin *C. albicans*'ın hızlı ön tanısında kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Bizim çalışmamızda da Gram boyama ile maya saptanan 105 kan kültür örneğine doğrudan GT deneyi uygulandı. Bu 105 kan kültür örneğinden konvansiyonel yöntemlerle identifikasyon yapıldığında 16 *C. albicans* suşu saptandı. Bu örneklerle doğrudan GT deneyi uygulandığında 16 *C. albicans* suşunun tamamı 75. dk'da KDS, TDP ve %10 safralı TDP'de GT (+) saptandı. Koloniden GT deneyi uygulanan 16 *C. albicans* suşunun tamamı yine 75. dk'da KDS ve TDP'de GT (+) saptandı.

Yapmış olduğumuz çalışmada *Candida albicans* ve non-*albicans* türlerinin konvansiyonel yöntemlerle ayırımında ilk başvuru olan hızlı test olan GT deneyinde pozitif reaksiyon süresinin azaltılmasına yönelik çeşitli deney ortamları hazırlandı. Bu deney ortamlarında sub kültürü yapılan *C. albicans*, *C. dubliniensis* ve *C. tropicalis* ile koloniden GT deneyleri yapıldı. Hazırlanan deney ortamlarında en kısa pozitif reaksiyon süresi 45. dk olarak tespit edildi ve bu sürede GT oluşturmada en başarılı deney ortamları KDS-MUS, KDS ve TDP olarak saptandı. Maya pozitif kan kültür şişelerinden alınan örneklerle GT oluşturmada başarılı bulunan deney ortamlarında doğrudan GT deneyleri yapıldığında benzer sonuçların elde edildiği gözlemlendi.

Kan donör serumlu mısırınlu sıvı besiyeri (1 kısım kan donör serumu+3 kısım mısırınlu sıvı besiyeri) 45. dk'da %53,33, 60. dk'da %90 oranında, taze donmuş plazma ve kan donör serumu ise 60. dk'dan itibaren %60'ın üzerinde GT pozitiflik veren deney ortamları olarak belirlendi.

Mısırınlu sıvı besiyerine %25 taze donmuş plazma ve kan donör serumu ilavesinde GT oluşturmada başarı oranının arttığı gözlemlendi. Sabouraud Dekstroz, Mueller-Hinton ve mısırınlu sıvı besiyerleri ile biyolojik ürünler olan seroloji serumu, taze donmuş plazma ve kan donör serumuna %10 Tween80 veya safra ilavesinde GT oluşturmada başarı oranının artmadığı saptandı.

BACTEC maya pozitif kan kültür şişelerinden Gram boyama ile birlikte KDS'de GT oluşum sürelerinin birlikte değerlendirileceği çalışmanın yapılması halinde öncelikli olarak *C. albicans* ayırımında daha da hızlı tanıya gidilebileceği olanaklı gözükmektedir.

Hazırladığımız DO'larında insan kanı serumu ve plazması gibi biyolojik ürünlerin özelliklerinden bahsederek diğer literatürlerde rastlanmayan bir konuya değinmiş olduk. Bünyesinde kan merkezi ya da istasyonu barındıran hastanelerde mikrobiyoloji laboratuvarlarının kolay erişebileceği bu ürünlerle mikolojik test ortamlarının hazırlanması maliyet ve iş riskini düşürmesi bakımından önemlidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Fungemi etkeni *C. albicans* ve non-*albicans* ayrımında kullanılan GT deney süresinin azaltılmasına yönelik yapmış olduğumuz çalışmada 21 farklı deney ortamı çalışılmış, bu deney ortamlarının hangisinde en erken GT pozitif verdiği araştırılmış ve deney ortamlarında GT oluşturma açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı incelenmiştir.

Çalışmamız, ülkemizde ve dünyada yapılan benzer çalışmalardan hızlı GT oluşumunun saptanmasında 15'er dk'lık periyotlarla incelenmesi bakımından ayrılmaktadır. Çalışmamızda daha önce hiç denenmeyen bir deney ortam olan KDS-MUS ile GT deneyleri yapılmış ve GT deneylerinde 37°C'de 1 saatlik inkübasyon sonunda 60 *C. albicans*'ın 54'ü (%90) GT (+) olarak saptanmıştır. *C. albicans* ve non-*albicans* ayrımında en erken GT oluşum süresi 45. dk olarak saptanırken en başarılı deney ortamı KDS-MUS olmuştur.

Çalışmamızda GT oluşturmada KDS ve TDP kullanımının SS'e göre oldukça hızlı sonuç verdiği tespit edilmiştir. SS ile yapılan GT deneyinde 1 saatlik inkübasyon sonunda 60 *C. albicans*'ın 8'i (%13,33) GT (+) iken KDS ile yapılan GT deneyinde 36'sı (%60,00), TDP ile yapılan GT deneyinde 43'ü (%71,67) GT (+) olarak saptanmıştır.

Yapılan deneyler sonucunda TDP ve KDS'nin SS'ten GT oluşturma açısından daha başarılı olduğu, bu başarının, TDP'nin havuzlanmamış tek donör plazması olmasına, KDS'nin havuzlanarak kullanılsa bile SİM aktivitesinin veya konsantrasyonunun akut kan hastalıkları olan kişilere göre daha az bulunuyor olmasına, havuzlanmış SS'te kullanılan ilaçların metabolik atıklarının bulunmasına veya geçirilen/geçirilmekte olan hastalığa bağlı olarak çeşitli kemoterapötik ajanların bulunmasına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

KDS'nin, bünyesinde kan merkezi bulunan hastanelerden kolaylıkla temin edilebilir olmasından, GT oluşturmada erken sonuç vermesinden ve GT deneylerinde kullanımının daha güvenli olmasından dolayı *C. albicans* ve non-*albicans*'ın GT ile ayrımında kullanımının SS'e göre daha avantajlıdır.

Çalışmamızda sığır safrası ile yapılan GT deneylerinde başarı oranı Tween80 ile yapılanlarla hemen hemen aynı sonuçları vermiştir. Sığır safrasının büyük şehirlerde

mezbahalardan kolaylıkla temin edilebilir olmasından ve aseptik filtrasyon ünitesi ile kolayca steril edilebilir olmasından dolayı ticari bir ürün olan Tween80 yerine sığır safrası kullanımının maliyeti düşük olacaktır.

Fungemi etkeni *Candida* türlerinin tanımlanmasında laboratuvar iş akışında GT, MUTA, API identifikasyon panelleri sırası izlendiği takdirde, pozitif sinyal veren ve Gram boyamayla maya hücresi saptanan şişeden ekim yapılan ilk gün petrisi SDA'da üreyen koloninin saf kültür olduğu varsayıldığında *C. albicans* suşları en erken bir gece sonra tanımlanabilmektedir. Bu nedenle pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden Gram boyamayla maya hücreleri saptandıktan sonra KDS-MUS, KDS veya TDP ile doğrudan GT deneyinin uygulanması ve inokülasyondan sonraki ilk yarım saatten itibaren mikroskopik inceleme yapmak erken GT oluşumunu saptamada önemli bir kriter olacak, laboratuvar iş yükünü ve maliyeti düşürecek, klinisyenlere antifungal seçimini hızla yaptırarak hasta mortalite ve morbiditesini düşürecektir.

7. KAYNAKLAR

1. **Yücel A.** Tıp mikolojisinin dünü ve bugünü. *Cerrahpaşa Journal of Medicine*, **1999**;30(2):191-198.
2. **Töre O.** Genel Mikoloji. In: Kılıçturgay K. (Ed.) *Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji*. İstanbul: Güneş&Nobel Tıp Kitabevleri, **1996**:229-237.
3. **Tümbay E.** *Candida* Türleri. In: Ustaçelebi Ş. (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**:1081-1086.
4. **Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M.** *Mikrobiyoloji 2000*. 1. Baskı, İzmir: Asya Tıp Tayıncılık, **1998**:382-386.
5. **Kayser HF, Bienz AK, Eckert JE, Zinkernagel MR.** *Tıbbi Mikrobiyoloji*. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, **2002**:367-375.
6. **Doğrumanal F, Aktaş AE, Tuncel E, Ayyıldız A, Uslu H, Aktaş O.** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri mikrobiyoloji laboratuvarlarında klinik örneklerden izole edilen maya türleri. *İnfeksiyon Dergisi*, **2002**;16(2):205-210.
7. **D'antonio D, Violante B, Mazzoni A, Bonfini T, Capuani AS, D'aloia F, Schioppa F, Romano F.** A nosocomial cluster of *Candida inconspicua* infections in patients with hematological malignancies. *Journal of Clinical Microbiology*, **1998**;36(3):792-795.
8. **Ener B.** *Candida* infeksiyonlarında epidemiyoloji ve laboratuvar tanı. *Ankem Dergisi*, **2008**;22(Ek 2):264-269.
9. **Maertens J, Vrebos M, Boogaerts M.** Assessing risk factors for systemic fungal infections. *European Journal of Cancer Care*, **2001**:10:56-62.
10. **İnci R, Hilmioglu S.** Nozokomiyal fungal infeksiyonlara yaklaşım, *Klinik Dergisi*, Cilt 1 (13), Özel Sayı, **2000**:28-31.
11. **Fridkin SK, Jarvis WR.** Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clinical Microbiology Review*, **1996**;9:499-511.
12. **Rueping MJGT, Vehreschild JJ, Cornely OA.** Invasive Candidiasis and Candidemia: from current opinions to future perspectives, **2009**;DOI 10.1517/13543780902911440.

13. **Haykir A, Gürbüz Y, Tütüncü EE, Uslu M, Şencan İ.** Hastanemizde görülen kandidemi olgularının değerlendirilmesi. *Ankem Dergisi*, **2009**;23(Ek 1):46.
14. **Yücel A, Kantarcıoğlu AS.** *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler. *Cerrahpaşa Journal of Medicine*, **1999**;30(3):236-246.
15. **Mosaïd AA, Sullivan D, Salkın FI, Shanley D, Coleman DC.** Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Staib Agar and Caffeic Acid-Ferric Citrate Agar, *Journal of Clinical Microbiology*, **2001**:323-327.
16. **Ener B.** Nadir Görülen Fırsatçı Mikozlar. In: Ustaçelebi Ş. (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**:1105-1108.
17. **Nakamoto S.** Germ tube formation of *Candida albicans* in corn meal broth using the non-slip slide glass incubation method. *Yonago Acta Medica*, **1998**;41:65-72.
18. **Otağ F, Aslan G, Şen S, Emekdaş G.** Fungemi etkeni *Candida* türlerinin hızlı tanısında CHROMAgar *Candida* besiyerinin kullanımı. *Türk mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **2006**;36(4):200-204.
19. **Ellepola ANB, Morrison CJ.** Laboratory diagnosis of invasive Candidiasis. *Journal of Microbiology*, **2005**;43(Special issue, No. S):65-84.
20. **Otağ F, Aslan G, Şen S, Özturhan H, Emekdaş G.** 2003-2005 süresinde klinik örneklerden izole edilen maya türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, **2005**;19(4):435-443.
21. **Yıldırım ŞT.** Mantar İnfeksiyonlarında Laboratuvar Tanı. In: Ustaçelebi Ş. (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**:1129-1144.
22. **Campanha NH, Neppelenbroek KH, Spolidorio DMP, Spolidorio LC, Pavarina AC.** Phenotypic methods and commercial systems for the discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. *Oral Disease*, **2005**;11:392-398.
23. **İnci R.** Mantarların Yapıları, Üreme Özellikleri ve Sınıflanması. In: Ustaçelebi Ş. (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**:1015-1021.
24. **Çörekcioglu N, Sancak B.** Mantarların Genel Özellikleri ve Tanı Yöntemleri. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds.) *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar*. 3. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **2008**:2394-2420.
25. **Özmay AY.** Adana'daki ev dışı (outdoor) fungusların izolasyonu, identifikasyonu, mevsimsel dağılımı ve alerjik hastalıklarla ilişkilendirilmesi. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2007**.

26. **Arda M.** Mantarlarda büyüme. Erişim: <http://www.mikrobiyoloji.org/dokgoster.asp?dosya=110013500>. Erişim tarihi: 05.06.2010.
27. **Arda M.** Mikroorganizmaların klasifikasyonu ve isimlendirilmesi. <http://www.mikrobiyoloji.org/dokgoster.asp?dosya=110010200#04>. Erişim tarihi: 25.05.2010.
28. **Salkın IF, Land GA, Hurd NJ, Goldson PR, McGinnis MR.** Evaluation of yeast ident and uni-yeast tek yeast identification systems. *Journal of Clinical Microbiology*, **1987**;25(4):624-627.
29. **Arıkan S, Darka O, Haşcelik G, Günalp A.** *Candida dubliniensis* suşlarının sıcaklık tolerans testi, morfolojik özellikler ve moleküler yöntemlerle tanımlanması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, **2003**;37:49-57.
30. **Larone HD.** *Medically Important Fungi*. 4th. Ed., Washington, American Society for Microbiology, ASM press **2002**.
31. **Hata DJ, Hall L, Fothergill W, Larone DH, Wengenack NL.** Multicenter evaluation of the new VITEC 2 advanced colorimetric yeast identification card. *Journal of Clinical Microbiology*, **2007**;45(4):1087-1092.
32. **Alves SH, Milan EP, Ana PLS, Oliveira LO, Santurio JM, Colombo AL.** Hypertonic Sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2002**;43:85-86.
33. **Loreto ES, Scheid LA, NogueiraCW, Zeni G, Saturio JM, Alves SH.** *Candida dubliniensis*: Epidemiology and phenotypic methods for identification. *Mycopathologia*, **2010**;169:431-443.
34. **Yeğenoğlu Y.** İnvaziv mantar hastalıklarının mikolojik tanısı. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, **2007**;70:23-28.
35. **Börekçi G, Ersöz G, Otağ F, Özturhan H, Şen S, Söylemez F, Akalın H, Özkul Y, Emekdaş G.** Kan kültürü pozitif örneklerde RFLP ve nested PCR yöntemi ile *Candida* türlerinin belirlenmesi. Klimik 2007 XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Antalya, **2007**:294-295.
36. **Börekçi G, Ersöz G, Otağ F, Özturhan H, Şen S, Söylemez F, Akalın H, Özkul Y, Emekdaş G.** Floresan in situ hibridizasyon yöntemiyle kan kültürü örneklerinde *Candida* türlerinin hızlı identifikasyonu. Klimik 2007 XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Antalya, **2007**:294.
37. **Rigby S, Procop GW, Haase G, Wilson D, Hall G, Kurtzman C, Oliveira K, Oy SV, Nielsen JJH, Coull J, Stender H.** Fluorescence in situ hybridization with peptide nucleic acid probes for rapid identification of *Candida albicans* directly from blood culture bottles. *Journal of Clinical Microbiology*, **2002**;40(6):2182-2186.

38. **Oliveira K, Haase K, Kurtzman C, Nielsen JJH, Stender H.** Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by fluorescent in situ hybridization with peptide nucleic acid probes. *Journal of Clinical Microbiology*, **2002**;39(11):4138-4141.
39. **Ener B, Heper Y, Akçağlar S, Akalın H, Özakın C, Sınırtaş M, Töre O.** Bir üniversite hastanesinde beş yıllık süreç içinde gelişen fungemiler. *Flora*, **2003**;8(2):138-143.
40. **Otağ F, Ersöz G, Doruk N, Erköse G, Erturan Z, Kaya A.** Yoğun bakım ünitesi hastalarından kolonizasyon etkeni olarak soyutlanan *Candida* cinsi mantarlar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **2004**;34:91-97.
41. **Şahin E, Kandemir Ö, Göksu M, Karaçarlı S, Kaya A.** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakımında kan dolaşım enfeksiyon etkenleri ve yıllara göre değişen etken profili. Ekmud Kongresi. Ankara, **2007**:97.
42. **Chow JK, Golan Y, Ruthazer R, Karchmer AW, Carmeli Y, Lichtenberg D, Chawla V, Young J, Hadley S.** Factors associated with candidemia caused by non-*albicans* *Candida* species versus *Candida albicans* in the intensive care unit. *Clinical Infectious Diseases*, **2008**;46:1206-1213.
43. **Şahin E, Ersöz G, Otağ F, Kandemir Ö, Tiftik N, Kaya A, Yalçın A.** Hematolojik maligniteli nötropenik ateşli hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, **2006**;20(2):121-124.
44. **Krcmery V, Barnes AJ.** Non-*albicans* *Candida* spp. causing fungemia: pathogenicity and antifungal resistance. *Journal of Hospital Infection*, **2002**;50:243-260.
45. **Arslan U, Uysal EB, Işık F, Tuncer İ, Fındık D.** 2002-2005 yılları arasında kan örneklerinden soyutlanan *Candida* türleri. *İnfeksiyon Dergisi*, **2006**;20(3):177-181.
46. **Kocabay G, Aydın S, Tiryaki B, Vatanserver S, Erk O, Akkaya V, Güler K.** *Candida kefyr* ile oluşan pnömoni. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, **2005**;68:26-28.
47. **Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, Marr KA, Pfaller MA, Chang CH, Webster KM.** Epidemiology and outcomes of Candidemia in 2019 patients: Data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clinical Infectious Diseases*, **2009**;48:1695-1703.
48. **Viudes A, Peman J, Canton E, Ubeda P, Ribot JLL, Gobernado M.** Candidemia at a tertiary-care hospital: Epidemiology, treatment, clinical outcome and risk factors for death. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2002**;21:767-774.
49. **Akçam EA.** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde izlenen kandidemi olgularının epidemiyolojik, klinik ve antifungal duyarlılık yönünden incelenmesi. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, **1999**.

50. **Ener B.** Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak Mantarlar. In: Ustaçelebi Ş. (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**:1123-1127.
51. **Zer Y, Balcı İ.** Yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen *Candida* suşlarının identifikasyonu ve antifungal duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **2002**;32(3-4):230-234.
52. **Savini V, Catavitello C, Marzio ID, Masciarelli G, Astolfi D, Balbinot A, Bianco A, Pompilio A, Bonaventura GD, D'Amario C, D'Antonio D.** Pan-azole-resistant *Candida guilliermondii* from a leukemia patient's silent fungura. *Mycopathologia*, **2010**;169:457-459.
53. **Sandven P, Nilsen K, Digranes A, Tjade T, Lassen J.** *Candida norvegensis*: a Fluconazole resistant species. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, **1997**;41(6):1375-1376.
54. **Kalkancı A, Dizbay M, Turan Ö, Fidan I, Yalçın B, Hirfanoglu İ, Kuştımur S, Aktaş F, Sugita T.** Nosocomial transmission of *Candida pelliculosa* fungemia in a pediatric intensive care unit and review of the literature. *Turkish Journal of Pediatric*, **2010**;52:42-49.
55. **Çerikçioğlu N.** Mantar İnfeksiyonlarında Seroloji ve Deri Testleri In: Ustaçelebi Ş. (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**:1145-1148.
56. **Akgül Ö.** Klinik örneklerden izole edilen germ tüp pozitif maya kökenlerinde *Candida albicans* ve *Candida dubliniensis* ayrımının fenotipik yöntemlerle ve PCR ile belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, **2006**.
57. **Hilmioğlu S, İlkit M, Badak Z.** Comparison of 12 liquid media for germ tube production of *Candida albicans* and *C. tropicalis*. *Mycoses*, **2007**;50:282-285.
58. Marascuillo procedure. Erişim: http://amchang.net/StatTools/Multiprop_Pgm.php. Erişim tarihi: 15.05.2010.
59. SPSS Inc. SPSS for Windows. Version 11.05.01, Chicago: SPSS Inc., **2002**.
60. **Estrella MC, Martinez LB, Buitrago MJ, Castelli MV, Lopez AG, Zaragoza O, Tudella JLR.** Update on the epidemiology and diagnosis of invasive fungal infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2009**;32(2):143-147.
61. **Groll AH.** Invasive opportunistic mycoses: clinical trials review, 2007-2008. *Current Infectious Disease Report*, **2008**;10(6):451-453.
62. **Reis E, Morrison C.** Nonculture methods for diagnosis of disseminated candidiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, **1993**;6(4):311-323.
63. **Yücel A, Kantarcıoğlu AS.** Hastane kaynaklı (Nozokomiyal) mantar infeksiyonlarının epidemiyolojisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, **2001**;32(4):259-269.

64. **Gürcüoğlu E, Ener B, Akalın H, Sımrtaş M, Evcı C, Akçağlar S, Yılmaz E, Heper Y.** Epidemiology of nosocomial candidemia in a university hospital: a 12-year study. *Epidemiology and Infectious*, **2010**;138:1328-1335.
65. **Abelson JA, Moore TM, Bruckner D, Deville J, Nielsen K.** Frequency of fungemia in hospitalized inpatients over 11 years a tertiary care institution. *Pediatrics*, **2005**;116(1):61-67.
66. **Doğru A, Aydın Ö, Üçışık AC, Özgüneş N, Yazıcı S, Karatoka B, Ergen P, Sargın F, Göktaş Ş.** Laboratuvarımızda üretilen *Candida* cinsi mantarların 2007 yılı analizi. *Ankem Dergisi*, **2009**;23(Ek1):41.
67. **Gürol Y, Karaltı İ, Öztürk Y, Tekkanat Tazegün Z, Yılmaz G.** Onkoloji servisinde yatan hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin kolorimetrik yöntem ile antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi. *Ankem Dergisi*, **2009**;23(Ek1):113.
68. **Candan M, Bakır G, Sırmatel Ö, Akkoçlu G, Çağlayan S, Sırmatel F.** Kanserli hastalarda kandideminin risk faktörleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **2003**;33:143-147.
69. **Akçay SŞ, İnan AŞ, Tekin SZ, Çalışıcı G, Aksaray S.** Yoğun bakım ünitesindeki hastaların idrar örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, **2009**;23(Ek1):55.
70. **Dimopoulos G, Ntziora F, Rachiotis G, Armaganidis A, Falagas ME.** *Candida albicans* versus non-*albicans* intensive care unit-acquired blood stream infections: Differences in risk factors and outcome. *Critical Care and Trauma*, **2008**;106(2):523-529.
71. **Anunnatsiri S, Chetchotisakd P, Mootsikapun P.** Fungemia in non-HIV-infected patients: a five-year review. *International Journal of Infectious Diseases*, **2009**;13:90-96.
72. **Özkan S, Kaynak F, Abbasoğlu U, Gür D.** Çocuk hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin çeşitli antifungallere duyarlılıklarının araştırılması. *Türk. Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **2004**;34:253-256.
73. **Erben N, Nayman SA, Doyuk EK, Özgüneş İ, Usluer G.** Erişkin hastalarda gelişen nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarında üriner katater kullanımının etkenlerin dağılımı üzerine etkisi. Ekmud Kongresi. Ankara, **2007**:132.
74. **Kaya SD, Partal M, Telliöglü GD.** Klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında tür tayini ve antifungal direncinin araştırılması. *Ankem Dergisi*, **2010**;24(Ek1):9.
75. **Jung SI, Shin JH, Song SH, Peck KR, Lee K, Kim MN, Chang HH, Moon CS.** Multicenter surveillance of species distribution and antifungal susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates in South Korea. *Medical Mycology*, **2010**;48:669-674.
76. **Akdağlı SA.** İnvazif mantar enfeksiyonlarının epidemiyolojisi: Nereden nereye?. *Ankem Dergisi*, **2010**;24(Ek 2):132-134.

77. Neofytos D, Fishman JA, Horn D, Anaissie E, Chang CH, Olyaei A, Pfaller M, Steinbach WJ, Webster KM, Marr KA. Epidemiology and outcome of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. *Transplant Infectious Disease*, **2010**;12:220-229.
78. Uyar A, Babaoğlu G, Uzun M, Anđ Ö. Mayaların identifikasyonunda değişik kimyasal maddelerin kullanılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **2001**;37:78-81.
79. Khan ZU, Ahmad S, Mokaddas E, Chandy R. Simplified sunflower (*Helianthus annuus*) seed agar for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Clinical Microbiology Infectious*, **2004**;10:590-592.
80. Rimek D, Fehse B, Göpel P. Evaluation of Mueller-Hinton-agar as a simple medium for the germ tube production of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Mycoses*, **2007**;51:205-208.
81. Selvarangan R, Bui U, Limaye AP, Cookson BT. Rapid identification of commonly encountered *Candida* species directly blood culture bottles. *Journal of Clinical Microbiology*, **2003**;41(12):5660-5664.
82. Horvath LL, Hospenthal DR, Murray CK, Dooley DP. Direct isolation of *Candida* spp. from blood cultures on the chromogenic medium ChromAgar Candida. *Journal of Clinical Microbiology*, **2003**;41(6):2629-2632.
83. Hospenthal DR, Murray CK, Beckius ML, Green JA, Dooley DP. Persistence of pigment production by yeast isolates grown on ChromAgar Candida medium. *Journal of Clinical Microbiology*, **2002**;40(12):4768-4770.
84. Birinci A, Akkurt L, Acuner C, Ünlü M, Durupınar B. Rapid identification of the *Candida* species from direct blood cultures by ChromAgar Candida™ *Candida*. *Journal of International Medical Research*, **2004**;32:484-487.
85. Sivakumar VG, Shankar P, Nalina K, Menon T. Use of CHROMagar in the differentiation of common species of *Candida*. *Mycopathologia*, **2009**;167:47-49.
86. Strausbaugh LJ, Sewell DL, Ward TT, Pfaller MA, Heitzman T, Tjoelker R. High frequency of yeast carriage on hands of hospital personnel. *Journal of Clinical Microbiology*, **1994**;32(9):2299-2300.
87. Strausbaugh LJ, Sewell DL, Tjoelker R, Heitzman T, Webster T, Ward TT, Pfaller MA. Comparison of three methods for recovery of yeasts from hands of health-care workers. *Journal of Clinical Microbiology*, **1996**;34(2):471-473.
88. Otağ F, Özdemir SD, Emekdaş G. BACTEC-maya pozitif şişelerden hızlı *C. albicans* tanısı. 5. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. Çanakkale, **2007**:200.

89. **Pfaller MA, Diemka DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ, Messer SA.** International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and *in vitro* susceptibilities to Fluconazole, Ravuconazole, and Variconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Journal of Clinical Microbiology*, **2001**;39(9):3254-3259.
90. **Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS.** *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 10th Ed. USA: Mosby Inc, **1998**:283-284.
91. **Kaya Tİ, Peksarı Y, Gürgey E.** Onikomikozlu hastalarda serum inhibitör faktör değerlendirilmesi. *Türkiye Klinik Dermatoloji*, **2001**;11:126-132.
92. **Frank J, Roth JR, Goldstein MI.** Inhibition of growth of pathogenic yeasts by human serum. *Journal of Investigative Dermatology*, **1960**:383-387.
93. **Kim D, Shin WS, Lee KH, Kim K, Park JY, Koh CM.** Rapid differentiation of *Candida albicans* from other *Candida* species using its unique germ tube formation at 39°C. *Yeast*, **2002**;19:957-962.
94. **Terlecka JA, Cros PA, Morrissey CO, Spelman D.** Rapid differentiation of *Candida albicans* from non-*albicans* species by germ tube test directly from BacTAlert blood culture bottles. *Mycoses*, **2006**;50:48-51.
95. **Harrington A, McCourtney K, Nowowiejski D.** Differentiation of *Candida albicans* from non-*albicans* yeast directly from blood cultures by Gram stain morphology. *European Journal Clinical Microbiology Disease*, **2007**;26:325-329.
96. **Doymaz M, Yampierre C, Tarchini G, Riley W.** Demonstration and utility of clustered pseudohyphae on Gram-stained smears from *Candida albicans*-positive blood cultures. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2010**;66:449-451.
97. **Sheppard DC, Locas MC, Restieri C, Laverdiere M.** Utility of the germ tube test for direct identification of *Candida albicans* from blood culture bottles. *Journal of Clinical Microbiology*, **2008**;46(10):3508-3509.

ÖZGEÇMİŞ

01.05.1979 tarihinde Mersin ilinde doğdu. Liseyi Mersin’de tamamladı. 2002 yılında Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitime başladı ve 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitime başladı.

Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrencisi olarak öğrenimine devam etmektedir.