

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CANDIDA TÜRLERİNDE SUBİNHİBİTÖR  
KONSANTRASYONDA ANTİFUNGAL İLAÇ  
UYGULAMALARININ SLİME FAKTÖR OLUŞUMUNA  
ETKİLERİ**

**Alparslan ARSLAN**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Zafer ÇETİNKAYA**

**Tez No: 2007-018**

**2007- AFYONKARAHİSAR**

## ÖZET

### ***Candida* Türlerinde Subinhibitör Konsantrasyonda Antifungal İlaç Uygulamalarının Slime Faktör Oluşumuna Etkileri**

*Candida*'lar insanların normal florasının bir üyesi olup, doğada yaygın olarak bulunurlar. Konağın hücrel immünitesinin bozulması, floralı bölgelerdeki fizyolojik koşulların veya floradaki mikroorganizma içeriğinin değişmesi ile fırsatçı mantar enfeksiyonlarına yol açabilirler.

*Candida*'larla oluşan enfeksiyon sıklığı giderek artmaktadır. Kullanılan antifungal ajanlara direnç görülmesi de önemli bir problem oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, klinik örneklerden izole ettiğimiz maya türü mantarlardan *Candida*'ların tür düzeyinde tanımlanması, slime oluşturanların tesbit edilmesi, antifungal duyarlılık paternlerinin belirlenmesi ve slime oluşumuna subinhibitör konsantrasyonlarda antifungallerin etkisini amaçladık.

Çalışmada, hastanemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına 01.01.2005 ile 01.09.2006 tarihleri arasında gönderilen çeşitli örneklerden izole edilmiş toplam 250 *Candida* suşunun tanımlaması yapılmıştır. Slime oluşturan 64 (%25,6) *Candida* türü saptanmıştır. Slime oluşturan türler modifiye tüp adherens metodu ile belirlenmiştir. Bunların 41'i *C.albicans* (%64,1), 13'ü *C.glabrata* (%20,3), 3'ü *C.tropicalis* (%4,6), 5'i *C.kefyri* (%7,8), 1'i *C.krusei* (%1,6), 1'i *C.sake* (%1,6) olarak tanımlanmıştır.

Slime oluşturan türlerin Amfoterisin B (Amp-B), Vorikonazol, Itrakonazol ve Flukonazole karşı duyarlılıkları mikrobuyyon dilüsyon yöntemi ile araştırılarak incelenmiştir. Antifungallere duyarlılıkları; Amp-B'ye %98.4, Vorikonazol'e %68.7, Itrakonazol'e % 51.6, Flukonazol'e %53 saptanmıştır.

Ayrıca çalışmamızda slime oluşturan suşlar için MİK değerleri ile birlikte iki alt dilüsyonlar da hazırlanmış ve bu subinhibitör konsantrasyonların slime oluşumuna etkileri araştırılmıştır.

Sonuçta; çalışmamızda antifungallerin subinhibitör konsantrasyonlarında 64 *Candida* türünden Amp-B ile 41 (%64,1)'inin, vorikonazol ile 41 (%64,1)'inin, itrakonazol ile 47 (%73,4)'sinin, flukonazol ile ise 35 (%54,7)'inin inhibe edildiği

saptanmıştır. Çalışmamıza göre antifungaller subinhibitör konsantrasyonlarda slime oluşumunu % 64,1 oranında inhibe etmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Antifungal Duyarlılık, Slime faktör, *Candida*, Flukonazol, Vorikonazol, Itrakonazol, Amfoterisin B

## SUMMARY

### **Affects Of Subinhibitory Concentration Of Antifungal Drug Applications On Slime Factor Forming At *Candida* Species**

*Candida* is the member of normal human flora. They are found in nature widely. Host cellular immunity deficiency can cause oppurtunistic fungal enfections with flora, changing of physiological conditions of region or microorganism content of flora.

The frequency of *Candida* infections has increased. The development of resistance to the antifungal agents is also seen an important problem.

In this study, we aimed to identify the *Candida* species isolated from clinical specimens, to detect slime forming species, to determine the antifungal susceptibility patterns and affects of sub inhibitory concentration of antifungals on slime forming.

In this study, 250 *Candida* strains isolated from various specimens that has been sent to the Microbiology and Clinical Microbiology Laboratory of our hospital for 01.01.2005 bis 01.09.2006 has been described. 64 (25,6%) *Candida* species detected that is slime forming. Slime forming strains has been determined. Of these strains, 41 (64,1 %) were identified as *C.albicans*, 13 (20,3 %) as *C.glabrata*, 3 (4,6 %) as *C.tropicalis*, 5 (7,8 %) as *C.kefyr*, 1 (1,6 %) as *C.krusei*, 1 (1,6 %) as *C.sake*.

Susceptibility of these slime forming strains to Amp-B, Voriconazole, Itraconazole and Fluconazole were detected by using microbroth susceptibility testing method.

Antifungal susceptibility were detected 98,4% for Amp-B, %68,7 for Voriconazole, 51,6% for Itraconazole, 53% for Fluconazole.

Furthermore, in our study in addition to MIC values, 2 sub dilutions were prepared for slime forming strains and investigated slime forming at subinhibitory concentrations.

As result, in our study we detect that at antifungals subinhibitor concentration of 64 *Candida* species. 41 *Candida* species (64,1 %) slime forming is inhibited by Amp-B, 41 (64,1 %) is inhibited by Voriconazole, 47 (73,4 %) is inhibited by Itraconazole, 35(54,7 %) is inhibited by Fluconazole.

In our study; preventing of slime forming at subinhibitory concentration of antifungals were detected 64,1%.

**Key Words:** Antifungal Sensitivity, Slime factory, *Candida*, Voriconazole, Itraconazole, Fluconazole, Amphotericine B

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

*Candida*'lar insan ağız, sindirim yolu, vajen mukozası ve derinin kalıcı mikroflorasının üyesi olup doğada yaygın olarak bulunurlar (1). Konağın hücrel immnitesinin bozulması, floralı bölgelerdeki fizyolojik koşulların veya floradaki mikroorganizma içeriğinin değişmesi sonucunda kolonize olarak, fırsatçı mantar enfeksiyonlarına yol açabilirler. (2).

*Candida*'lar normal florada yaygın olarak bulduklarından, hastalık sebebi olmaksızın klinik örneklerden izole edilebilirler. Laboratuvar verilerinin yorumlanmasındaki güçlükler nedeniyle sonuçların değerlendirilmesinde, mayaların tiplendirilmesi yanında iyi bir klinik laboratuvar işbirliği de gerekmektedir (3).

Son yıllarda *Candida* enfeksiyonlarındaki artış, tıbbi alanda kullanılan protezler, endotrakeal tüpler, çeşitli kataterler gibi biyomateryallerin yaygınlaşmasıyla ilişkili bulunmuştur (4).

Biyomateryallerin yüzeyinde *Candida* slime faktör oluşumu; kolonizasyon ve enfeksiyonlar için bir kaynak olup, çoğu kez mikroorganizmalardaki antimikrobiyal direnç ile de yakından ilişkilidir (5).

Subinhibitör konsantrasyonlarda *Candida* kolonizasyonunda antifungal ilaçların kullanımı slime oluşumunu engellerse kolonizasyon ve olası bir enfeksiyonun önlenmesi sağlanabilir.

Bu çalışmada; Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesine gelen klinik örneklerden maya türü mantarlar içerisinde izole edilen *Candida*'ların tür düzeyinde tanımlanması; slime oluşturanların tesbit edilip; Amfoterisin B, Flukonazol, Itrakonazol ve Vorikonazol ilaçlarına karşı antifungal duyarlılık paternlerinin belirlenmesi, subinhibitör konsantrasyonların hazırlanıp slime oluşumuna etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

*Candida*'larla ilgili ilk bilgiler Hippocrates'e kadar uzanır. Hippocrates debil kimselerde aft ve pamukçuğu tanımlamıştır. Hausmann da 1875'de vajinal kandidoz ile pamukçuğun ilişkisini ortaya koymuştur. Bunu izleyen yıllarda birçok araştırmacı tarafından çeşitli hastalık etkenleri olan maya türleri izole edilmiştir. Ancak *C.albicans* terimini ilk kullanan kişi Berkhout (1923) olmuştur (5).

*Candida*'lar Fungi imperfekti (Deuteromyces) sınıfı içerisinde Cryptococcaceae ailesinin bir üyesidir (6).

### 2.2. *Candida* Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

#### 2.2.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

*Candida*'lar 3-5 µm çapında, yuvarlak veya oval, tomurcuklanarak (blastosporla) çoğalan maya şeklinde funguslardır. *Candida*'lar deri, mukoza ve gastro intestinal sistem (GİS)'in normal florasında bulunurlar. Doğumdan hemen sonra mukozalarda kolonize olurlar ve endojen enfeksiyon için risk oluştururlar. Kandidiyaz en sık görülen sistemik mikozdur.

#### 2.2.2. *Candida* Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Birkaç istisna dışında, *Candida* cinsi içindeki mayaların makroskopik ve mikroskopik özellikleri farklılık göstermez. Hepsi, 25°C ya da 37°C'de 2-3 günde Sabouraud Dekstroz Agarda (SDA pH. 5.5) 2-3 mm çapında, beyaz veya krem renginde, düzgün yüzeyli veya göbekli ve uzayan inkübasyonla birlikte kıvrımlı hale gelen, mat yada parlak koloniler oluştururlar. Türler arası morfolojik farklılıklar ancak, mısır unlu agar gibi özel besiyerlerinde saptanabilir (7).

*Candida* cinsinde yer alan blastosporlar (mayalar) çoğunlukla anamorf (aseksüel) organizmalardır. Ancak bazıları teleomorf (seksüel) evreye de sahiptir. *Candida*'lar tomurcuklanarak çoğalırlar. Türlerin çoğu 'yalancı hif' oluştururlar. *C.albicans* ve çok seyrek izole edilen *C.dublinsiensis* ve *C.norvegensis* türleri gerçek hif oluşturma özelliğine sahiptir (7).

*Candida* türleri gram olumludur. Maya elemanlarının klinik örneklerden aranmasında Potasyum Hidroksit-Calcofluor White Fluorescent boyanması kullanılır. Bu boya ile maya hücresi yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir (8).

### 2.2.3. Kùltür ve Biyokimyasal Özellikleri

*Candida* 'lar, aerop koşullarda zenginleştirilmiş ya da minimal ortamda, 2-8 arasında değişen pH ve 20-40 °C arasındaki ısılarda ürerler. Besiyeri ortamında glukoz, amonyum tuzu, fosfat, biotin ve serbest metallerin (Fe, Zn, Ca gibi) bulunması yeterlidir. Kemoheterotrofturlar, yani organik bir azot ve karbon kaynağına gereksinimleri vardır. Bütün türler glikozu fermente eder, hiçbirisi nitratı asimile edemez. Kùltürlerinde etanol, asetoin ve asetik asit, formik asit, laktik asit, propionik asit, pirüvik asit, suksinit asit gibi organik asitlerden zengin metabolik son ürünler oluşur (8).

*Candida* türleri aerobik ortamda en iyi üremeyi göstermekle birlikte, yüksek karbondioksitli ortamlarda daha da iyi ürerler.

Tüm patojen türler 37 °C'de iyi üremekle birlikte, bu ısı özellikle *C.albicans* ve *C.tropicalis* gibi iki virülan tür için optimaldir (8).

Çoğalma hızları ortama göre değişmekle birlikte *C.albicans* ve *C.tropicalis* için bir saatten daha kısa bir süredir (9).

Klinik örneklerden izole edilen bazı *Candida* türlerinin kùltürel, mikroskobik morfoloji ve biyokimyasal özellikleri Tablo 2.1 'de özetlenmiştir (9).



**Tablo 2.1:** Klinik örneklerde üretilen *Candida* türlerinin kültür, mikroskopi ve biyokimyasal özellikleri .

TÜRLER	37°C de üreme	Yalancı / gerçek Hif	Klamidospor	Germ tüp	ASİMİLASYON											FERMANTASYON					Üreaz	KNO3	Asko-spor		
					D	M	S	L	G	M	S	İ	K	R	T	D	D	M	S	L				S	
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	d	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	F	-	-	F	-	-	-
<i>C. catenulata</i>	+d	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	Fd	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. dubliniensis</i>	+	+	+	+	+	+	+	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. famata</i>	+	-	-	-	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	+	d	Fd	-	Fd	-	-	-	-	-	-d
<i>C.glabrata</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.guilliermondii</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	F	-	F	Fd	F	-	-	-	-d
<i>C.kefyr</i>	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	d	-	d	+	-	-	F	-	F	Fd	F	-	-	-	-
<i>C.krusei</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	+d	-	-	-d
<i>C.lambica</i>	+d	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-d
<i>C.lipolytica</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-d
<i>C.lusitaniae</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	-	F	-	F	-	-	-	-d
<i>C.parapsilosis</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.pelliculosa</i>	+	+	-	-	+	+	d	-	+	+	+	-	+	-	+	-	F	Fd	F	-	F	-	+	+	-
<i>C.pintolopstisii</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.rugosa</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.tropicalis</i>	+	+	*	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	F	F	-	F	-	-	-	-
<i>C.zeynaloides</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: olumlu, -: olumsuz, d: değişken, F: Fermantatif, \*: *C.tropicalis* nadir olarak klamidospora benzer yapılar oluşturabilir. D:dekstroz, M:maltoz, S:sukroz, L:laktöz, G:galaktoz, M:mellobiyoz, S:sellebiyoz, İ:inositol, K:ksiloz, R:rafinoz, T:trehaloz, D:dulsitol

### 2.3.Tıbbi Öneme Sahip Bazı *Candida* Türleri

***C.albicans*:** Maya-hif dönüşümü göstermesi ve bazı hidrolitik enzimleri üretmesi nedeniyle, virülansı en yüksek türdür. *C.albicans*'ın A ve B serotipleri vardır. *Candida stellatoidea* farklı bir tür olmayıp, *C.albicans*'ın bir varyantıdır.

*C.albicans* kökenleri mısır unlu agarda, 3 günlük inkübasyon sonunda blastospor, yalancı hif klamidospore oluştururlar. Serumda, 37°C' de, 2 saat inkübasyon sonunda hücrelerden boğum oluşturmaksızın uzayan çimlenme boruları (germ tüp) mısır unlu agarda klamidospore yapımı, tür için tanı koydurucudur (10,11).

***C.dubliensis*:** Son yıllarda tanımlanmıştır ve *C.albicans* ile filogenetik açıdan yakın akrabadır. Germ tüpü oluşturabilen bu organizmayı *C.albicans*'tan ayıran özellikleri; 42°C'de üreyememesi ya da çok zayıf üremesi ve beta-glukosidaz aktivitesinden yoksun olmasıdır. Ayırımında genotiplendirme çalışmasının doğrulayıcı olacağı belirtilir (11).

***C.glabrata*** Önceden *Torulopsis glabrata* olarak bilinen bu türün, *Candida* cinsine alınmasının taksonomik açıdan tartışmalı olduğu belirtilmektedir. Ancak literatürde her iki isim de kullanılmaktadır, bu türde yer alan organizmalar, yalancı hif oluşturamazlar (10,11).

***C.guilliermondii*:** Teleomorf formu *Yamadazyma guilliermondii* olarak adlandırılan ve askosporlarıyla çoğalan bir mayadır. Mısır unlu agarda, kökene bağlı olarak yalancı hif oluşumu çok fazla ya da çok seyrek olabilir. Blastosporlar kısa zincirler ya da kümeler halinde gözlenebilir (11).

***C.kefyr (C.pseudotropicalis)*:** Teleomorf, askosporları ile çoğalan *Kluyveromyces marxianus*'tur. SDA'da, 25 °C'de, 3 günlük inkübasyon sonundaki kolonileri, diğer türlerinkine göre daha küçüktür. Mısır unlu agarda, yalancı hif ve yer yer 16 µm'ye kadar uzamış blastosporlar oluştururlar (11).

***C.krusei*:** SDA'da düz yüzeyli ve büyük koloniler oluşturur. Bir haftalık inkübasyon sonunda, uzayan blastosporların boyutu 25 µm'ye erişir. Sabouraud buyyonunun yüzeyinde 25 °C'de 3 günlük inkübasyon sonunda kalın bir pellicül (zarımsı katman) oluşturur. Teleomorf, askosporlarıyla çoğalan *Issatchenkia orientalis*'tir (10,11).

***C.norvegensis*:** Teleomorf, *Pichia norvegensis* adını alan ve askosporları ile çoğalan bir mayadır.

***C.parapsilosis: (C.parakrusei).*** Mısır unlu agarda, 3 günlük inkübasyon sonunda uzun, düzenli olarak dallanan ve "çam ormanını" andıran yalancı hifler oluşturur (10,11).

***C.pelliculosa:*** Teleomorfu, *Hansenula anomala* ya da *Pichia anomala* olarak adlandırılan ve askosporlarıyla çoğalan bir mayadır (12).

***C. tropicalis: (C. paratropicalis):*** *C. tropicalis* kökenleri Sabouraud dekstrozu buyyonun yüzeyinde, 25 °C'de 2 günlük inkübasyon sonunda ince bir pellikül oluştururlar. Teleomorfu, askosporları ile çoğalan *Pichia jadinii*'dir (13).

## **2.4. Candida'ların Hücre İnce Yapısı**

### **2.4.1. Hücre İskeleti**

Fungal iskelet, turgor basıncına karşı koyan ancak dinamik bir sistemdir. İskelet, hücre duvarı ve hücre membranı ile bağlantılıdır. İskelet komponentlerinden olan mikrotübüller, membranın hareketliliğinde rol alırlar. İskeletin bir diğer bileşeni olan aktin, sitoplazmik akışkanlıktan sorumludur. Miyozin ise, aktinle birlikte organellerin hareketliliğini sağlar.

İskelet komponentlerinin birbirleri ile ilişkileri açısından  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  ve  $H^+$  iyonlarının yoğunlukları önemlidir. Bu iyonların hücre içine giriş, çıkışları ile organellerin hareketliliği ve hifal uzama düzenlenir. İyonlar, ek olarak mitoz, mayoz, tomurcuklanma, septum oluşumu yani morfogenez ya da protein kinaz gibi bazı enzimlerin regülasyonunda da rol alırlar (14,15).

### **2.4.2. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı**

Hücre duvarı hücreye şekil veren, sert bir yapıdır. Hücrenin ozmatik basınç ile patlamasına karşı koyar. Çeşitli moleküllerin iç ve dış ortama geçişlerinde rolü vardır. Hücre duvarı, maya hücresinin değişik yüzeylere tutunmasında (adezyon) doğrudan görev alır. Duvar yapısında bulunan bazı maddeler antifungal ajanlar için hedef oluştururken, bazıları aynı zamanda immünolojik determinantları taşır. Duvar bileşenlerinin %80-90'ı karbonhidratlar, %5-15'i proteinler ve %2-5'i lipidlerden oluşur. Karbonhidratların ise %20-30'u mannoprotein, %50-60'ı  $\beta$ -glukanlar ve %0,6-9'u kitin yapısındadır. *C.albicans*'ın maya ve hifal formlarında glukan ve mannan içeriği benzerdir, fakat hifal hücrelerde kitin miktarı maya hücresine göre üç kat fazladır (15,16).

Elektron mikroskopik çalışmalara göre, *Candida*'ların hücre duvarı en az 5 katmanlıdır. Maya-hif dönüşümü sürecinde bu sayı ve kalınlık değişir. Ayrıca ortamda yüksek yoğunlukta şeker varlığında en dıştaki mannoptein katman kalınlaşır ve fibriller oluşumlar artar (17).

### 2.4.3. Hücre Membranı

Hücre membranı taşıdığı ozmoenzimler aracılığı ile moleküllerin iç ve dış ortama geçişinde rol alır. Kitin sentetaz gibi, duvar komponentlerinin sentezinde rolü olan enzimler de membranda bulunurlar. Ayrıca *C.albicans*'ın morfogenezi (maya-hif dönüşümü ve hifal uçtan uzama) için gerekli olan sinyal iletiminde rol alan fosfolipaz C, adenilat siklaz, proteaz gibi enzimler de membranda yer alırlar (15).

*Candida*'ların hücre membranında; fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, 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 hedefdir (15).

## 2.5. *Candida*'ların Virülans Faktörleri

*Candida*'ların özellikle de majör patojen olan *C.albicans*'ın kandidiyaz patogeneğinde rolü olduğu ileri sürülen virülans faktörleri aşağıdaki başlıklarda toplanabilir (17).

### 2.5.1. 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 immünolojik koşullarının yanısıra, mantarın yüzey özelliklerinin de önemi vardır (17)

**A-Hücre Yüzeyinin Hidrofobik Özelliği:** Negatif yüklü yüzeylerin birbirini çekmeleri, hidrofobik moleküllerin varlığı ile mümkündür. Örneğin, hidrokarbonların ve non-polar organik maddelerin (fenil alanin, methionin gibi) adezinlerle birlikte hücre yüzeyine tutunmayı desteklediği belirtilmektedir (17).

Yüksek galaktoz yoğunluğunda üreyenlerin yanısıra, 25°C'de üreyen mayaların ve hifal formların hidrofobluğu daha fazladır (17).

**B-Yüzey adezinleri:** Konağın epitel ve endotel hücrelerine tutunmada rolleri olan moleküllerdir (18).

**İC<sub>3</sub>b reseptörü:** Maya hücre yüzeyindeki bu molekül, konak hücre yüzeyindeki arjinin-glisin-asparajin (RGD) tabiatındaki reseptörlere tutunur. Bu molekül, memelilerdeki CR-3 integrin reseptörleri ile benzerlik gösterir. Molekülün, nötrofiller tarafından mayanın fagositozunu engellediği de öne sürülmektedir (18).

**C<sub>3</sub>d reseptörü:** Komplemanın C3d komponenti için reseptör görevi gören ve memelilerdeki CR-2 integrin reseptörü ile benzerliğe sahip bir moleküldür. Glukoz ve mannoz açısından da zengin olup, özellikle plastik yüzeylere tutunmada rol alır (18).

**Fibronektin reseptörü:** Konak hücreye tutunmada Ca<sup>++</sup> iyonlarına bağımlılık gösteren bir moleküldür. *C.albicans* ve *C.tropicalis* kökenleri fibronektin reseptörleri aracılığı ile subendotelyal ekstra sellüler matriks proteinlerine (EMP) tutunur; ayrıca böbrek, karaciğer ve beyindeki hücrelerde bulunan (RGD) peptidlerine bağlanırlar (18).

**Estrojen reseptörü:** Üreme hormonlarının vajen epitellerindeki glikojeni artırıcı etkisi ve maya hücrelerindeki estrojen reseptörleri, vajinal kolonizasyonu kolaylaştırır (18).

**Yapışkan mannoprotein:** Bu glikoprotein ifadesi, yüksek galaktozlu ortamda fibriller yapısının artışı ile paralellik gösterir. *C.albicans*'ın mannoproteinini ile yüzeyinde fukoz bulunduran epiteller arası ilişki ilgi çekicidir. Gerek "O" kan grubuna sahip olan gerekse, sekretuar olmayıp Lewis antijeni taşıyan bireylerin ağız ve vajen epitellerinde bulunan fukoz ile *Candida* mannoproteinleri arası birbirini tanımaya dayalı ilişki; belirtilen özellikteki kişilerde oral ve vajinal kandidiyaza eğilimi açıklamaktadır (19).

**Salgısal asit proteinaz:** Konak hücrelerinde invazyon ve kavitasyon gibi olaylardan sorumlu olan bu enzim, aynı zamanda hücrenin enfeksiyonuna yol açan bir adezyon faktörüdür (19).

**Faktör 6 (Antijen 6):** *C.albicans* serotip A kökenlerinde mannoprotein katmanının en dışında yer alan bir epitoptur. Faktör 6 defektli mutantların konak hücre yüzeyine göreceli olarak zayıf tutundukları saptanmıştır (19).

**Laminin reseptörü:** Bu reseptörlerin aracılığı ile *Candida*'lar, aortik ve mikrovasküler endotel hücrelerdeki ligandlara tutunurlar. Laminin reseptörleri, *C.albicans*'ın sadece germ tüp ve hifal formunda saptanmıştır (19).

**Fibrinojen bağlayan proteinler:** Bu reseptörler *C.albicans*'ın germ tüp ve hifal formunda bulunur. Özellikle böbrek ve üretral epitellere tutunmada rol alırlar (19).

### 2.5.2. Maya-Hif Dimorfizmi:

Özellikle *C.albicans* kökenlerinde kromozomal düzeyde önemli değişiklikler olabilmektedir. Bu değişikliklerin yansımaları arasında yer alan dimorfizm, maya-germ tüp (hif) dönüşümünü belirleyen bir süreç olup, önemli bir virülans faktörüdür. Bu süreci etkileyen dış faktörlerden CO<sub>2</sub>, 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 hifal uzama gerçekleşir. Hifal forma dönüşümün ilk basamağı germ tüptür. 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. Hif formu, maya formuna göre dokuya ve plastik yüzeylere daha fazla yapışır; fagosite edilemez (16,19,20).

### 2.5.3. Fenotipik Değişimi:

*C.albicans* kökenlerinde yüksek sıklıkta spontan fenotipik değişim saptanmıştır. Bu değişim, başlıca iki kategoride gerçekleşmektedir:

a) Kolonilerdeki White-Opaqua (w-o) renk değişimi, 10<sup>4</sup> sıklıkta oluşur ve koloni düzeyinde olduğu kadar, makroskobik olarak da hücrelerin küresel ya da uzamış şekilde farklı görüntülerine yol açar.

b) Koloni morfolojisinde 10-2, 10-3 sıklıkta oluşan değişim sonucu "Smooth (s)" tipinden miçelyal forma; yıldız tipi halka tipi gibi değişik formlara değişim olabilir, in vivo koşullarda da gerçekleşen bu fenomenin, antifungal ilaçlara karşı direnç gelişiminde etkili olduğu belirtilmektedir(19,21).

### 2.5.4. Salgısal Aspartil Proteinazlar:

Kimyasal özelliklerinden dolayı karboksil proteinaz, asit proteinaz isimlerini de alan salgısal aspartil proteinaz, asit pH'da ve yegane 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.kefyr*, *C.krusei*, *C.guilliermondii* ise nadiren salgılar. Proteinaz; serum albumini, ovalbumin, hemoglobin, keratin, kollajen, laminin, fibronektin, Ig A, Ig G'nin Fc kısmı ve komplemanın C3 komponentini hidrolize ederek, başta *C.albicans* olmak üzere *Candida* kökenlerinin virülansını ve dokularda invazyon oluşturma yeteneklerini artırıcı etki göstermektedir. Pepstatin, proteinazın özgül bir inhibitörüdür ve Candidal enfeksiyonları önleyici bir ajan olarak kullanılabilirliği ile ilgili çalışmalar sürdürülmektedir (19, 22).

### **2.5.5. Fosfolipazlar:**

Maya ve hifal formdaki *C.albicans* kökenlerinin %79'unda fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Özellikle membran fosfolipidlerini parçalayarak epitelyal hücrelere tutunmada bu enzimlerin rolü olduğu ve dolayısıyla virülansa katkıda buldukları belirtilmektedir (19,23)

### **2.5.6. Slime Faktör:**

Bir kısım mikroorganizmaların doğada saprofit hayatta ve insan vücudunda yaşamaya uyum sağladıklarında *in vivo* katı yüzeylere yapışma ve kalınlığı birkaç milimetre'ye varan hücre tabakalarından oluşan biyofilm oluşturma özelliklerinin bulunduğu, bu yapışmanın özgün olabildiği veya olmadığı bilinmektedir. Bu biyofilm damar içi kateter veya protez uygulamalarında başlıca komplikasyon olan enfeksiyonlara da yol açabilmektedir. Bu yabancı cisim organizmada fibronektin, fibrinojen, vitronektin veya laminin ile kaplanır ve mikroorganizmalar konağın bu matriks proteinlerine yapışabilirler ve burada hücre dışı matriks salgılayabildiklerinde yüzeye yapışan, çoğunlukla polisakkarit yapısında bir biyofilm oluşur (24,25).

*C.albicans* ve *C.parapsilosis* de katetere yapışarak kolonizasyon sonucunda nozokomiyal enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. Kateterde ortaya çıkan biyofilmlerde hem mikroorganizmaya hem de konağa ait faktörlerin rol oynadığı; bu yapışma ve kolonizasyon için mantarın slime faktörünün, konağın da fibrin ve fibronektinlerinin gerekli olduğu; diğer patojenlik faktörlerinin yanısıra *C.albicans* ve *C.albicans* dışı kökenlerde biyofilmlerin önemli bir virülans faktörü olduğu öne sürülmüşse de son günlerde yapılan araştırmalarda mucin, fibronektin ve mannan

bağlayan protein gibi tükürük veya serum proteinlerinin *Candida* biyofilmi oluşmasını kolaylaştırmadığı; akrilik yüzeylerde *Candida* biyofilmi oluşmasının karmaşık bir olay olduğu bildirilmiştir (25).

Diğer yandan, insan tükürüğünde bol miktarda bulunan histidinden zengin 12 çeşit proteinler olan histatinlerin fizyolojik yoğunluklarda hücre duvarını etkileyerek *C.albicans* dahil bir kısım *Candida* türleri, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Cryptococcus neoformans* üzerine in vitro antifungal etkinliklerinin olduğu gösterilmiş; ancak bunların *C.albicans*'ı öldürme veya çimlenmeyi baskılama mekanizmaları henüz açıklanamamıştır. Histatinlerin *C.albicans*'ın hücre zarına bağlandığı fakat memelilerin hücre zarlarına bağlanmayarak seçici öldürücü etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Bunlar arasında çeşitli biyolojik etkinliklerine sahip olan histatin 3'ün bu ara proteazları da baskıladığı, mantar hücresinin yüzeyine bağlandığı, ancak hücrenin ölmesi için düşük bir hücre dışı tuz yoğunluğunun da bulunması gerektiği gösterilmiş, dolayısıyla histatin 3'ün Candidasid etkisinin yalnızca hücre yüzeyine bağlanmasıyla ilgili olmayıp hücreyi de etkilemesine bağlı olduğu öne sürülmüştür (26).

Kateterler, ekstraselüler matriks içinde biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile kolonize olmakta ve mikroorganizmanın bu biyofilmden ayrılması çoğu kez septisemi ile sonuçlanmaktadır. Hastane kaynaklı kan dolaşımı ile ilgili enfeksiyonların başında Gram negatif bakterilerden sonra mantarlar gelmektedirler (27).

Fungeminin en yaygın etkeni olan *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.krusei* ve *C.glabrata* gibi *Candida*'ların slime yapımı da virülans etkili olmaktadır (28).

Ancak proteolitik enzimler, fosfolipaz, dimorfizm gibi diğer virülans faktörlerinden daha az öneme sahip olabileceğinin de öne sürüldüğü bilinmektedir (27).

Bu yorum, slime faktörünün virülans etkisinin diğer etmenlerde olduğu gibi tüm vücut bölgeleri için genel anlamda geçerli olmayıp yalnızca katater gibi yabancı bir cisme bağlı enfeksiyonlarla sınırlı bir çevrede kalmasından kaynaklanmakta olmalıdır. Ancak; geçtiğimiz on yıl içerisinde hızla öne çıkmış olan ve bağışıklığı bozulmuş kişilerde görüldüğü kabul edilen, çoğu ölümlü sonuçlanan fırsatçı



mantarların sebep olduğu enfeksiyonlara ek olarak; son günlerde bu gibi hususların da bir yansıması olarak artık bağışıklığı tam konaklarda da yaşamı tehdit eden fırsatçı mikozlardan söz edilmeye başlandığı dikkati çekmektedir.

## **2.6. *Candida* İnfeksiyonlarında Bağışıklık Sisteminin Rolü**

### **Hücrel Bağışıklık**

İntakt deri, kütanöz kandidiyaza karşı direnç sağlar ancak maserasyon, deriyi *Candida* invazyonuna duyarlı kılar. Maya hücreleri dermise invazyon yapıp dolaşıma geçerse, polimorfonükleer lökositler (PNL) pseudohiflerde hasar oluşturur ve de blastosporları fagosite ederler. Eozinofiller de *Candida*'yı öldürür. Özellikle miyeloperoksidaz ve hidrojen peroksit *C.albicans*'ın öldürülmesi için gereklidir; diğer türler ise oksidatif olmayan mekanizmalarla öldürülür. Monosit, makrofajlar ise, miyeloperoksidaza bağımlı ya da bağımsız yollardan *Candida*'ları öldürürler. Örneğin pulmoner dokuda alveolar makrofajlar, *C.albicans*'ın öldürülmesinde önemli rol alır (29).

Mannan, lenfosit yanıtını belirleyen en önemli yapısal komponenttir. Fakat lenfositlerin *Candida* 'lara karşı savunmadaki rolü ve oluşan hücrel bağışıklığın önemi tam anlaşılmamıştır. Ancak, Kronik Mukokutanöz Kandidiyaz (KMK) ve AIDS'lilerin kütanöz kandidiyazlarında hücrel savunma sistemindeki bozuklukların rolü açıktır (30,31).

### **Sıvısal Bağışıklık**

Mayanın nötrofillerce yutulmasında IgG sınıfından opsonik antikorların rolü vardır. Serum IgG yanıtı, dissemine kandidiyazda yükselme gösterir. Kompleman fraksiyonu olan C3b, opsonin olarak *C.albicans* blastosporlarına bağlanabilir (30,31).

## **2.7. Patoloji**

Yüzeysel kandidiyazlarda mukozal yüzeyler tutulur; vasküler ve derin organ invazyonu olmaz; nötrofiller, nekrotik debris, maya ve hifler görülür. GİS enfeksiyonunda ülserasyon ve bunun üzerini örten ve de nekrotik debris, fibrin, maya ve yabancı hif içeren pseudomembran oluşur. Kronik mukokutanöz kandidiyazda stratum korneumda maya ve hifal formlar bulunur; epidermis, dermis invazyonu oluşabilir; hiperkeratoz ve akantoz belirgindir.

Lokal invaziv kandidiyazda (pnömoni, piyelonefrit gibi) keskin sınırlı ülserler görülür. Fungus submukozal gelişim gösterir ve üstteki mukozada nekroza yol açar;

böylece oluşan ülserlerin tabanını örten pseudomembran içinde fungal yapılar yer alır. Anjiyoinvazyon sonucu derin katmanlara yayılabilir (30).

İnvaziv enfeksiyonun bir formu olan dissemine kandidiyazda mukozal yüzeyler dışındaki iki ya da daha fazla organ tutulur. Çoklu parankimal apseler kalp, karaciğer, dalak, böbrek, akciğerde görülebilir. Dissemine kandidiyazda polimorfonükleer hücrelerden oluşan mikroapseler ve mononükleer hücre infiltrasyonu tipiktir. Kronikleşen olgularda histiyositler, dev hücreler ve epitelooid hücrelerin yer aldığı granülomatöz reaksiyonlar da gözlenebilir.

Ağır immün yetersizliği olan hastalarda inflamatuvar reaksiyon çok azdır veya yoktur; apseler yalnızca *Candida*'ları ve nekrotik dokuyu içerir (31).

### **2.8. *Candida*'ların Patogenezi:**

Konak savunma mekanizmaları ve mikroorganizmanın virülansı *Candida* enfeksiyonlarının gelişiminde rol oynar. Sağlam deri ve mukozaların *Candida* enfeksiyonlanmn gelişimini önlemede rolü büyüktür. Deri maserasyonuna neden olan her türlü olay, sağlıklı kişilerde de duyarlı bölgelerde *Candida* invazyonuna izin verir. *Candida*'lar dermise veya kan dolaşımına geçtiğinde polimorfonükleer lökositler savunmaya katılır. Nötrofillerden başka monosit ve eozinofiller fagositozda yer alır. Doku makrofajlarının ve yerleşik retiküloendotelial hücrelerin de *Candida*'ları öldürme kapasiteleri vardır (25).

Myeloperoksidaz, hidrojen peroksit ve süperoksit anyon sistemi fagositlerin *Candida*'ları öldürmelerindeki başlıca mekanizmalardır. Ayrıca fagositler kimotripsin benzeri katyonik proteinler üretilip membran geçirgenliği artırarak etki ederler. Isıya duyarlı ve dirençli opsoninler, nötrofillerin Candidal fagositozunu kolaylaştırır (25).

Yerleşik floradaki bakteriler, besin maddelerini hızla tüketerek, çevre koşullarını *Candida*'lar için uygun olmayacak şekilde değiştirir veya toksik maddeler üreterek *Candida*'ların çoğalmasını engeller (29).

Hipoparatiroidizm, adrenal yetmezlik, kronik lenfositik troidit, diabetes, over hipofonksiyonu ve adrenokortikotropik hormon eksikliği gibi endokrin bozukluklar kronik mukokutenöz *Candida* enfeksiyonları ile ilişkilidir (29).

*Candida*'lara karşı humoral ve hücrel bağışıklık gelişmekle beraber hücrel bağışıklığın rolü daha büyüktür. Genel olarak yüzeysel deri enfeksiyonlarında

hücresel bağışıklığın, sistemik enfeksiyonlarda ise doğal direncin yanında humoral bağışıklığın öne çıktığı söylenebilir (25).

*Candida* hücre duvarında bulunan mannan, T lenfositlerin duyarlanmasında başta gelen antijendir. Duyarlılaşan T lenfositleri lenfokin salgırlar ve makrofajları aktive ederler (18,25). Mannan antijenik yapı olmasının yanısıra virülansta da rol oynar. Kronik mukokutenöz kandidiyaziste hücresel bağışıklığı inhide eder. Geç tip aşın duyarlılığı baskılar ve kronik kandidiyaziste mannoptein ve mannan metabolitleri IL-1, EL-2 ve TNF aktivitesini etkiler (18). Hidrolitik enzimlerinden fosfolipazlar membran fosfolipidlerini, asit proteinazlar salgısal IgA'yı parçalayarak epitelyum hücrelerine yapışmada rol oynarlar (18).

Kompleman opsonizasyon için gereklidir. *Candida*'lar tarafından daha çok alternatif yol olmak üzere her iki yoldan da aktive edilirler. C3b komponentinin blastosporlara bağlandığı gösterilmiştir. Kronik mukokutenöz *Candida* enfeksiyonlarında deri bazal membranında kompleman komponentlerinin biriktiği gösterilmiştir. Ayrıca insan kompleman reseptörleri CR2 ve CR3'e benzer *Candida* yüzey molekülleri tespit edilmiştir (25).

*Candida*'lar enfekte dokuda maya ve hif formu şeklinde bulunurlar. Aktif semptomatik enfeksiyon hif formu ile ilişkilidir. Hif formu maya formuna göre, dokuya 50 kez daha fazla yapışır. Normalde insanda kommensal olarak bulunan *Candida*'ların patojen hale geçmeleri için savunma mekanizmalarının baskılanması gerekir. Bu doğal veya iyatrojenik olarak gelişebilir (30).

Diabetes mellitus'ta glikoz düzeyinin yükselmesi doku invazyonu olmaksızın fungal üremeyi artırır. Ciddi yanık lezyonlarına *Candida*'lar kolonize olduğunda, deri bütünlüğü bozulmuş olduğundan doku invazyonu gelişebilir. Gebelikte östrojen ve vajinal glikojen miktarının artması, vajinal kolonizasyona sebep olabilir (25).

*Candida*'ların glikoprotein yapısındaki toksinleri patojenitede rol oynayan virülans faktörlerindendir. Bakteri toksinleri gibi pirojen olup hayvanlarda anaflaktik şoka neden olabilir, ancak bakteri toksinleri kadar etkin değildir (18).

Kemoterapi ve radyoterapi sonrası maserasyona bağlı doku invazyonu gelişebilir. Hiperalimentasyon sıvıları intravasküler hiperglisemik ortam sağlayarak *Candida* enfeksiyonlarını kolaylaştırır. İntravasküler kateterler, basınç izleme aletleri, prostetik kalp kapakları ve pacemaker yerleştirilmesi dissemine kandidiyazise yol

açar. Geniş spektrumlu antibiyotiklerle flora bakterilerinin baskılanması *Candida* enfeksiyonlarına yol açabilir (25).

## 2.9. *Candida* Enfeksiyonları ve Tanısı

*Candida*'lar, mukozal kolonizasyondan çoklu organ tutulumuna kadar geniş bir yelpazede yer alan enfeksiyonlara yol açabilir (31).

### 2.9.1. Yüzeyel *Candida* İnfeksiyonları

Yüzeyel *Candida* enfeksiyonları çoğunlukla kişinin kendi florasından köken alır, bazen başka kişilerden bulaş yolu ile de kazanılabilir (32).

#### Oral Kandidiyaz

Farklı klinik formları vardır.

- **Akut Pseudomembranöz Oral Kandidiyaz (Pamukçuk):** En çok süt emen bebeklerde ve yaşlılarda görülür. Bu yaş gruplarının dışında.  $CD4^{<+>}$  hücre sayısı  $<200/mm^3$  olan HIV (+) hastalarda, kanserlilerde ve steroid inhaler kullananlarda ortaya çıkabilir. Dil, yanak mukozası, sert damak ve gingivada ve bazen boğazda beyaz yamalardan oluşan yalancı membran meydana gelir. Yamalarda, dökülen epitel hücreleri, lökositler, mayalar ve bakteriler bulunur. Membran kaldırıldığında kanama olur. AIDS'liler dışındaki gruplarda oral kandidiyazlar genellikle kendini sınırlayıcı niteliktedir (33).
- **Kronik Atrofik Kandidiyaz:** Takma diş stomatiti olarak da bilinir. En çok "angular şelit" denilen ve dudak köşelerinde çatlakların olduğu formda görülür (33).
- **Kronik Hiperplastik Kandidiyaz:** *Candidal* lökoplakia lezyonlarının %15-20'si malign dönüşüm gösterebilir.

**Tanı:** Mukozal lezyonların görünümü klinik tanıda yardımcıdır. Ancak granülositopenik hastalarda, Herpes simplex ya da bakteriyel lezyonlardan ayırt edilmelidir.

Dil basacağıyla lezyondan alınan örneğin %10 KOH ile mikroskopik incelenmesinde tomurcuklanan maya hücrelerinin ve hifal formların görülmesi ve kültürde mayanın üretilmesi tam koydurucudur (31).

### ***Candida* Özofajiti**

Derin kandidiyaz sınıfına da alınabilen bu hastalık, orofarengeal kandidiyazla birlikte, ya da bağımsız bir bulgu olarak ortaya çıkabilir. Özellikle AIDS'lilerde görülür (31).

**Tanı:** Yutma güçlüğü olan hastanın endoskopik muayenesi sırasında, yoğun inflamasyon ve yamalar görülür. Klinik materyalin histopatolojik yöntemlerle incelemesinde mayaların görülmesi ve kültürde üretimi ile kesin tanı konur (32).

### ***Candida* Vulvovajiniti ve Balanit**

Kadınların %75'i yaşamlarında en az bir *Candida* vulvovajinit epizodu geçirirler. Tedavinin başarısız olduğu bazı olgularda tekrarlar ve ısrarcı semptomlar olabilir. Olguların %80'inden *C.albicans* sorumludur. Bunu %5 ile *C.glabrata* izler, ılımlı seyreden enfeksiyona karşın bu türde azollere karşı direnç gelişimi göz önünde tutulmalıdır (31).

Diyabetes mellitus, gebelik ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı en önemli risk faktörleridir.

Hastalarda vulva ve vajende kaşıntı, eritem ve yanma; dizüri ve disparüni sıklıkla rastlanan bulgulardır. Kalın ve süt keşiği kıvamında vajinal akıntı bulunabilir (32).

Penil kandidiyaz (balanit), erkeklerde en çok diyabetes mellitus ile bağlantılıdır. Vulvovajinitli kadınların cinsel eşlerinde de ortaya çıkabilir. Uzun süreli penil kateteri olan hastalarda da kronik enfeksiyonlar meydana gelebilir. Glans penisde kaşıntı, eritem ve vezikülopüstüler lezyonlar bulunur (32).

**Tanı:** Vajinal akıntının % 10 KOH ile mikroskopik incelemesinde maya ve hifal yapıların görülmesi ve kültürde mayanın üretilmesi vajinal kandidiyaz için tanı koydurucudur.

Penil kandidiyaz durumunda ise koronal sulkustan ve subpreputial keseden alınan örneğin mikrobiyolojik incelemesi yapılmalıdır (33).

### **2.9.2. Primer Kutenöz Kandidiyazlar**

- İntertrigo diyabetli şişman kadınlarda sık görülen bir hastalıktır. Kasık, meme altı, koltuk altı gibi maserasyon ve oklüzyonun fazla olduğu bölgelerde veziküller ve püstüller oluşur (31).
- Ayak parmak aralarının *Candida* enfeksiyonunda, eritem ve çatlaklarla seyreden ağrılı lezyonlar vardır. Su ile teması fazla olanlarda sık görülür (31).

- Konjenital kütlenöz kandidiyaz, doğumda veya doğumun hemen sonrasında süt emen bebeklerde görülen ve eritemli zeminde vezikülopüstüler lezyonlarla seyreden nadir bir klinik formdur. Olguların %50'si gebe annedeki vajinal kandidiyazla bağlantılıdır. Kendiliğinden iyileşebildiği gibi, ağır seyirli derin enfeksiyona kadar gidebilir (32).
- Diyaper raş; bebeklerin perianal bölgesinde ortaya çıkan ve bez kullanımı ile ilişkilendirilen ve nadiren *C.albicans*'ın da rol aldığı bir enfeksiyondur (32).

**Tanı:** Lezyondan alınan kazıntının %10 KOH ile mikroskopik incelemesinde mayalar ve hifal formlar, tanı koydurucudur. Pozitif kültür de tanıya yardımcıdır (31).

### **Onikomikoz ve Paronikya**

Tırnak enfeksiyonlarının %5-10'unda etken *Candida* 'lardır. Daha çok su ile normalden fazla teması olanlarda görülen bu enfeksiyonda baş ve orta parmaklar daha çok etkilenir. *C.albicans* ve *C.parapsilosis* en önemli etkenlerdir. *Candida* paronikyası genellikle proksimalden başlar; tırnak yatağı şişer; eritem ve ağrı meydana gelir. Kutikula tırnak yatağından ayrılır. Proksimal tırnak bölgesinde beyaz, yeşil ve siyah lekeler oluşur. Tırnaklarda çukurlaşmalar görülür. Distal *Candida* enfeksiyonunda onikolizis ve subungual hiperkeratoz görülebilir (31).

**Tanı:** Tırnak kazıntılarının KOH ile mikroskopik incelemesinde maya ve yalancı hiflerin görülmesinin yanısıra bu örneklerden hazırlanan kültür de üreme olması ile tanı doğrulanır. Paronikya durumunda, aspire edilen irinde mikroskopik inceleme ve kültürde *Candida* varlığının gösterilmesi mümkündür (31,32).

### **Kronik Mukokutenöz Kandidiyaz (KMK)**

Konjenital endokrinopatiler veya hücresel bağışıklık sistemindeki bozukluklarla bağlantılı olarak ortaya çıkan ve saçlı deri; ayaklar, yüz öncelikli olmak üzere; bazen tırnak ve parmak uçlarını da tutan bir enfeksiyondur. Hayatın ilk üç yılında gelişebilir ve nadiren derin bir enfeksiyona dönüşür (32).

**Tanı:** Kronikleşmiş deri ve mukoza lezyonlarında *C.albicans*'ın saptanması ve timoma gibi bulguların varlığı ile konulur (31,32).

### **2.9.3. İnvaziv *Candida* İnfeksiyonları**

Yaygın (dissemine) ya da sistemik kandidiyaz olarak da adlandırılan enfeksiyonlardır. Bu formun endoftalmit, artrit, osteomyelit gibi lokalize belirtileri olabilir (32).

### **Kandidemi**

Kanıtlanmış organ tutulumu olmaksızın bir ya da daha fazla kan kültüründe *Candida* üremesi demektir. En sık rastlanan belirtisi yüksek ateştir ( $> 38^{\circ}\text{C}$ ). Önceleri kandidemi, kontamine kateterle ilişkili ve geçici bir durum olarak değerlendirilirken; *Candida*'ya bağlı mortalitenin %40 olduğunun belirlenmesi, kandideminin önemini göstermiştir. Dahası; ciddi organ tutulumu olanların yaklaşık %50'sinde kandidemi saptanamayabilir. Öte yandan kan kültürü (+) çıkanların hepsinde derin enfeksiyon olduğu iddia edilemezse de kanında *Candida* saptanan hastalar, gerek enfeksiyonun akut etkilerini gerekse uzun dönemli sekellerini önlemek üzere tedavi edilmelidir (33).

### **Akut Dissemine Kandidiyaz**

Fulminant bir enfeksiyondur ve genellikle antibakteriyel tedaviye direnç gösteren bir ateş vardır. Nötropenik olan ve olmayan hastalarda görülebilir. En sık rastlanan komplikasyonlar; menenjit, beyin apsesi, renal apse, miyokardit, endokardit, endoftalmit, kütanöz apselerdir (33).

### **Kronik Dissemine Kandidiyaz**

Çoğunlukla, lösemili hastaların nötropenik döneminde ortaya çıkar; herhangi bir organ tutulum belirtisi olmayabilir; ancak ısrarcı ateş vardır. Nötrofil sayısı normale dönse de ateş ve kilo kaybı devam eder. Karaciğer-dalak büyüyebilir; alkalen fosfataz genellikle çok yüksek olup, tomografide çoklu lezyonlar görülür (32).

**Tanı:** Biyopsi materyalinin mikroskopik incelemesinde mantarın görülmesi ile tanı doğrulanır. Ancak kültür pozitifliği %30'dur; kan kültürleri ise negatiftir.

En sık rastlanan etken *C.albicans* ve *C.tropicalis*'dir (31).

### **Gastrointestinal Kandidiyaz**

Ender bir klinik tablodur. En çok ağır durumdaki kanser hastalarında, AIDS'lilerde görülür. Mukozada ülserler oluşur.

Yeni doğanlarda *C.albicans*'a bağlı diyareler olabilmektedir (32).

### **Pulmoner Kandidiyaz**

Ender görülen bir tablodur. Nötropenik hastalarda mikroorganizmanın hematojen yayılımı sonucu; düşük doğum ağırlıklı bebeklerde ise ağız salgısının aspirasyonu sonucu ortaya çıkar. Özgül klinik ve radyolojik bulgular yoktur (31,33).

**Tanı:** Balgam ve bronkoskopi sırasında alınan salgılarda maya varlığı tanı koydurucu değildir; çünkü *Candida*'lar orofarengeal kontaminasyona bağlı olarak balgam kültürlerinin %3-85'inden izole edilebilir. Açık akciğer biyopsisi veya akciğer lezyonlarının perkütanöz aspirasyonu incelemeye uygun klinik materyallerdir (31).

### **Merkezi Sinir Sistemi İnfeksiyonları**

Sık rastlanmayan klinik tablolardır.

#### **Menenjit**

Dissemine kandidiyazın bir belirtisi olarak ya da bağımsız bir klinik tablo şeklinde gelişebilir. Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde veya ventriküloperitoneal şanti bulunan hastalarda, hematogen yayılım sonucu ya da bir travma ile mantarın doğrudan subdural bölgeye inokülasyonuna bağlı olarak ortaya çıkar. Antibiyotiklere yanıt vermeyen menenjitlilerde ya da nörolojik belirtiler ortaya çıkan dissemine kandidiyazlılarda mutlaka akla getirilmelidir (33).

#### **Beyin Apsesi ve Metastatik Ensefalit**

Nadir görülen hastalıklardır. Büyük beyin apseleri fokal nörolojik belirtiler verir; hematogen yayılım sonucu oluşan mikroapseler ise nörolojik bozukluklara yol açmayabilirler.

**Tanı:** BOS'da protein yükselir, glukoz normal ya da düşük düzeyde olabilir; nötrofilik ya da lenfositik pleositoz vardır. En önemli etken *C.albicans*'dır. BOS'un gram boyası ile mikroskopik incelemesinde ve kültüründe maya varlığı tanıyı destekler. Büyük beyin apseleri MRI, CT ile görüntülenebilir (31).

#### **Endokardit**

Tüm endokardit olgularının %2'si *Candida*'lara bağlı olarak gelişir. Enfeksiyon, özellikle protez kalp kapağı olanlarda ve damar içi madde bağımlılarında giderek artış göstermektedir. Yegane özgül tanısal bulgular; büyük vejetasyonlar ve büyük damarların embolizasyonudur (33).

**Tanı:** Kan kültürleri ve embolilerden alınan pıhtıdan yapılan kültürler tanı koydurucudur. Ancak, kapaktan dolaşıma giren mayaların kapiller yatakta süzülmesi sonucu, venöz dolaşıma geçememeleri nedeniyle kandan izolasyon oranı düşmektedir (33,34).



### **Miyokardit**

Endokarditin bir komplikasyonu olarak apse gelişebilir ya da genellikle hematogen yayılım sonucu gelişen dissemine enfeksiyonun bir belirtisi olarak ortaya çıkabilir. *Candida* miyokarditli hastaların %50'si dissemine enfeksiyondan ölür.

**Tanı:** Tanı koymak zordur. Dissemine kandidiyazlı ya da kandidemili hastada saptanan kardiyak apseler, enfeksiyona sekonder olarak değerlendirilir. Lezyonlardan mantarın izolasyonu kesin tanı koydurucudur (33,34).

### **Trombofilebit**

Damar içi araçların varlığı ile bağlantılıdır. Büyük ve çevresel damarlarda kısmi ya da tam tıkanmalar oluşur (33).

**Tanı:** Klinik muayenenin yanı sıra venografi, MRI yardımcı testlerdir. Venden alınan aspirattan mantar üretilir (34).

### **Üriner Sistem Enfeksiyonları**

Diyabetes mellitus, uzun süreli antibiyotik kullanımı, Foley kateter ve üriner sistemde diğer yabancı cisimlerin varlığı risk faktörleridir. Renal toplayıcı sistemde fungus topu ve alt üriner sistemde enfeksiyon gelişebilir (31).

**Renal Kandidiyaz:** Dissemine kandidiyazlı hastaların %80'inde, genellikle organizmanın hematogen yayılımı sonucu gelişir. Apse oluşumu sıktır. Bazen hif kümeleri pelvis ve üreterleri tıkayarak hidronefroza veya anüriye yol açabilir.

**Alt Üriner Enfeksiyon:** Genellikle bir üretral kateterden ya da genital veya GİS'den yayılım sonucu meydana gelir. Diyabetli ya da üriner sisteminde anormallik veya hasar bulunanlar risk altındadır. Kandidüri olgularının çoğu asemptomatiktir (33).

**Tanı:** *C.albicans* en sık rastlanan etken olmakla beraber; üretral kateterli ve diyabetes mellitusluların %30'undan *C.glabrata* izole edilmektedir. İdrardan *C.tropicalis* izolasyonu, dissemine kandidiyazın belirtisi olarak kabul edilmektedir. Semptomatik hastaların idrarında lökositlerle birlikte mayaların varlığı üst idrar yollarında aktif enfeksiyonu gösterir (32).

Sistit olgularında ise mesane mukozasında pamukçuk benzeri oluşumlar sistoskopi ile tanımlanabilir. Kùltürlerin yorumunda 103, 104, 105 maya/ml idrar üst, alt üriner sistem enfeksiyonunu ayırt ettirmediği gibi, kolonizasyon ile aktif

enfeksiyonun ayırımında da kesin fikir vermez. Ancak genel klinik durum ile birlikte değerlendirildiğinde az sayıda maya varlığı bile önemli olabilir (31).

### **Osteomyelit**

Genellikle hematogen yayılım sonucu ortaya çıkar. Bazen aspirasyon ya da kortizon injeksiyonu sırasında ve daha seyrek olarak bir travma sonrası gelişebilir. Kanser hastalarında ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde daha fazla görülür (35).

**Tanı:** Kan kültürü genellikle negatif çıkar. Tanıyı doğrulamak için biyopsi incelemesi ve kültürü gereklidir.

### **Artrit**

Hematojen yayılım ile ya da enfekte kemikten yayılım sonucu veya travmayı takiben mikroorganizmanın direkt inokülasyonu sonucu oluşur. Genellikle omuz, diz gibi büyük eklemler tutulur ve özgül olmayan pek çok semptomlar da belirir.

**Tanı:** Sinoviyal sıvıdan *Candida*'nın üretilmesi tanıda önemlidir (31).

### **Endoftalmit**

Organizmanın hematogen yayılımını ya da oküler travmayı takiben ortaya çıkar. Korioretinit olarak başlar; maküla tutulabilir; körlük olabilir.

**Tanı:** Fundus muayenesinde sarı-beyaz retinal, korioretinal veya vitreoretinal lezyonlar görülür. Vitreusun mikroskopik incelemesinde ve/veya kültüründe mayalar görülebilir veya görülemeyebilir. Kan kültüründe *Candida* üremesi tanıyı doğrular (31, 33).

## **2.9.4. Allerjik Kandidiyazlar**

**İd Reaksiyonları:** Kronik deri ve mukoza kandidiyazlarında hem erken hem de geç tipte "id" denilen ve steril sıvı içeren veziküllerden oluşan allerjik reaksiyonlar ortaya çıkabilir. Ayrıca ekzema, astım, huzursuz barsak sendromu şeklinde allerjik olaylara da rastlanabilir (36).

## **2.10. Ekoloji ve Epidemiyoloji**

*Candida* türlerinin hemen hepsi, dünyada yaygındır. Ancak, *C. wiswanatii* yalnızca Hindistan'da saptanmıştır.

*Candida* türlerinin çoğu ilkel hayvanlardan ve çevreden izole edilmekle birlikte, insan enfeksiyonları genellikle endojen kökenlidir. İnsan vücudunda başta GİS, orofarenks, vajen ve deri olmak üzere, çeşitli bölgelerden *Candida* türleri izole edilebilir. Bu izolatların başında *C.albicans* türü gelmektedir. İzole edilen *C.albicans*

oranlarının kişilere göre farklılığında, yemek alışkanlıkları ve yaş gibi kişisel özellikler etkilidir. Odds'un bir araştırmasına göre ağız boşluğundan izole edilen *C.albicans* oranı % 1.9-41.4 arasında değişmektedir, GİS için bu oran % 0-55 ve vajen için % 2.2-68 arasındadır. *C.albicans*'ı sıklık açısından izleyen *C.tropicalis* en fazla orofarenksden; *C.glabrata* vajenden ve gastrointestinal sistemden izole edilir. Hastanede yatan hastalardaki kolonizasyonun, sağlıklı insanlara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (7).

*C.albicans*, diğer türlere göre, çevreden çok az izole edilir. Bu durum organizmanın parazitik yaşama yüksek adaptasyonunun bir sonucu olabilir. Yiyecek ve içecek kontaminantı olarak en fazla *C.krusei*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii*, *C.kefyr*, *C.glabrata* ve *C.albicans* saptanmaktadır. Örneğin; elma suyu, portakal suyu, domates suyu, üzüm suyu ve limonata en fazla etkilenen içecekler iken; hububat, salatalar, sebzeler ve meyveler de yüksek oranda kontamine olmaktadır. Ek olarak; tavuk, kola, tereyağı ve tuzlu fıstıklar da mayalarla kontamine olabilirler (8).

*Candida* türlerine bağlı nozokomiyal enfeksiyonların ortaya çıkışında, hastane personelinin ve kontamine materyalin rolü moleküler yöntemler ile belirlenmiştir. Maya enfeksiyonlarının prevalanında, son 10 yıldan bu yana artış olduğu belirtilmektedir. Bunda; patolojik ve iyatrojenik immunosupresyon ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımındaki artış başta gelen en önemli iki nedendir. *Candida*'ların 80'den fazla türü bilinmektedir; fakat bunların küçük bir kısmı insanlar için patojendir. Son yıllarda, *C.albicans* dışı türlerin, tıbbi önem kazandığı gözlenmiştir. Ancak, halen *C.albicans*, kandidiyaz olgularından en sık izole edilen etkindir (9).

***C.albicans*:** GİS, vajen ve ağız boşluğu normal flora üyesi olan bu tür, aynı zamanda fırsatçı mantar enfeksiyonlarına yol açan majör insan patojenlerinden biridir.

Klinik izolatlarda serotip A, serotip B'den daha fazladır. Ancak AIDS dahil, immün sistemi baskılanmış hastalar arasında serotip B'nin insidansı son yıllarda artmıştır. Serotip A 5-florositozine (flusitozin) karşı duyarlı iken, serotip B dirençlidir (7).

**C. catenulata:** İnsan hastalıklarından çok seyrek izole edilir. Ancak dışkı, kılsız deri ve ayak derisinde flora elemanı olarak bulunabilir. Onikomikoz etkeni olarak bildirilmiştir (8).

**C. ciferii:** Onikomikoz etkeni olarak izole edilmiştir (8).

**C. dubliniensis:** Bu organizmanın patojen potansiyeli, en çok HIV (+) hastaların ağız lezyonlarından ve HIV (-) hastaların seyrek de olsa kanlarından izole edilmesiyle ortaya çıkmıştır (7,11).

**C. glabrata:** Ağız boşluğundan ve takma diş stomatitli olgulardan en fazla izole edilen türdür. *Candidal* enfeksiyonlarda, etken olarak insidansı giderek artmaktadır. Flukonazole karşı direnç eğilimi, ileride de bu artışın süreceğini göstermektedir (8).

**C. guiliermondii:** Yüzme havuzu, toprak, deniz suyu gibi değişik çevrelerden ve de kurbağalardan, vahşi ve evcil kuşlardan ve insan derisi dahil memelilerden izole edilir. Damar içi madde bağımlılığı olanlarda endokardite yol açabilmektedir. Ayrıca, bir yenidoğan yoğun bakım servisinde, heparin solüsyonlarından kaynaklanan nozokomiyal enfeksiyonda, etken olarak saptanmıştır (7).

**C. haemulonii:** Seyrek olarak kandidemiye yol açtığı bildirilmiştir. Deri enfeksiyonlarına da neden olduğu belirtilmiştir (8).

**C. kefyr:** Bu mantar zaman zaman vajen, kulak, tırnak ve GİS ve üriner sistem ve akciğer enfeksiyonlarından izole edilebilir. Yine de tıbbi öneme sahip mantarlar arasında prevalans açısından son sıralarda yer almaktadır (7).

**C. krusei:** Değişik çevresel kaynaklardan izole edilmekle birlikte, sağlıklı taşıyıcıların mukozal yüzeylerinden seyrek olarak izole edilir. Fırsatçı patojen olarak önemi giderek artan bir mayadır. Nötropenik hastalarda ağır tablo ile seyreden fırsatçı enfeksiyonlara yol açarken, süt bebeklerinde diyareden sorumlu olabilmektedir. Flukonazole karşı doğal direnç göstermesi de önemini artırmıştır; bu özelliği nedeniyle etken olarak izolasyon sıklığında artış beklenmektedir (8).

**C. lipolytica:** Çok seyrek rastlanan ve virülansı düşük bir türdür. Fungemiye yol açması için bir daller içi yabancı cismin varlığı gerekmektedir. Sağlıklı bireylerin dışkı, balgam ve orofarenksinden izole edilebilmektedir (7).

**C. lusitaniae:** Tıbbi açıdan son yıllarda önem kazanan bir türdür. Bağışıklık sistemi çökmüş hastalarda sistemik kandidiyaza yol açmakta ve kan, balgam, üriner

ve GİS örneklerinden izole edilmektedir. Amp-B'ye karşı doğal direnç göstermesi, önemini artırmıştır (7).

***Candida norvegensis:*** Seyrek olarak kandidiyaza yol açan ve son yıllarda önem kazanan bir mayadır. İlk kez, böbrek nakli yapılan ve bağışıklık sistemi baskılanmış bir hastanın kan, periton sıvısı, solunum yolu salgularından izole edilmiştir. Amp-B ve flusitozine karşı dirençlidir (8).

***C. parapsilosis:*** Doğada yaygın olarak bulunduğu gibi, özellikle subungual bölgelerde normal insan florasında da yer alır (7).

Bu türün, yüksek konsantrasyonda glukoz içeren çözeltilerde ve protezlerde kontaminant olarak varlığı dikkat çekmektedir. Yoğun bakım ünitelerindeki sepsis olgularından izole edilmektedir. *C.parapsilosis*'in, kateter uçlarında biyofilm oluşturma özelliğine bağlı olarak intraparenteral beslenen hastalarda izolasyon sıklığı yüksektir. Nozokomiyal enfeksiyonlarda; hastane personelinin ellerindeki ve hastane çevresinde bulunan güvercin pisliklerindeki *C.parapsilosis* kontaminasyonu, kaynak oluşturabilmektedir. Bu tür, damar içi madde bağımlılığı olan kişilerde endokardit nedeni olabilmektedir. Mercek implantasyonunu takiben *C.parapsilosis*'e bağlı endoftalmit olguları da bildirilmiştir (8).

***C. pelliculosa:*** Bitki, toprak ve meyve sularında bulunan bir türdür. Bağışıklık sistemi çökmüş hastalardaki damar içi kateter kökenli fungemi olgularından izole edilmekte olup, yeniden güncellenen mayalar arasında yer almıştır (12).

***C. pulcherrima:*** Çok seyrek olarak bağışıklık sistemi çökmüş kişilerde hastalık etkeni olabilmektedir (28).

***C. rugosa:*** Kanseri ve kateter takılı hastalardan nadiren fungemi etkeni olarak izole edilmiştir (25).

***C. tropicalis:*** *C.albicans*'dan sonra en sık karşılaşılan fırsatçı patojen türdür. Endojen enfeksiyonların yanısıra; yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde görevli personelin elindeki kontaminasyon ile ilişkilendirilen fungemi olguları da bildirilmiştir (7).

***C. utilis:*** Bu tür, etanol üretimi gibi endüstriyel uygulamalarda kullanılmakla birlikte, başta AIDS'li ve kateter takılı olmak üzere bazı hastalarda çok ender olarak kandidiyaza yol açabilmektedir (8).

***C.wiswanathii:*** Candidal menenjit etkeni olarak BOS' tan izole edilmiştir (7).

**C.zeylanoides:** Seyrek rastlanan kandidiyaz etkenlerindendir. Primer fungemi, artrit ve geçici fungemi olgularından izole edilmiştir. Virülansı çok düşük bir türdür ve hastalık oluşturabilmesi için hastanın bağışıklık sisteminin çökmüş olması ve vücudunda tedavisini ya da beslenmesini destekleyen bir aracın takılı olması gerekmektedir (8).

### **2.11. Candida Türlerinin Laboratuvar Tanısı**

*Candida* 'lar normal florada da bulduklarından, laboratuvarlarda karşılaşılan en büyük sorunlardan birisi klinik örneklerde üreyen *Candida* 'ların klinik bir öneminin olup olmadığını tahmin etmek ve rapor edilip edilmemesine karar vermektir. Bu nedenle, laboratuvar verilerin doğru yorumlanabilmesi için iyi bir klinik- laboratuvar işbirliğinin kurulması gerekir (37).

*Candida* 'ların tanımlanmasında klinik örneğin uygun bir şekilde alınıp ekilmesi ve diğer laboratuvar işlemlerinin yapılması gerekir. Örnekler asepsi kurallarına uygun olarak alınıp hızla laboratuvara iletilmelidir. Klinik materyalden *Candida* 'ların izolasyonu ve identifikasyonu için bir dizi işlem yapılır (38).

#### **Primer izolasyon:**

Primer izolasyon için klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan besiyeri SDA'dır. Primer izolasyon besiyerlerinin bileşimine bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremesini baskılayarak seçicilik sağlamak üzere antibiyotikler eklenebilir (Sikloheksimid, gentamisin, kloramfenikol gibi). Ayrıca ticari olarak hazırlanmış, antibiyotik içeren Mycosel (BB1), Mycobiotic Agar (Difco) gibi seçici besiyerleri kullanılabilir. Sikloheksimid'in, bazı türlerin üremesini kısmen veya tamamen inhibe etmesi nedeniyle, aynı zamanda sikloheksimid içermeyen besiyerine de ekim yapılmalıdır (39).

Kültür için alınan örnekler uygun besiyerine ekildikten sonra 26 ve 37 °C'de ayrı ayrı inkübe edilirler. Patojen *Candida* 'ların çoğu 26 ve 37 °C'de birkaç günde ürerler. 37 °C'de üreyememe saprofitliği ortaya koyan bir özelliktir (13). Kültür tüplerinin kapakları havalanmayı sağlamak üzere hafifçe gevşetilmelidir. İnkübatör nemi %30-40'a ayarlanmalıdır. Nem yeterince yüksek değilse inkübatöre ağzı açık genişçe bir kap içerisinde su yerleştirilir (40).

#### **İdentifikasyon:**

Geleneksel olarak *Candida* 'ların identifikasyonu makroskobik ve mikroskobik olarak morfolojik karakterlerinin incelenmesi ve biyokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesiyle

yapılır. Morfolojik karakterleri olarak; hücre büyüklüğü ve şekli, koloni rengi ve görünümü, hif ve/veya pseudohif üretimi, germ tüp veya klamidospor oluşturma yetenekleri gibi özellikleri değerlendirilir. Biyokimyasal özellikleri olarak ise; karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyonu, üre hidrolizi ve nitrat asimilasyonu değerlendirilir (41).

### **Germ Tüp Testi**

*Candida*'ların identifikasyonunda ilk adımdır. Hızlı sonuç veren, uygulaması kolay, *C.albicans*'ın diğer kandidalardan ayrılmasını sağlayan basit ve çok değerli bir testtir. Ancak *C.albicans* kökenlerinin hepsinde pozitif olmayıp yalancı pozitiflik vardır. *C.albicans* kökenlerinin %95-97'si germ tüp oluşturur *C.albicans* dışında *C.stellatoidea* da germ tüp üretir. *C.tropicalis*, *C.kefyr*, *C.krusei* de yalancı germ tüp oluşumu görülebilir (37).

Germ tüp, blastospordan orjin alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca hiç kabarıklık yapmayan bir filament olarak gözlenir. Yalancı germ tüp de ise daha büyük bir blastospor vardır ve hif ile bağlantı bölgesinin daha belirgin olduğu gözlenir (38). İnsan serumu, yumurta albumini, sığır serum albumini, koagüle tavşan plazması, koyun serumu, Doku Kültür Medium 199 (Difco), Trypticase Soy Broth (BBL) ve çeşitli peptonlu besiyerleri germ tüp deneyi için kullanılabilir. Rutinde en sık insan serumu tercih edilir. Germ tüp testi ile yapılan çalışmalarda, karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon sonuçları ile uyumu yüksek bulunmuştur (41).

### **Hif, Blastospor ve Klamidospor Yapımı**

Hif, yalancı hif, blastospor ve klamidospor üretme özellikleri mikroskopik olarak değerlendirilir. Bunun için Pirinç ekstresi-Tween 80 agar, Cornmeal-Tween 80 agar, Wolin Bevis agar, Oxgall agar veya Czapek Dox-Tween 80 agar besiyerlerinden birisine test edilen maya kolonisinden bir parça alınıp iğne öze ile birbirine paralel çizgiler şeklinde ekim yapılır. Üzerine steril bir lamel yerleştirilip 27 °C'de üç gün inkübe edilir. Besiyerinin derinliğine ekim, kapatılan lamelin ortamın oksijenini azaltması ve Tween 80'in yüzey gerilimini düşürmesi klamidospor ve yalancı hif üretimini artırır (42).

### **Biyokimyasal testler**

*Candida* türlerinin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri temel alınarak identifikasyonu yapılır. Bunlar; kolonilerin ilk üretilme besiyerindeki görünümü ve rengi, hücrelerin büyüklüğü ve şekli, hif ve/veya pseudohif oluşumu, germ tüp

oluşturma yeteneği, klamidospor oluşturma yeteneği, karbohidrat asimilasyon, nitrat asimilasyon, karbohidrat fermantasyonu, ureaz testidir (43)

#### **Karbohidrat Asimilasyon Testi**

Mayaların oksijen varlığında karbon kaynağı olarak spesifik bir karbohidratı kullanma yeteneklerini ortaya çıkarır. Wickerham yöntemi, oksanografik yöntem ve ticari idantifikasyon kitleri kullanılarak yapılabilir (43).

#### **Nitrat Asimilasyon Testi**

Karbohidrat asimilasyon testine benzer ve mayaların nitrojen kaynağı olarak nitratı kullanma yeteneklerini ortaya koyar (37).

#### **Karbohidrat Fermantasyon Testi**

Fermantasyon, karbohidratların CO<sub>2</sub> ve etanol üretimiyle sonuçlanan anaerobik kullanımıdır. Modifiye Wickerham tekniği ile yapılabilir. Fermantasyon tüplerindeki pH değişikliği fermantasyonu göstermez. Durham tüpünde gaz kabarcığının gözlenmesi ile ortaya konur. *Candida* türleri ile *Cryptococ* ve *Rhodotorula* gibi nonfermantatifleri ayırmada yararlıdır. Karbohidrat asimilasyon testlerine göre kaba, zor ve daha az güvenilir olduğundan rutin idantifikasyonda pek önerilmez (37).

#### **Üreaz Testi**

Christensen's üre agarda üre hidrolizi üreaz aktivitesini gösterir. *C.krusei*, ve *C.lipolytica* üreyi hidroliz edebilir (37).

#### ***Candida* Türlerinin Dokuda Histopatolojik Görünümü**

*Candida* türleri doku kesitlerinde maya hücresi ve pseudohifler yada sadece maya hücreleri şeklinde görülürler. *C.albicans* diğer mayalardan, maya hücreleri yanında hif ve/veya pseudohiflerin de görülmesi ile ayrılır. Maya hücreleri tek tek veya çok sayıda tomurcuklanma gösteren, yuvarlak veya oval, 4-8 µm boyutlu hücrelerdir (38).

#### **Serolojik Testler**

Mikolojik hastalıkların tanısında mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler yanında serolojik testlerden de yararlanılabilir. Serolojik testler tanısal önemleri yanında hastalığın seyrinin izlenmesinde de yararlıdırlar. Ancak serolojik testler, teknik uzmanlara gereksinim olması, reagenlerin zor hazırlanması ve maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle rutinde kullanımları sınırlıdır. Son yıllarda sistemik mantar hastalıklarında belirli bir artışın olması, yeni mantar antijenlerinin elde edilmesine, özelliklerini



belirlemeye ve yeni teknolojik gelişmelere yönelik çalışmaları yoğunlaştırmış ve serolojik testler kullanıma girmeye başlamıştır. Bu testlerin çoğu antikor ölçmeyi amaçlayan testlerdir. Aspergilloz, blastomikoz, histoplazmoz, kandidoz gibi hastalıkların tanısında yardımcı olmaktadır. Ancak çapraz reaksiyonların çok fazla meydana gelmesi, geçirilmiş enfeksiyon ile aktif enfeksiyonu ve kolonizasyon ile yaygın hastalığı ayırmada başarısız olmaları bu testlerin değerini azaltmaktadır (7,38).

Mantar antijenlerini göstermeye yönelik testlerin geliştirilmesine çalışılması daha uygun görülmektedir. Özgül antijenleri göstererek tanıyı sağlamak yüksek derecede özgül ama duyarlılık açısından klasik yöntemleri tamamlayıcı özellikte görülmektedir. Kriptokokkoz ve histoplazmoz tanısında antijenleri saptama yöntemleri başarılı olurken, aspergillus ve *Candida* gibi fırsatçı mantarlarda bu yöntemlerin duyarlılığı düşük bulunmaktadır. Bu problemi çözebilmek için çok saf antijenleri kullanmak, monoklonal veya adsorbe poliklonal antikorlan ve çok duyarlı yöntemleri geliştirmek gerekmektedir (38).

Mantarların polisakkarit antijeni galaktomannan (GM) çalışmaların en önemli odağıdır. Çeşitli yöntemlere duyarlılığı %95'in üzerinde, özgüllüğü %29-90 arasında bildirilmektedir. Kriptokokun kapsüler polisakkariti, histoplazmanın polisakkarit antijeni, blastomiçeslerin yüzey proteini (WI-I), A ve AWSE antijenleri, *Candida*'ların asit proteaz, 48kDa enolaz enzimi, 47 k Da, 29 k Da sitoplasmik antijenleri ve glikoproteinleri gibi mantar antijenleri hastaların vücut sıvılarında ve serumlarında gösterilmektedir. Bu mantar antijenleri; Lateks partiküler aglütinasyon (LPA), Liposome İmmünoassay (ICON-test), İmmünoelektroforez (CIE), Radioimmünoassay (RIA), İmmünoblotting-Western blotting (WB), Dot-İmmünoassay, Dot-Enzim İmmünoassay, Enzim İmmünoassay (ELISA Çift Antikor Sandviç EIA, Avidin-Biotin ile Güçlendirilmiş EIA) gibi yöntemlerle gösterilmektedir (38).

Mannan veya sitoplasmik proteinler gibi antijenik komponentler veya D-arabinitol gibi karakteristik metabolik ürünlerine karşı antikor aranması serolojik tanıda kullanılır. *Candida*'lar gibi normal florada bulunan mantarlara karşı sağlıklı kişilerde de antikor gelişmesi test sonuçlarını değerlendirmekte güçlükler neden olmaktadır. Antikor testi için 1/32 veya üzerindeki titre ya da üç hafta arayla titrede dört kat ve üzerindeki artış hastalığın tanısında değerli kabul edilmektedir. Daha düşük titreler ve aralıklı uygulanan

testlerde dört katın altındaki artış, erken enfeksiyonu veya nonspesifik çapraz reaksiyonu işaret eder (44).

Ig M sınıfı antikorlar akut enfeksiyonu gösterir. Enfeksiyonun ikinci haftasında yükselir, altı aydan sonra düşer. Ig G antikorları, Ig M antikorlarından kısa bir süre sonra ortaya çıkar, yaklaşık 6-12 haftada pik yapar ve enfeksiyondan aylar sonra Pozitif kalır. Bu nedenle tek bir defa yüksek bulunmuş Ig G titresi yeni veya geçirilmiş enfeksiyonun ayırımında kullanılamaz. Mantar antijenlerine karşı oluşan antikorları göstermekte son yıllarda; Radioimmünoassay (RIA), immünoblotting-Western blotting (WB), indirekt immün Floresans (IFA),Enzim immünoassay (HJSA, Çift Antikor Sandviç EIA, Avidin-Biotin ile Güçlendirilmiş EIA) gibi yöntemler kullanılmaktadır (45).

#### **Moleküler Biyolojik Yöntemler:**

Klinik mikoloji laboratuvarında moleküler biyolojik yöntemlerin rolünü ortaya koymak için büyük prospektif çalışmalara gereksinim vardır. Yeni çalışmalar, mantar türlerine özgü DNA dizilerini klinik örneklerden saptama yöntemlerinin mantarların tanısında uygun ve etkin olduğunu ancak yeterli olmadığını göstermektedir. Mikolojide, moleküler yöntemlerin alışılmış mikroskopik bakı ve kültürün yerini tamamen alması henüz erken görünmektedir (46).

Enfeksiyon etkeni aranmasında, moleküler yöntemlerin kullanılmasında örnek seçimi ve işlemi önemlidir. *Histoplasma capsulatum* gibi bir mantar aranacaksa, her klinik örnek çalışılabilir. Buna karşın, ağız salgılarında *C.albicans* DNA'sının bulunması anlamlı olmayabilir. Serum, ince aspirasyon materyeli gibi, steril bölge örneklerinden Candidal DNA saptanması ise tanı yönünden anlamlıdır. Örneklerden nükleik asit izolasyonu için çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), ile 1 pg'den az fungal genomik DNA veya 1-15 fungal hücre varlığında çok büyük bir duyarlılıkla tanı konulabilmektedir. PCR'da amplifiye edilecek gen parçasının büyüklüğü belirlenmelidir. Tüm mantarlarda bulunan rDNA parçası seçilebileceği gibi, tek türe, hatta türlere özgü DNA saptanacak şekilde test geliştirilebilir. Amplifikasyon ürünlerinin küçük olması testin duyarlılığını artırır (46).

Çoğaltılan ürün saptanmasında hız ve kolaylık açısından en uygun yöntem ethidium bromid ile jel analizidir. Ancak duyarlılık artırılmak istenirse, radyoaktif dot blot veya Southern blot analizleri kullanılır. Kemilüminesans ve enzim kullanan non-radyoaktif sistemler de geliştirilmiştir (47).

Mantar epidemiyolojisini araştırmak için de moleküler yöntemler başarıyla uygulanmaktadır. *Aspergillus*, *Candida* türleri ve *Histoplasma capsulatum* bu yönden en çok ilgilenilen mantarlardır. Genetik değişiklikler de bu yöntemlerle ortaya konulabilir. Bu amaçla küçük miktarlarda nükleik asitlerin yeterli olduğu PCR, ligaz zincir reaksiyonu (LCR), QB sistemi ve nükleik asit dizisi temelli amplifikasyon yöntemi (3SR) gibi gen amplifikasyonuna dayalı mikolojik parmak izi çıkarma yöntemleri kullanılabilir (48).

## 2.12. Tedavi

Artan kemoterapi gereksinimi ve transplantasyon gibi tedavilere paralel olarak nozokomiyal *Candida* enfeksiyonları insidansı artmıştır (49,50). *Candida* türleri kan kültürlerinden üretilen patojenler arasında ABD hastanelerinde üçüncü veya dördüncü sırayı almaktadır. Antifungal tedaviye rağmen kandidemilerde mortalite oranı artmıştır (51).

Mantar hücreleri ökaryotik yapıda olduğundan memeli hücre yapısına çok benzerler. Bu durum protein, DNA ve RNA biyosentezini inhibe eden antifungal ilaçların insanlar için toksik özellikte olması ve sonuç olarak bu alandaki ilerlemelerin yavaşlamasına yol açmaktadır (52). Antifungal ilaç gelişimi için son yıllarda birçok çalışma yapılmasına karşın henüz dokuz ilaç lisans alabilmiştir.

Bunlar (52):

**1-Polyen grubu:** Amp-B ve lipit formülasyonları (Polyen Amp-B, Lipozomal Amp-B, Amp-B lipid kompleks, Amp-B kolloidal dispersiyon), Nistatin

**2-Azoller:** Triazoller: Flukonazol, Itrakonazol,

İmidazoller: Ketokonazol, Mikonazol

**3- Primidin sentezi inhibitörleri:** Flusitozin

**4- Ekinokandinler:** Silofungin, Anidulofungin, Kaspofungin, FK463

Tablo 2.2'de (76,78) klinikte sık kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları özetlenmiştir.

**Tablo 2.2.** Klinikte sık kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları

<b>Antifungal Ajan</b>	<b>Etki Mekanizması</b>
<b>Polyenler:</b> Polyen Amp-B Lipozomal Amp-B Amp-B lipid kompleks Amp-B colloidal dispersiyon	Mantar hücre duvarı ergosteroline bağlanarak hücre duvarı geçirgenliğini artırır. Özellikle hücre içi K <sup>+</sup> kaybı hücre canlılığının yitirilmesine neden olur.
<b>Primidin Sentezi İnhibitörleri:</b> 5-Flusitozin	RNA ve DNA sentez inhibisyonu yapar.
<b>İmidazoller:</b> Mikonazol Ketokonazol	Sitokrom P450'nin hem kısmına bağlanarak lanosterolün $\alpha$ -demetilasyonunu inhibe ederek ergosterol sentezini inhibe eder.
<b>Triazololler:</b> Flukonazol Itrakonazol Vorikonazol	İmidazollerle aynı
<b>Terbinafin</b>	Squalen epoksidaz inhibitörü

### 2.12.1. Polyen Grubu Antifungaller:

#### Amfoterisin-B (Amp-B)

*Streptomyces nodosus*'un ürettiği bir makrolid antibiyotiktir. Bilinen en güçlü antifungal ajandır, ancak toksik etkileri kullanımda önemli sınırlamalar getirir. Duyarlı fungus türlerinin hücre membranında bulunan sterollere bağlanır. Hücre membran permeabilitesini bozarak hücreye ait makromoleküller ve iyonların kaybına bağlı olarak fungusit etki yaparlar. Hücredeki konsantrasyonuna göre fungostatik veya fungusit etki gösterebilirler. Bakteri hücre membranında ergosterol bulunmadığından antibakteriel etkinlikleri yoktur. Oral ve intramusküler yoldan absorpsiyonu düşük olduğundan intravenöz uygulanır. Üriner enfeksiyonlarda keseye irrigasyon şeklinde lokal olarak da verilebilir (51).

İn vitro etki spektrumu, mayalar, dimorfik runguslan ve flamantöz oportunistik fungusların çoğunu kapsar. BOS'a geçişi zayıf olmasına rağmen *Candida* ve kriptokok menenjitinin tedavisinde tek basma veya 5-florositozin ile birlikte kullanılmaktadır. Koksidioidal menenjitin tedavisinde intratekal uygulanır (52).

Fungusların çoğu  $\leq 2$  ug/ml konsantrasyondaki Amp-B'ye duyarlıdır. Dirençli suşlar genellikle Amp-B tedavisi sonrası ortaya çıkar. Direnç mekanizması genellikle hücre membranındaki Amp-B bağlayan yüzey ergosterolünün kaybıyla ilişkilidir (53).

Amp-B'ye dirençli kökenlerin genellikle uzamış granülositopenili hastalarda ortaya çıkması, sitotoksik kemoterapi veya radyoterapinin dirençli mutantlar oluşturmaya bağlanmıştır . Sterol sentezini bloke eden azol grubu antifungal ajanlar, Amp-B'nin hedef yapısını ortadan kaldırarak Amp-B'ye direnç gelişimine neden olurlar.Nefrotoksik etki, en ciddi yan etkisidir. İlacı kullananların hemen tümünde böbrek hasarına ait bazı bulgular ortaya çıkmaktayken kalıcı böbrek hasarı total doza bağlı olarak % 17-44 arasındadır (54).

Son yıllarda ilacın toksisitesini azaltmak üzere amfoterisin metil ester, N-D-ornitil Amp-B metil ester ve lipozomal Amp-B gibi bileşikler geliştirilmiştir. Fosfolipid taşıyıcılar, Amp-B 'nin kinetiği, doku dağılımı ve toksik/terapötik indeksini arttırmaktadırlar. Hepatoselüler kandidiazis ve pulmoner aspergillozis gibi derin yerleşimli fungal enfeksiyonların tedavisinde denenmektedirler. Hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarda genellikle olumlu sonuçlar alınmakla birlikte daha nesnel değerlendirmeler için kontrollü ve randomize klinik çalışmalara gereksinim vardır (55)

#### **Nistatin:**

İlk olarak 1950' de *Streptomyces noursei*'den izole edilmiş polyen grubu bir antimikrobiktir. Duyarlı fungusların stoplazmik membranındaki sterole bağlanarak bu yapının harap olmasına ve esansiyel metabolitlerin kaybına yol açar. Aspergillus, dermatofitler ve bazı dimorfik funguslara etkilidir. Toksisitesinden dolayı parenteral olarak kullanılamaz. Mukokutenöz kandidiaziste topik ve gastrointestinal kandidiaziste oral olarak uygulanır. İlacın sistemik kullanımına potansiyel sağlamak üzere lipozomal nistatin ile çalışmalar yapılmaktadır (56).

#### **2.12.2. Azoller**

##### **İmidazoller**

Bu bileşiklerin etki mekanizması, memeli hücrelerinde az olmak üzere sitokrom P-450 (14- $\alpha$  desmetilaz) enziminin inhibisyonudur. Bu etki sonucu ergosterol sentezi bloke edilir ve membran permeabilitesi değişir (49).

İnsanlarda kullanıma uygun olduğu bildirilen ilk üç azol bileşiği, klotrimazol (1969), ekonazol (1969) ve mikonazol (1970)'dur. İlk iki ilaç geniş spektrumlarına rağmen kutenöz ve mukokutenöz kandidiazis olgularında topik ajan olarak uygulanmaktadır. Mikonazol sistemik fungal enfeksiyonların tedavisinde intravenöz olarak kullanılabilen ilk azol türevidir, ancak toksisitesi ve kriptokokal menenjitte görülen yüksek relaps nedeniyle klinik kullanımı sınırlıdır (51). 1977'de oral olarak iyi absorbe edilen ketokonazol geliştirilmiştir. İn vitro etki spektrumu mikonazolden daha geniştir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda lokalize veya sistemik fungal enfeksiyonların tedavisinde Amp-B'ye iyi bir alternatiftir. Santral sinir sistemi enfeksiyonlarında BOS'a geçişi sınırlı olduğundan tercih edilmez (51). Hepatotoksik yan etkisi ve ilaç etkileşiminin, fazla olması yanında intravenöz uygulanamaması sistemik kullanımını sınırlar. Mikonazol ve Ketokonazol uzun süredir klinik kullanımda olmalarına rağmen direnç son derece azdır (52).

### **Triazoller**

Terkonazol, vajinal kandidiazis ve dermatomikozların topikal tedavisi için geliştirilmiş ilk triazoldur. Diğer önemli triazoller, Flukonazol ve Itrakonazoldur. Itrakonazol oral absorpsiyonu ve dokulara dağılımı iyi, serum yarı ömrü uzun, BOS'a geçişi zayıf lipofilik bir ilaçtır. Mikonazol ve Ketokonazole göre fungal hücre sitokromlarına daha spesifik bağlandığından toksisitesi düşüktür. Lokalize ve sistemik enfeksiyonlar, dermatomikozis, oral ve vajinal kandidiazis tedavisinde kullanılırlar. Flukonazol diğer azollere zıt olarak BOS' a geçişi iyi olan tek azol türevidir. Böbreklerden değişmeden atılır, serum yarılanma ömrü uzundur ve günlük tek dozla yüksek plazma seviyelerine ulaşılır (57). Amp-B tedavisi başarısız olmuş AIDS' li hastaların kriptokokal menenjitinde ve nötropenik hastaların üst gastrointestinal ve kronik dissemine kandidiazisinde etkili bulunmuştur. Oral ve intravenöz preparatlarıyla fungal enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen bir ajandır, ancak dirençli *C.albicans* kökenleri tespit edilmiştir (58)

### **2.12.3. Primidin Sentezi İnhibitörleri**

#### **5-Florositozin**

5-Florositozin, başlangıçta antitümör ilaç olarak geliştirilmiş bir antimetabolittir . Fungus hücre membranındaki permeazlar tarafından hücre içine alınıp 5-florourasile dönüştürülerek RNA yapısına girer ve RNA yapısını bozar.

Diğer bir metaboliti olan florodeoksiüridin monofosfat, DNA sentezini bloke eder. Amp-B ' ye göre etki spektrumu daha dar, toksisitesi daha düşüktür (59).

MIC <12.5-16 ug/ml ise test edilen organizma 5-Florositozine duyarlı kabul edilmektedir. Direnç önemli bir problemdir. Duyarlı mikroorganizmalar permeabilite değişikliği, enzim modifikasyonu ve purin ve pirimidin gibi yarışmacı metabolitlerin varlığı ile tedavi sırasında direnç geliştirebilirler. *C.neoformans* ve bazı *Candida* türlerinde % 10 kalıtsal direnç söz konusu iken, tedavi sırasında % 5 edinsel direnç gelişmektedir. Bu nedenle fungal enfeksiyonların tedavisinde tek başına kullanılamaz. En önemli terapötik kullanımı, kriptokokal menenjitin tedavisinde Amp-B ile kombinasyonudur. Kombinasyondaki sinerjizm 5-Florositozinin hücre içine alınmasındaki artış ile ilgilidir (60).

#### **2.12.4. Ekinokandinler:**

1970'li yıllarda geliştirilen ilk ekinokandin Silofungin'dir (52). Çözücüsünün (polietilen glikol) toksik etkilerinden dolayı kullanımdan kaldırılmıştır. 1980-1990'lı yıllarda suda çözünen Anidulofungin, Kaspofungin ve FK463 geliştirilmiştir (61).

Asetillenmiş siklik heksapeptid yapısındadır. Mannan sentezi ve nükleik asitler etkilenmeden,  $\beta$ -(1-3) glukan sentetaz enzimi inhibe olur (52). Ergosterol ve lanosterol bileşimi azalan hücre duvarında kitin ise artar. Bu hücre duvarı kalınlaşmış, tomurcuklu ama tomurcukların ana hücreden ayrılmadığı, hızla yıkıma giden bir hücredir (62).

Etki spekturumları dardır. *Candida*, *Aspergillus* türleri ve *Pneumocystis carinii*'ye karşı fungusid aktiviteli lipopeptidlerdir. Azollere karşı dirençli *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde, güvenilir ve etkin bir seçenek olarak kullanılabilir (62).

#### **2.13.5. Yeni Antifungaller:**

##### **Vorikonazole:**

Yeni kuşak azollerden olup maya türü mantarlarda in vitro yüksek aktiviteye sahiptir. Flukonazol ajanının sentetik derivesidir (55). Flukonazol'un triazole halkasına bir pirimidin ve  $\alpha$ -metil grup eklenmesi ile elde edilmiştir ve flukonazol ile karşılaştırıldığında daha geniş aktiviteye sahiptir (56).

Vorikonazolde de mekanizma diğer azol grubu antifungaller gibidir. Mantar hücre membranında ergosterol sentezini sağlayan stokrom P450 (CYP450)- 14- $\alpha$ -lonasterol dimetilin inibisyonu sağlayarak etki gösterir (56).

Birçok *Scedosporium/Pseudallesheria* ve *Fusarium* ve İnvaziv Aspergilloz enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olarak kullanılmaktadır (49,56). Bu ilacın etkisi flukonazol'den daha iyidir (49,56).

#### **Lipozomal Nistatin:**

Anorex Pharmaceuticals tarafından geliştirilmiş, başta *Candida* türleri olmak üzere, *C. neoformans* ve *Aspergillus* türlerine de etkili bir antifungaldir. Normalde oral olarak emilmemekte ve parantral olarak ciddi toksik reaksiyonlar geliştirmektedir. Dimisterol gliserol içeren lipozomlara bağlanarak toksik etkisi azaltılmıştır (49,56). Lipozomal Nistatinin etki mekanizması nistatin ile aynıdır. Lipozomlar nedeniyle RES hücrelerine giriş ve enfeksiyon bölgesine taşınması nistatinden daha kolaydır (49,56).

#### **Terbinafin:**

Kullanıma 1990'lı yılların sonunda geçen bir antifungaldir. Ergosterol sentezini squalen epoksidazı inhibe ederek engeller, böylece hücre zarında skualen oksitleri birikir (29,62). Sonuçta hücre zarında ergosterol yoksunluğu gelişir. Dar spektrumludur. Lipofilik yapıdaki terbinafin dermis, epidermis ve yağ dokusunda yoğunlaşır (63).

#### **2.13. Antifungal Duyarlılık Testleri (ADT):**

Mayalara bağlı enfeksiyonlarda artış olması ve özellikle bazı dirençli *Candida* türlerinin daha sık olarak karşımıza çıkmasının yanında, sağaltımda kullanılabilecek yeni ajanların üretilmesi ve antifungal direncin bildirilmesi nedeni ile ADT'leri hasta sağlığının önemli bir ögesi haline gelmiştir (64).

Bunun için; antifungal ajanların aktivitelerini güvenilir biçimde, *in vivo* aktivite ile paralel ve tedavi sonuçlarını ölçebilen, duyarlı mikroorganizma topluluğu içinde dirençli suşların gelişimini saptayabilen ve yeni üretilen ajanların tedavi güçlerini değerlendirebilen testlere gereksinim ortaya çıkmaktadır (65).

CLSI'nin mayalar için duyarlılık testi geliştirmesinden önce MİK sonuçları güvenilir değildi. ADT sonuçları (inokulum miktarı, inkübasyon ısı ve süresi, besiyeri, pH, MİK son nokta tayini gibi) testte kullanılan teknik ile incelenen



fungusun ve antifungal ajanın özellikleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Bu nedenle ADT standardizasyona ilişkin çalışmalar önem kazanmıştır.

ADT geliştirilmesi ve standardizasyonu için 1982 yılında CLSI bünyesinde ADT alt komitesi kurulmuştur. Bu komite birçok laboratuvarla yaptığı ortak çalışmalar sonucunda mayalar için makrodilüsyon yöntemini standart referans yöntem olarak önermişlerdir. Böylece, CLSI ADT'in standardizasyon çalışmalarını ortak bir görüş olarak M27-P, M27-T ve M27-A belgeleri ile yayınlamışlardır (Tablo 2.3) (66).

Zaman alıcı, pahalı, rutinde uygulanımı zor bir yöntem olan makrodilüsyon yöntemi daha kullanışlı, kolay, pratik olan, mikrodilüsyon ve E test gibi klinik testler için alt yapı oluşturmuştur.

Tablo 2.3'de M27 ADT'in temel prensipleri özetlenmiştir (67).

**Tablo 2.3 :** CLSI M27 antifungal duyarlılık testi yönteminin temel prensipleri

Özellik	Standart
<b>Yöntem (M27-T)</b>	Makrodilüsyon (Son hacim 1 ml) Mikrodilüsyon (Son hacim 200 µg/ml)
<b>İnokulum Hazırlanması</b>	0,5 McFarland bulanıklık standardına göre spektrofotometrik ölçüm ile
<b>İnokulum Konsantrasyonu</b>	$0,5-2,5 \times 10^3$ maya hücresi/ml
<b>Besiyeri</b>	RPMI 1640
<b>Tampon</b>	Morfolinopropansülfonik asit (MOPS) 0,165 M
<b>pH</b>	7
<b>İnkübasyon Isısı</b>	35°C
<b>İnkübasyon süresi</b>	48 saat ( <i>C. neoformans</i> için 72 saat)
<b>MİK Duyarlılık/ Dirençlilik Sınırı Saptanması</b>	Amfoterisin B: Bulanıklığın görülmediği konsantrasyon Azoller ve Flusitozin: Bulanıklığın %80 azaldığı konsantrasyon

CLSI M27 standart makrodilüsyon yöntemine alternatif mikrodilüsyon ve agar difüzyon testleri (E test) de geliştirilmiştir ve standart yöntemi ile uyumlulukları %76-100 arasında değişmektedir (Tablo 2.4) (67,68).

**Tablo 2.4:** Alternatif antifungal duyarlılık testleri

<b>Test yöntemi</b>	<b>MİK değeri belirleme yöntemi</b>	<b>Standart makrodilüsyon yöntemi ile uyumu (%)</b>
<b>Mikrodilüsyon</b>	Görsel	≥ 90
	Spektrofotometrik	89-100
	Kolorimetrik	≥90
<b>E Test</b>	Görsel	76-100
<b>Disk Difüzyon</b>	Görsel	80

Mikrodilüsyon yöntemi, prensip olarak referans yöntemi ile aynıdır. Mikroplak çukurlarındaki ilaç konsantrasyonları son konsantrasyonun iki katı şeklinde olacak biçimde ayarlanır. Başlangıç inokulum sayısı referans yöntemin iki katı olacak şekilde ( $1-5 \times 10^3/\text{ml}$ ) hazırlanmaktadır (64,67).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM:

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 01.01.2005 ile 01.09.2006 tarihleri arasında gönderilen çeşitli örneklerden izole ettiğimiz 250 *Candida* suşu çalışmaya alındı.

#### 3.1. İzolasyon

Laboratuvara gelen klinik örnekler rutinde kullanılan kanlı, Sabouraud Dekstroz Agar (Oxoid, England) besiyerlerine ekimleri yapıldı. 26 °C ve 37 °C inkübasyona bırakıldı. Üremeler günlük olarak kontrol edildi ve 72 saat sonunda üremesi olmayan örnekler çalışma dışı bırakıldı.

*Candida*'ların SDA'da hamur kıvamında beyaz ve krem renkli, genellikle düzgün sınırlı ve kendine özgü maya kokusu olan koloniler oluşturduğu gözlemlendi. Tipik koloniler mikroskopta incelemeye alındı.

#### Mikroskopi

Kanlı ve SDA besiyerinde üreyen şüpheli kolonilerden lam-lamel arası preparat ve gram boyama hazırlandı. Işık mikroskopunda X400 büyütmede incelendi.

Lam-lamel preparasyonu için; lam üzerine bir damla serum fizyolojik (%0,85'lik NaCl) damlatıldı. Üreyen koloniden öze yardımı ile bir miktar alıp serum fizyolojik içine süspanse edildi ve üzerine lamel kapatılıp mikroskopta incelendi. Yine şüpheli kolonilerden bir miktar lam üzerine serum fizyolojikle yayıp gram boyama yapıldı.

Saf olduğu anlaşılan kültürlerden, identifikasyonun ileri aşamalarda kullanılmak üzere yatık SDA tüplerine pasajlandı ve +4 °C'de saklandı. Çalışmadan bir gün önce saf olduğu görülen kolonilerden tek kolonilerden tek koloni alınarak SDA'ya tekrar pasaj yapıldı ve çalışmaya bir gece inkübe edilen suşlar alındı.

#### 3.2. İdentifikasyon

*Candida* suşlarının türlerini tayin edebilmek amacıyla suşun; germ tüp yapımı, klamidospore oluşumu, karbonhidrat fermantasyon reaksiyonları gibi özellikleri sırasıyla incelendi. Suş tanımlamasında API ID 32 C referans yöntem olarak kabul edildi.

### **Germ-tüp Testi**

Maya kolonisinden küçük bir parça, 0,5 ml insan serumu içerisine eklenip karıştırıldı ve 37 °C'de 2,5-3 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda cam tüplerdeki karışımlardan 20 µl alınarak lam-lamel arasında ışık mikroskopunda X400'lük büyütmede incelendi.

Blastospordan köken alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca belirgin kabarıklık olmayan filamentler şeklindeki yapılar germ-tüp olarak değerlendirildi. Mikroskopik incelemede germ tüpe benzeyen, ancak ana hücreden boğumlanarak dışarı doğru uzama gösteren, hifal yapıların duvarlarının birbirine paralellik göstermediği yalancı tüp oluşumları da izlendi. Germ tüp oluşturan maya kökenleri *C.albicans* olarak tanımlandı.

### **Klamidospor Oluşumunun İncelenmesi:**

Klamidospor oluşumu Pirinçunu-Tween 80 Agar (PT 80 Agar) besiyeri kullanılarak araştırıldı.

PT 80 Agar aşağıdaki şekilde hazırlandı;

Distile su içerisinde 50 g pirinç kaynatılıp birkaç katlı gazlı bezden süzüldü. Bunun içine 20 gram agar, 20 gram glikoz, 10 ml Tween 80 eklendi. Distile su ile 1 litre'ye tamamlandı. Daha sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril petri kaplarına döküldü.

SDA'ya taze pasajlanmış saf maya kolonilerinden iğne uçlu öze yardımıyla bir parça alınıp PT 80 Agarda birbirine paralel üç çizgi şeklinde ekim yapıldı. Ekimlerin besiyerini yırtmadan ve özeyi dibine kadar batırmadan yapılmasına dikkat edildi. Her bir maya için ekim yapıldıktan sonra ekim çizgileri üzerine gelecek şekilde steril lamel kapatıldı ve 26 °C'de 48-72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda ışık mikroskopunda X100 ve X400 büyütme ile klamidospor, blastospor, pseudohif ve hif oluşturma özellikleri yönünden incelendi.

Değerlendirmeler mayaların bu besiyerindeki mikroskopik görünümüne göre yapıldı. Pseudohiflerin uçlarında ve yan dallarında görülen büyük, kalın duvarlı, yuvarlak klamidosporlar ile hif birleşme yerlerindeki blastospor kümeleri *C.albicans*; ağaca benzer şekilde dizilmiş uzun blastosporlar ve pseudohif *C. krusei*; pseudohif ve hif boyunca tek tek veya ufak kümeler yapacak biçimde dizilim gösteren blastosporlar *C. tropicalis*; pseudohif yapısı olmadan ucunda tomurcuklanmalar

görülen küçük oval blastosporlar *C. glabrata*; uzun blastosporların yalancı hiften ayrılıp birbirine paralel dizilim gösterdiği ve bu görünümüleri ile “ırmakta yüzen kütük dizileri”ni andıran *C. kefyr*; küçük maya hücreleri ve az sayıda küçük yalancı hif, bunun etrafında küçük küme yapmış blastokonidyumlar *C. guilliermondii*; yalancı hif, bunun etrafında tek tek bazen kümeler yapmış blastokonidyumlar oluşturan ve arada iri hiflerin görüldüğü suşlar *C. parapsilosis* olarak değerlendirildi.

### **Karbonhidrat Asimilasyon Testi:**

API ID 32 C (bioMerieux-France) hazır ticari kitleri kullanılarak 250 adet klinik örneğin klasik yöntemlerle identifiye edilemeyenler ve bir adet kontrol suşu tanımlandı.

API ID 32 C’le mayaların karbonhidrat asimilasyon yetenekleri, 24-48. saatlerde değerlendirildi.

Testin yapılışı:

1. İnokulum’un hazırlanması: SDA’daki 24 saatlik *Candida* kolonilerinden steril bir öze ile alınarak, 2 ml’lik Süspansiyon Medium (%0,85 NaCl) içinde karıştırılarak yoğunluğu 2 Mc Farland’a ayarlandı. Bu süspansiyonun 250 µl’sı kit içeriğinde olan C Medium içine aktarıldı.
2. “Strip”e aktarımı: C mediumdan “Strip”in her birine steril pipet ucu kullanarak 135 µl dağıtıldı. 30 °C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı.
3. Stripin okunması: Gözle; bulanık olan kuyucuklarda üreme pozitif kabul edildi. Negatif kontrol’de üremenin olmamasına dikkat edildi. Otomatik olarak; geliştirilmiş mini API ile değerlendirme yapıldı (ID 32C, bioMerieux, France kit prosedürü)

### **3.3. Slime Oluşumunun Belirlenmesi**

#### **Modifiye Tüp Adherans Yöntemi:**

1. SDA’da 24-48 saatlik kolonilerden  $1,5 \times 10^8$  cfu/ml alındı.
2. Son glikoz konsantrasyonu % 8 olacak şekilde hazırlanmış Sabouraud buyyondan (SB) 1,5 ml. içeren ependorflara inokule edildi.
3. Tüpler 35°C’de 24 saat çalkalayıcı(IKA-Germany) ile 180 devir/dakika çalkalanarak inkübe edildikten sonra boşaltıldı.
4. İki kez distile su ile yıkanarak % 1 safranin(Fluka-Germany) ile boyandı.
5. Tüpün duvarlarındaki renkli, yapışkan tabaka varlığı olumlu olarak kabul edildi.

6. Besiyeri ile hava kesişimindeki boya tutulmaları olumsuz kabul edildi.

### 3.4. Antifungal Duyarlılık Testi:

Slime oluşturan 64 *Candida* türünün Amp B, Vorikonazol, Itrakonazol ve Flukonazol'e karşı antifungal duyarlılık testlerinde CLSI tarafından önerilen M27-A mikrodilüsyon (microbroth dilution) yöntemi kullanıldı (67).

#### Mikrodilüsyon yöntemi:

Bu yöntemde aşağıdaki yol izlendi (67) :

#### 1. Antifungal Stok Solüsyonları ve Dilüsyonların Hazırlanması (67)

1. Antifungal İlaç Miktarları:

**Ağırlık (mg)= [Hacim (ml) x Konsantrasyon (µg/ml)]/ Potens (µg/mg)** formülüne göre hesaplandı ve hassas terazide tartıldı.

#### Amfoterisin B (Sigma, U.S.A):

Potens: %100 (100 mg'da 100 mg, 1 mg'da 1000 µg; yani potensi 1000 µg/ml)

Stok solüsyon konsantrasyonu: 1600 µg/ml

Hacim: 20 ml DMSO

Ağırlık= (20 x 1600)/1000= 32 mg= 0,032 g

#### Vorikonazol (İlsan-İltaş, Türkiye):

Potens: %100 (100 mg'da 100 mg, 1 mg'da 1000 µg; yani potensi 1000 µg/ml)

Stok solüsyonun konsantrasyonu: 1600 µg/ml

Hacim: 20 ml DMSO

Ağırlık= (20 x 1600)/1000= 32 mg= 0,032 g

#### Itrakonazol (Pfizer, France ):

Potens: %100 (100 mg'da 100 mg, 1 mg'da 1000 µg; yani potensi 1000 µg/ml)

Stok solüsyonun konsantrasyonu: 1600 µg/ml

Hacim: 20 ml DMSO

Ağırlık= (20 x 1600)/1000= 32 mg= 0,032 g

#### Flukonazol (Pfizer, France):

Potens: %99,7 (100 mg'da 99,7 mg, 1 mg'da 997 µg; yani potensi 997 µg/ml)

Stok solüsyon konsantrasyonu: 5120 µg/ml

Hacim: 20 ml Distile su

Ağırlık: (20 x 5120)/997= 102,6 mg= 0,1026 g

2. Amp-B, Itrakonazol ve Vorikonazol konsantasyonu 1600 µg/ml olacak şekilde %100 dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma, U.S.A) içinde eritildi (100 x, Stok solüsyon). Flukonazol, konsantrasyonu 1280 µg/ml olacak şekilde steril distile su içinde eritildi (20x, Stok solüsyon)
3. Her bir stok solüsyon 5'er ml olarak dört steril tüpe aktarıldı. Çalışıncaya kadar -20 °C'de saklandı. Amp-B solusyonunun ışıktan korunmasına özen gösterildi.
4. Antifungal dilüsyonlar hazırlanırken de her antifungal için bir tüp stok solüsyon çıkarıldı, eridikten sonra her bir antifungal için ayrı ayrı şemaya göre tüpler isimlendirilerek dilüsyonlar hazırlandı (Tablo 3.1,Tablo 3.2).
5. Bu dilüsyonlar tekrar işleme alındı.
6. Amp-B, önce 1/10 oranında "antibiyotik medium 3" (AM<sub>3</sub>, Oxoid, England) besiyeri ile sulandırılarak 10X'lik ilaç konsantrasyonları elde edildi. Daha sonra 1/5 oranında AM<sub>3</sub> besiyeri ile dilüe edilerek 2X ilaç konsantrasyonuna erişildi. Böylece 16-0,0313 µg/ml arasında seri konsantrasyonlar elde edildi (Tablo 4.4).
7. Vorikonazol, 1/50 oranında RPMI 1640 Medium (L-glutaminli, Bikarbonatsız) besiyeri içinde dilüe edildi. Böylece 16-0.0313 µg/ml arasında seri ilaç konsantrasyonu elde edildi (Tablo 4.5).
8. Itrakonazol, 1/50 oranında RPMI 1640 Medium (L-glutaminli, Bikarbonatsız) besiyeri içinde dilüe edildi. Böylece 16-0.0313 µg/ml arasında seri ilaç konsantrasyonu elde edildi (Tablo 4.6).
9. Flukonazol, 1/5 oranında RPMI 1640 Medium (L-glutaminli, Bikarbonatsız) (Sigma, U.S.A) besiyeri içinde dilüe edilerek 2X'lik seri ilaç konsantrasyonları (64-0,0625 µg/ml arasında) elde edildi (Tablo 4.7).
10. Mikroplağın dikey son kuyucuğu (8. kuyucuk) üreme kontrol kuyucuğudur. Buraya RPMI'dan 100 µl (daha sonra örnek inokulumdan 100 µl eklenecek) konuldu.
11. En düşük ilaç konsantrasyonu 7. kuyucukta, en yüksek ilaç konsantrasyonu 1. kuyucukta olmak üzere tüplerdeki antifungal ilaç dilüsyonları pipetle steril pipet ucu kullanılarak 100'er µl olacak şekilde dağıtıldı.
12. Sonuçta bir mikropakta bir antifungal ilaç, 7 dilüsyon ve 12 *Candida* türü çalışılabilir.

**Tablo 3.1:** Amfoterisin B, Itrakonazol ve Vorikonazol dilüsyonlarının hazırlama şekli (CLSI)

Step	Konsantrasyon (µg/ml)	Kaynak	Hacim+Çözücü (ml)	DMSO (ml)	Ara konsantrasyon (µg/ml)	Final konsantrasyon (µg/ml)	Log <sub>2</sub>
1	1600	Stok			1,600 µg/ml	16	4
2	1600	Stok	0,5	0,5	800	8,0	3
3	1600	Stok	0,5	1,5	400	4,0	2
4	1600	Stok	0,5	3,0	200	2,0	1
5	200	Step 4	0,5	0,5	100	1,0	0
6	200	Step 4	0,5	1,5	50	0,5	-1
7	200	Step 4	0,5	3,0	25	0,25	-2
8	25	Step 7	0,5	0,5	12,5	0,125	-3
9	25	Step 7	0,5	1,5	6,25	0,0625	-4
10	25	Step 7	0,5	3,5	3,13	0,0313	-5

**Tablo 3.2:** Flukonazol dilüsyonunun hazırlama şekli (CLSI)

Step	Konsantrasyon (µg/ml)	Kaynak	Hacim+Medium (ml)	(ml)	Ara konsantrasyon (µg/ml)	Final konsantrasyon (µg/ml)	Log <sub>2</sub>
1	5120	Stok	1	7	640 µg/ml	64	6
2	640	Step 1	1	1	320	32	5
3	640	Step 1	1	3	160	16	4
4	160	Step 3	1	1	80	8	3
5	160	Step 3	0,5	1,5	40	4	2
6	160	Step 3	0,5	3,5	20	2	1
7	20	Step 6	1	1	10	1	0
8	20	Step 6	0,5	1,5	5	0,5	-1
9	20	Step 6	0,5	3,5	2,5	0,25	-2
10	2,5	Step 9	1	1	1,25	0,125	-3
11	2,5	Step 9	0,5	1,5	0,625	0,625	-4
12	2,5	Step 9	0,5	3,5	0,0313	0,0313	-5



## 2. RPMI 1640'ın Hazırlanması (67)

1. Flukonazol, Itrakonazol ve Vorikonazol'un antifungal duyarlılık testlerinde besiyeri olarak L-glutaminli ve bikarbonatsız RPMI-1640 Medium (Sigma, U.S.A.) kullanıldı.

2. Bir litrede 34.53 gr olacak şekilde MOPS (n-morpholinopropane sulphonic asit) (Merck, Germany) ile tamponlandı. Homojenizasyon sağlanması için iyice karıştırıldı.

3. Besiyerini kullanırken pH'nın 6,9-7,0 olmasına dikkat edildi. Bunun için 10 N NaOH (Sodyum Hidroksit) ile pH ayarlaması yapıldı. NaOH hazırlamak için 100 ml distile su içerisine 40 g NaOH eklendi, balon joje içinde karıştırılarak çözüldü (Bir litre RPMI için yaklaşık 5 ml NaOH gerekiyor).

1. Sterilizasyon işlemi için besiyeri 0.22 µ çaplı membran filtreler (Sartorius, Germany) ile steril edildi ve kullanıncaya kadar +4 °C'de saklandı. Sterilite kontrolü için besiyerinden 1 ml alınarak kanlı besiyerine ekildi.

## 3. AM<sub>3</sub>'ün Hazırlanması (67)

1. Bir litre sıcak (60 °C) su içine 17,5 gr toz AM<sub>3</sub> (Oxoid, England) eklendi.

2. İyice çözülmüceye kadar karıştırdıktan sonra 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavlandı. Kullanılincaya kadar +4 °C de saklandı (2).

## 4. Maya İnokulumünün Hazırlanması (67)

1. Test edilecek *Candida* türlerinin SDA plaklarındaki subkültürleri, 30 °C'de 24 saat inkübe edilerek yapıldı.

2. Bir mm'den büyük yaklaşık 5 koloni, 1 ml % 0.9 NaCl içinde homojenize edildi. Bulanıklığının 0,5 McFarland olması için spektrofotometrede (bioMerieux, France) transmittansı 530 nm'de ayarlandı. Gereken inokulum miktarı kantitatif ekim sonunda koloni sayımı yapılarak doğrulandı. Böylece 1-5 x 10<sup>6</sup> CFU/ml oranında maya içeren stok maya süspansiyonu elde edildi.

3. Daha sonra her bir tür serum fizyolojik içinde 1/50 sulandırılarak çalışma dilüsyonu; ardından da flukonazol, itrakonazol ve ketokonazol için RPMI 1640'da, amfoterisin B için AM<sub>3</sub>'de 1/20 oranında sulandırılarak son çalışma dilüsyonu (2 x test inokulum, 0,5-2,5 x 10<sup>3</sup>) elde edildi.

### 5. Testin Uygulanması:

1. Daha önceden Amp-B, Vorikonazol, Itrakonazol ve Flukanazol ilaç dilüsyonları hazırlanarak -70 °C'de saklanan mikrotitrasyon plakları oda ısısına getirildi.
2. Her bir çukur üzerine 100 µl test inokulumu eklendi. Böylece istenilen ilaç ve inokulum son konsantrasyonları elde edildi.
3. Üreme kontrolü olarak, antifungal ilaç içermeyen bir çukura 100 µl test inokulumu (RPMI 1640+maya) konuldu.
4. Kalite kontrol suşu olarak *C.albicans* ATCC 10039 kullanıldı.
5. Mikrotitrasyon plakları 35 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra değerlendirildi.

### 6. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu Aralığının Saptanması (67)

Sonuçlar değerlendirilmeden önce mikropklaklar karıştırıcıda iyice karıştırıldı. İnkübasyonun ardından MİK değerleri, okuma aynası ve iyi bir ışık kaynağı yardımıyla birden fazla deneyimli personel tarafından görsel olarak saptandı.

Amp-B, Itrakonazol ve Vorikonazol için MİK aralığı üremenin %100 önlendiği konsantrasyon olarak kabul edildi. Flukanazol için ise üremenin kontrol tüpüne göre %80 önlendiği en düşük ilaç konsantrasyonu MİK aralığı olarak kabul edildi.

#### Skorlama

0: %0, Hiç bulanıklık yok, berrak

1: Üreme kontrol kuyucuğundaki bulanıklığın %25'i kadar bulanıklık var.

2: Üreme kontrol kuyucuğundaki bulanıklığın %50'si kadar bulanıklık var.

3: Üreme kontrol kuyucuğundaki bulanıklığın %75'i kadar bulanıklık var.

4: Üreme kontrol kuyucuğu ile aynı bulanıklığı (%100) olarak yapıldı.

Amp-B için MİK değeri, yukarıdaki skorlamaya göre 0 iken, Vorikonazol, Itrakonazol ve Flukanazol için 2'idi (67).

### 3.5. Slime Oluşturan Suşlar İçin Antifungal Stok Solüsyonları ve Dilüsyonların Hazırlanması

1. Daha önce yapıldığı gibi antifungal stok solüsyonları ve dilüsyonlar hazırlandı.
2. İşlem 2 ml'lik steril polistiren tüplerde yapıldı (3x0,5 inc).

3. Bir mm'den büyük yaklaşık 5 koloni, 1 ml % 0.9 NaCl içinde homojenize edildi. Bulanıklığının 0,5 McFarland olması için spektrofotometrede (bioMerieux, France) transmittansı 530 nm'de ayarlandı. Gereken inokulum miktarı kantitatif ekim sonunda koloni sayımı yapılarak doğrulandı. Böylece  $1-5 \times 10^6$  CFU/ml oranında maya içeren stok maya süspansiyonu elde edildi.
4. Daha sonra her bir tür serum fizyolojik içinde 1/50 sulandırılarak çalışma dilüsyonu; ardından da flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, amfoterisin B için glikoz konsantrasyonu % 8 olacak şekilde hazırlanmış Sabouraud buyyon içinde 1/20 oranında sulandırılarak son çalışma dilüsyonu ( $2 \times$  test inokulum,  $0,5-2,5 \times 10^3$ ) elde edildi.
5. Her Candida türü için bulunan MİK değerleri ve iki alt dilüsyonları hazırlandı.(Örneğin MİK değeri 2 µl/ml bulunan bir *Candida* suşu için ayrıca 1 ve 0,5 µl/ml olan antibiyotik solüsyonları da hazırlandı.)
6. Her tüpe 500 µl/ml antifungal karışımı, 500 µl/ml de maya inokulumu konuldu.
7. Sonuçta her suş için 4 farklı ilaç ve 3 farklı dilüsyon ile 12 ependorf vardı.
8. Tüpler 35° C'de 24 saat çalkalayıcı(IKA-Germany) ile 180 devir/dakika çalkalanarak inkübe edildikten sonra boşaltıldı.
9. İki kez distile su ile yıkanarak %1 safranin (Fluka-Germany) ile boyandı.
10. Tüpün duvarlarındaki renkli, yapışkan tabaka varlığı olumlu olarak kabul edildi.
11. Besiyeri ile hava kesişimindeki boya tutulmaları olumsuz kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Hastanemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen klinik örneklerden elde ettiğimiz 250 *Candida* suşunun klasik yöntemlerle (germ tüp oluşturma, Pirinçunlu-Tween 80 agar, karbonhidrat asimilasyon testleri ile) identifiye edilmesi sonucu bunların 158'si *C.albicans* (%63.2), diğer 92'si (%36.8) ise non-albicans *Candida* türü olarak değerlendirildi. Klinik örneklerden izole edilen 250 *Candida* türü Tablo 4.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.1 :** Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türleri

TÜRLER	İZOLAT SAYISI (n)	%
<i>C.albicans</i>	158	63.2
<i>C.glabrata</i>	71	28.4
<i>C.tropicalis</i>	8	3.2
<i>C.kefyr</i>	8	3.2
<i>C.krusei</i>	2	0.8
<i>C.parapsilosis</i>	1	0.4
<i>C.sake</i>	1	0.4
<i>C.keturi</i>	1	0.4
<b>TOPLAM</b>	<b>250</b>	<b>100</b>

İzole edilen *Candida* türlerinin klinik örneklere göre dağılımı Tablo 7'de gösterilmiştir. Toplam 250 *Candida* suşundan 48 (%19.2)'i ağızdan, 42 (%16.8)'si vajinal sürüntüden, 42 (%16.8)'si balgamdan, 25 (%10)'i trakeal aspirattan, 20 (%8)'si yara yerinden, 16 (%6.4)'sı idrardan, 14 (%5.6)'ü ayak parmak arasından, 13 (%5.2)'ü el tırnağından, 12 (%4.8)'si batın içi mai örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen *Candida*'ların klinik örneklere göre dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2 : İzole edilen *Candida* türlerinin klinik örneklerle göre dağılımı (n=250).

Türler =>			<i>C.albicans</i>		<i>C.glabrata</i>		<i>C.tropicalis</i>		<i>C.kefyr</i>		<i>C.krusei</i>		<i>C.parapsilosis</i>		<i>C.sake</i>		<i>C.keturi</i>	
Örnekler	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Ağız	48	19,2	40	82,7	-		6	12,5	-		-		1	2,9	-		1	2,9
Vajinal sürüntü	42	16,8	16	38,2	23	54,7	-		2	4,7	1	2,4	-		-		-	
Balgam	42	16,8	12	28,6	20	47,6	2	4,7	6	14,3	1	2,4	-		1	2,4	-	
Trakeal aspirat	25	10	18	72	7	28	-		-		-		-		-		-	
Yara yeri	20	8	12	60	8	40	-		-		-		-		-		-	
İdrar	16	6,4	8	50	8	50	-		-		-		-		-		-	
Ayak parmakarası	14	5,6	14	100	-		-		-		-		-		-		-	
El tırnağı	13	5,2	13	100	-		-		-		-		-		-		-	
Batın içi mai	12	4,8	9	75	3	25	-		-		-		-		-		-	
Gaita	10	4	8	80	2	20	-		-		-		-		-		-	
Göz sürüntüsü	8	3,2	8	100	-		-		-		-		-		-		-	
TOPLAM (250)			158		71		8		8		2		1		1		1	

**Tablo 4.3:** Slime oluşturan *Candida* türleri

TÜRLER	İZOLAT SAYISI (n)	%
<i>C.albicans</i>	41	64.1
<i>C.glabrata</i>	13	20.3
<i>C.tropicalis</i>	3	4.6
<i>C.kefyr</i>	5	7.8
<i>C.krusei</i>	1	1.6
<i>C.sake</i>	1	1.6
<b>TOPLAM</b>	<b>64</b>	<b>100</b>

Klinik örneklerden izole edilen, tür tanımlaması yapılan ve slime oluşturan 64 *Candida* türünün Amp-B, Vorikonazol, Itrakonazol ve Flukonazole karşı invitro antimikotik duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile incelenerek MİK değerleri sırasıyla Tablo 4.4, 4.5, 4.6, 4.7’de verilmiştir.

**Tablo 4.4:** Slime Oluşturan *Candida* türlerinin Amfoterisin B için MİK değerleri

<i>Candida</i> Türleri (Sayısı)	MİK değerleri (µg/ml)									
	≥ 16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<i>C.albicans</i> (41)	-	-	-	1	11	23	6	-	-	-
<i>C.glabrata</i> (13)	-	-	-	-	3	7	3	-	-	-
<i>C.tropicalis</i> (3)	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-
<i>C.kefyr</i> (5)	-	-	-	-	3	2	-	-	-	-
<i>C.krusei</i> (1)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>C.sake</i> (1)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<b>TOPLAM (100)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>20</b>	<b>34</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Amp-B’ye ilişkin MİK aralığı 0,03-16 µg/ml arasında MİK  $90 \leq 1$  µg/ml olarak saptandı. *Candida* türlerinin amp-B için MİK değerleri 1’inde 2 µg/ml; 20’inde 1 µg/ml; 34’ünde 0.5 µg/ml; 9’unda 0,25 µg/ml olarak saptandı.

CLSI kriterlerine göre amp-B için 1 µg/ml üzerinde olan türler dirençli kabul edilmektedir (67). Bu kritere göre slime oluşturan 64 *Candida* türünün 1’inde MİK

değeri 1 µg/ml üzerinde bulunmuştur. Bu tür de *C.albicans* olarak saptanmıştır. Buna göre *Candida* türlerinin yaklaşık %98,4'ü Amp-B'ye duyarlı bulundu.

**Tablo 4.5:** Slime Oluşturan *Candida* türlerinin Vorikonazol için MİK değerleri

<i>Candida</i> Türleri (Sayısı)	MİK değerleri (µg/ml)									
	≥ 16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<i>C.albicans</i> (41)	-	1	1	3	9	7	13	7	-	-
<i>C.glabrata</i> (13)	-	-	-	2	3	2	4	2	-	-
<i>C.tropicalis</i> (3)	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-
<i>C.kefyr</i> (5)	-	-	-	-	-	2	1	2	-	-
<i>C.krusei</i> (1)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>C.sake</i> (1)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
<b>TOPLAM (64)</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>21</b>	<b>12</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

*Candida* türlerinin Vorikonazole için MİK değerleri 1'inde 8 µg/ml; 1'inde 4 µg/ml; 6'sında 2 µg/ml; 12'sinde 1 µg/ml; 11'inde 0,5 µg/ml; 21'inde 0,25 µg/ml; 12'sinde 0,125 µg/ml olarak bulundu (Tablo 4.5).

CLSI kriterlerine göre Vorikonazol için MİK≥1 µg/ml üzerinde olan türler dirençli kabul edilmektedir (67). Bu kriterlere göre slime oluşturan 64 *Candida* türünün 20'sinde MİK değeri ≥1 µg/ml üzerinde bulunmuştur. Buna göre *Candida* türlerinin yaklaşık %31,3'ü vorikonazol'e dirençli, %68,7'si ise vorikonazol'e duyarlı bulunmuştur.

**Tablo 4.6 :** *Candida* türlerinin Itrakonazol için MİK değerleri

<i>Candida</i> Türleri (Sayısı)	MİK değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	$\geq 16$	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<i>C.albicans</i> (41)	-	1	1	14	4	10	11	-	-	-
<i>C.glabrata</i> (13)	-	-	-	4	5	3	1	-	-	-
<i>C.tropicalis</i> (3)	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-
<i>C.kefyr</i> (5)	-	-	-	1	-	3	1	-	-	-
<i>C.krusei</i> (1)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>C.sake</i> (1)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<b>TOPLAM (64)</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>20</b>	<b>11</b>	<b>18</b>	<b>13</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

*Candida* türlerinin Itrakonazole için MİK değerleri 1'inde 8  $\mu\text{g/ml}$ ; 1'inde 4  $\mu\text{g/ml}$ ; 20'sinde 2  $\mu\text{g/ml}$ ; 11'inde 1  $\mu\text{g/ml}$ ; 18'inde 0,5  $\mu\text{g/ml}$ ; 13'ünde 0,25  $\mu\text{g/ml}$  olarak bulundu (Tablo 4.6).

CLSI kriterlerine göre Itranazole 33 *Candida* türünün dirençli olduğu (MİK $\geq$ 1  $\mu\text{g/ml}$ ) saptandı (67). Bu türlerin 20'si *C. albicans*, 9'u *C. glabrata*, 2'si *C.tropicalis*, 1'i de *C. krusei* olarak saptandı.

Türlerin %48,4'ü Itrakonazole duyarlı idi (MİK $\leq$ 0,5  $\mu\text{g/ml}$ ).

**Tablo 4.7 :** *Candida* türlerinin Flukonazol için MİK değerleri

<i>Candida</i> Türleri (Sayısı)	MİK değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	$\geq 16$	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<i>C.albicans</i> (41)	21	1	4	7	8	-	-	-	-	-
<i>C.glabrata</i> (13)	4	3	1	4	1	-	-	-	-	-
<i>C.tropicalis</i> (3)	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-
<i>C.kefyr</i> (5)	2	1	-	1	1	-	-	-	-	-
<i>C.krusei</i> (1)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.sake</i> (1)	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
<b>TOPLAM (64)</b>	<b>30</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>14</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

*Candida* türlerinin Flukonazole için MİK değerleri 12'sinde 64  $\mu\text{g/ml}$ ; 9'unda 32  $\mu\text{g/ml}$ ; 9'ünde 16  $\mu\text{g/ml}$ ; 5'inde 8  $\mu\text{g/ml}$ ; 5'inde 4  $\mu\text{g/ml}$ ; 14'ünde 2  $\mu\text{g/ml}$ ; 10'unda 1  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptandı (Tablo 4.7).



CLSI kriterlerine göre Flukonazole 12 *Candida* türünün dirençli olduğu (MİK $\geq$ 64  $\mu$ g/ml) saptandı (67). Bu türlerin hepsi *C.albicans* olarak bulundu.

Türlerin %53'ü Flukonazole duyarlı idi (MİK $\leq$ 8  $\mu$ g/ml).

**Tablo 4.8:** Slime oluşturan *Candida* türlerinde subinhibitör konsantrasyonda Amp-B, Vorikonazol, Itrakonazol, Flukonazol'un slime oluşumuna etkileri

<i>Candida</i> türleri (sayısı)	Amp-B		Var		Itr		Flu	
	Slime İnhib. (-)	Slime İnhib. (+)	Slime İnhib. (-)	Slime İnhib. (+)	Slime İnhib. (-)	Slime İnhib. (+)	Slime İnhib. (-)	Slime İnhib. (+)
	<i>C.albicans</i> (41)	16	25	13	28	7	34	17
<i>C.glabrata</i> (13)	4	9	7	6	8	5	6	7
<i>C.tropicalis</i> (3)	1	2	1	2	0	3	3	0
<i>C.kefyr</i> (5)	1	4	1	4	1	4	2	3
<i>C.krusei</i> (1)	1	0	1	0	1	0	1	0
<i>C.sake</i> (1)	0	1	0	1	0	1	0	1
<b>TOPLAM (64)</b>	23	41	23	41	17	47	29	35

Tablo 4.8'e göre; çalışmamızda antifungallerin subinhibitör konsantrasyonlarında 64 *Candida* türünden Amp-B ile 41 (%64,1)'i slime oluşumunun inhibe edildiği, 23 (%35,9)'ünün ise etkilenmediği; vorikonazol ile 41 (%64,1)'inin inhibe edildiği; 23 (%35,9)'ünün etkilenmediği; itrakonazol'de 47 (%73,4)'sinin inhibe edildiği, 17 (%26,6)'sinin etkilenmediği. Flukonazol de ise 35 (%54,7)'inin inhibe edildiği; 29 (%45,3)'unun etkilenmediği saptandı.

## 5. TARTIŞMA

*Candida*'lar doğada ve mikroflorada yaygın olarak bulunurlar. Özellikle immun sistemi baskılanmış olan kişilerde fırsatçı enfeksiyonlara yol açarlar (6). Ayrıca, tür düzeyinde identifikasyon tedaviye yanıtın izlenmesinde ve klinik bulguların değerlendirilmesinde de yararlı olmaktadır (54).

Bu çalışmada, maya enfeksiyonlarının tanı ve tedavisine faydalı olur düşüncesiyle *Candida*'ların tür düzeyinde tanımlanması; slime oluşturanların tesbit edilmesi; Amp B, Flukonazol, Itrakonazol ve Vorikonazol ilaçlarına karşı antifungal duyarlılık paternlerinin belirlenmesi, bu antifungallerin subinhibitör konsantrasyonları hazırlayarak slime oluşumuna etkilerini incelenmiştir.

Çalışmamızda *Candida*'ların identifikasyonunda öncelikle klasik mikolojik yöntemler kullanılmıştır. Germ tüp testi *C.albicans*'ın hızlı identifikasyonu için yıllardır kullanılan ve bugün de değerini koruyan, basit ve oldukça duyarlı bir testtir. Ancak germ tüp testi ile *C.albicans* dışındaki türlerin identifikasyonunun yapılamaması bir dezavantajdır. *C.albicans* suşlarının %95-97'sinin germ tüp pozitif olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda germ tüp pozitif olan türler Pirinç unlu- Tween 80 agara ekildi. Germ tüp pozitif olan türlerin tamamında *C.albicans* için karakteristik olan klamidosporlar gözlenmiştir. Germ tüp negatif olan türler hem pirinç unlu-Tween 80 agara ekilmiş hem de ticari bir tiplendirme kiti olan ve karbonhidrat asimilasyonuna dayanan API 32 ID C ile işleme alınmıştır. Bu işlemler sonucunda isimlendirilemeyen tür olmamıştır.

Mayaların identifikasyonunda germ tüp testi ve pirinç unlu-Tween 80 agarda oluşturdukları morfolojik görünümle ile tanımlamanın yeterli olabileceği düşünülmüştür. Fakat biyokimyasal testlerin morfolojik testlerden daha güvenilir sonuçlar verdiği bir kez daha gözlenmiştir.

Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen 250 mayanın 158'si *C.albicans* (%63,2), 71'i *C.glabrata* (%28,4), 8'i *C.tropicalis* (%3,2), 8'i *C.kefyr* (%3,2), 2'si *C.krusei* (%3,2), 1'i *C.parapisilosis* (%0,4), 1'i *C.sake* (%0,4), 1'i *C.keturi* (%0,4) olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.1).

Ağız sürüntüsünden elde edilen 48 izolatin 40 (%82,7)'i *C.albicans*, 6 (%12,5)'sı *C.tropicalis*, 1 (%2,9)'i *C.parapisilosis*, 1 (%2,9)'i *C.keturi* olarak belirlenmiştir.

Vajinal sürüntüsünden izole edilen 42 izolattın 16 (%38,2)'si *C.albicans*, 23 (%54,7)'ü *C.glabrata*, 2 (%4,7)'si *C.kefyr*, 1 (%2,4) *C.krusei* olarak belirlenmiştir.

Balgam örneklerinden izole edilen 42 izolattın 12 (%28,6)'si *C.albicans*, 20 (%47,6)'si *C.glabrata*, 2 (%7)'si *C.tropicalis*, 6 (%14,3)'sı *C.kefyr* ve 1 (%2,4)'i *C.krusei*, 1 (%2,4)'i *C.sake* olarak belirlenmiştir.

Trakeal aspirattan elde edilen 25 izolattın 18 (%72)'i *C.albicans*, 7 (%28)'si *C.tropicalis* olarak belirlenmiştir.

Yara yerinden elde edilen 20 izolattın 12 (%60)'si *C.albicans*, 8 (%40)'i *C.tropicalis* olarak belirlenmiştir.

İdrardan elde edilen 16 izolattın 8 (%50)'i *C.albicans*, 8 (%50)'i *C.tropicalis* olarak belirlenmiştir.

Ayak parmak arasından elde edilen 14 izolattın 14 (%100)'ü *C.albicans* olarak belirlenmiştir.

El tırnağından elde edilen 13 izolattın 13 (%100)'ü *C.albicans* olarak belirlenmiştir. Batın içi maiden elde edilen 12 izolattın 9 (%75)'u *C.albicans*, 3 (%25)'ü *C.tropicalis* olarak belirlenmiştir. Gaita örneklerinden elde edilen 10 izolattın 8 (%80)'i *C.albicans*, 2 (%20)'si *C.tropicalis* olarak belirlenmiştir. Göz sürüntüsünden elde edilen 8 izolattın 8 (%100)'i *C.albicans* olarak belirlenmiştir.

Pfaller ve ark. (68), 802 izolattan 358'sini *C.albicans*, 151'ini *C.glabrata*, 83'ünü *C.parapsilosis*, 79'unu *C.tropicalis*, 66'sını *C.krusei*, 36'sını *C.lusitaniae*, 14'ünü *C.guilliermondii* ve 15'ini *Candida spp.* olarak saptamışlardır.

Piriçgiller (69), çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 210 mayanın 109'unu *C.albicans*, 27'sini *C.kefyr*, 23'ünü *C.glabrata*, 14'ünü *C.krusei*, 14'ünü *Trichosporon spp.*, 8'ini *C.parapsilosis* ve 1'ini *Cryptococcus neoformans* olarak; Yine Azel ve ark. (70) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 76 mayanın 55'ini *C.albicans*, 7'sini *C.tropicalis*, 6'sını *C.glabrata*, 5'ini *C.krusei*, 2'sini *C.kefyr*, 1'ini *C.parapsilosis* olarak; Kuştimur ve ark. (71) 40 izolattan 19'unu *C.albicans*, 5'ini *C.tropicalis*, 4'ünü *C.kefyr*, 3'ünü *C.krusei*, 2'sini *C.glabrata*, 2'sini *C.lusitaniae*, birer tanesini de *C.parapsilosis*, *C.famata*, *C.rugosa* ve *C.dublinsiensis* olarak belirlemiştir.

Coşkun ve ark.. (72), kandidemili hastalardan izole ettiği *Candida* türü mantarlarından ilk sırada *C.albicans* (%52,4), *C.glabrata* (11,9), *C.parapsilosis*

(%7,1), *C.kefyr* (%7,1), *C.tropicalis* (%4,8), *C.famata* (%4,8) ve *C.maris* (%4,8) olarak tanımlamıştır.

Ağız florasında en sık bulunan ve invaziv olan tür *C.albicans*'tır (%75). Bunu *C.tropicalis* (%8), *C.krusei* (%3-6) ve *C.glabrata* (%2-6) izlemektedir (73). Öztürkcan ve ark. (74), 52 diyabetik hastada oral Candida insidansını araştırmışlar ve *C.albicans* (%63,3), bunu takiben en sık izole edilen türleri *C.kefyr* (12,2), *C.parapsilosis* (%9), *C.krusei* (%9), *C.stelloidea* (%6,5) olarak bildirmişlerdir. Antibiyotik alan 148 çocuk hastanın ağız sürüntüsü örneklerini inceleyen Mete ve ark. (75), *C.albicans*'ı (%73,9), *C.tropicalis* (%12), *C.kefyr* (%5) ve *C.stelloidea* (%3)'nün izlediğini saptamışlardır. Piriçgiller (69), ağız örneklerinden izole ettikleri 40 maya kökeninin 25'ini *C.albicans*, 8'ini *C.kefyr*, 4'ünü *C.krusei* 2'sini *C.tropicalis*, 1'ini *C.parapsilosis* olarak saptamıştır. Çalışmamıza göre de ağız sürüntü örneklerinden elde ettiğimiz sonuçlar yukarıda verilenlerle benzer şekilde korelasyon gösterdiği bulunmuştur (74).

Genel olarak hastanede kültürü yapılan idrar örneklerinin %1-5'inde maya türü mantar üremektedir. İdrardan en sık izole edilen mayalar sırasıyla *C.albicans*, *C.glabrata* ve daha az sıklıkla *C.tropicalis*'tir (72). Ergüven ve ark. (76), 33 idrar örneğinde *C.albicans* (%66,6) ve *C.tropicalis* (%33,3) saptamışlardır. Göller (77), idrar örneklerinde en sık izole edilen tür *C.albicans* (%53,1), *C.tropicalis* (%18,7), *C.kefyr* (%12,5), *C.glabrata* (%6,4) olarak bulunmuştur. Yine Yücesoy ve ark. (78) 77 *Candida* suşunu idrar kültüründe soyutlamış bunlardan 60'ını *C.albicans*, 13'ünü *C.tropicalis*, 2'sini *C.parapsilosis*, 1'ini *C.kefyr* ve 1'ini *C.rugosa* olarak saptamıştır. Piriçgiller (69), idrar örneklerinden izole ettikleri 40 maya kökeninin 23'ünü *C.albicans*, 5'ini *C.tropicalis*, 5'ini *C.glabrata*, 4'ünü *C.kefyr*, 2'sini *C.parapsilosis* ve 1'ini *C.krusei* olarak saptamıştır.

*Candida*, vulvo-vajinit etkenleri arasında en sık rastlanan mikroorganizmalardan birisidir (79). Vajinal kandidoz olgularında en sık etken *C.albicans* olmakla beraber *C.glabrata*, *C.parapsilosis* gibi non albicans *Candida* türleride enfeksiyonlardan izole edilmektedir (79).

Tümbay ve ark. (80), vajinal akıntı örneklerinden izole ettikleri 374 maya izolatında *C.albicans* (%68,9), *C.tropicalis* (%9,3) *C.glabrata* (%6,4), *C.krusei* (%3,5) ve *C.kefyr* (%2,4) olarak saptamıştır. Hilmioğlu ve ark. (81), vulvovajinal

kandidoz atkeni olarak soyutlanan 106 *Candida* kökeninden en sık olarak yine *C.albicans* (%42,5), *C.glabrata* (%41,5), *C.tropicalis* (%9,4), *C.krusei* (%4,7) ve *C.kefyr* (%1,9) olarak saptamıştır. Pirinçgiller (69), vajinal sürüntü örneklerinden elde edilen 40 maya kökeninin 16'sını *C.albicans*, 13'ünü *C.galbrata*, 7'sini *C.krusei*, 3'ünü *C.kefyr*, 1'ini *C.tropicalis* olarak saptamıştır. Bizim çalışmalarımızda da literatür sonuçlarına benzer sonuçlar bulunmuştur.

Kaya ve ark. (82), vajinal akıntı örneklerinden izole ettikleri 100 maya izolatında *C.albicans* (%65), *C.glabrata* (%14), *C.krusei* (%8) ve *C.gullerirmondii* (%3) saptanmıştır. Berktaş ve ark. (79), 195 sağlıklı gebe kadında yaptıkları çalışmada 72 maya izolatının *C.albicans* (%63,9), *C.glabrata* (%23,6), *C.tropicalis* (%5,5), *C.stelloidea* (%2,8) ve *C.kefyr* (%2,8) olarak saptamıştır.

Son yıllarda *C.albicans* ve diğer *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlardaki artış ve bu türlerin kullanılmakta olan antifungal ajanlara karşı farklı duyarlılıkları invitro duyarlılık testinin terapötik karar verme aşamasında çok önemli bir yeri olduğunu göstermiştir (30,48).

1950'lerde kullanıma sunulan Amp-B her ne kadar her mantar enfeksiyonuna etkili olmasa da ve toksik özelliği olsa da uzun süre alternatifi üretilmemiştir. Flusitozisin ise dar spektrumu ve hızlı direnç kullanımı sınırlandırmıştır (61).

1980'li yıllardan önce sınırlı sayıda olan antifungal ilaçlar daha sonraki yıllarda artış göstermiştir. Nitekim son 10 yılda görülen mantar enfeksiyonlarındaki artış antifungal ilaçların gelişimine yol gösterici olmuştur. Son yıllarda antifungal ajanların artan kullanımı endojen fungal florayı suprese etmiş ve duyarlı suşların supresyonu ile de daha dirençli suşlar ortaya çıkmıştır (52,61).

Birçok *Candida* izolatında amfoterisin B'ye direnç gösterilmiştir (83). *C.albicans*, *C.krusei*, *C.glabrata*, *C.tropicalis* gibi türlerde flukonazole karşı doğal yada kazanılmış direnç saptanmıştır (84). Bu nedenle ilaç seçiminde *Candida*'ların türünün belirlenmesi de önemlidir (61,65).

Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen 250 *Candida* suşundan slime oluşturan 64 tanesinin Amp-B, Vorikonazol, Itrakonazol ve Flukonazol gibi antifungallere olan duyarlılıkları CLSI broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir (67).

Her ne kadar antifungal duyarlılık testleri amp-B için rutin olarak yapılamasada *Candida* türlerinde seyrek de olsa Amp-B'ye direnç bildirilmektedir (30). *C.lusitanea* ve *C.guilliermondii* gibi non albicans *Candida* türlerinde de primer olarak amp-B'ye karşı direnç gelişimi saptanmıştır. Sekonder direnç daha çok kanser hastalarında izole edilen *Candida*'ların neden olduğu enfeksiyonlarla birlikte, nadiren *C.albicans*'ta gözlemlenmektedir (44).

*C.albicans*, *C.lypolytica*, *C.norvegensis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata* ve *C.parapsilosis* gibi türlerde amp-B'ye karşı direnç rapor edilmektedir (44). CLSI tarafından 1997 yılında yayınlanan M27-A protokole göre Amp-B ile ilgili çalışmalarda direnç sınırı  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$  olarak bildirilmiştir (67).

Davey ve ark (85), 180 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada Amp-B için MİK aralığını 0,125-2  $\mu\text{g/ml}$  arasında, Shawar ve ark. (86) ise 14 *Candida* izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,5-1  $\mu\text{g/ml}$  arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Espinel-İngroff ve ark. (87) 30 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 1-2  $\mu\text{g/ml}$  arasında saptamışlardır. Howser ve ark. (88) 98 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,125-4  $\mu\text{g/ml}$  arasında saptamışlardır. Espinel-İngroff (89), 117 maya izolatu ile yaptıkları bir başka çalışmada MİK değerlerini 0,25-8  $\mu\text{g/ml}$  arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Pfaller ve ark. (90) 597 izolatluk çalışmalarında MİK aralığını 0,03-4  $\mu\text{g/ml}$  arasında bulmuşlardır. Bu araştırıcılar suşların 36 (%6)'sında Amp-B'ye direnç saptamışlardır ve bu dirençli izolatlardan %64'ünün *C.lusitaniae* ve *C.krusei* olduğunu bildirmişlerdir.

Amp-B için; ülkemizde Durupınar ve ark (91), 60 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,06-1  $\mu\text{g/ml}$  arasında; Arıkan ve ark. (92) 63 izolatluk çalışmada MİK aralığını 0,06->16  $\mu\text{g/ml}$  olarak; Gün ve ark. (93) 50 hastalık grubunda MİK aralığını 0,06-0,25 olarak saptamışlardır. Kiraz ve ark. (94) 63 maya izolatını aldıkları çalışmada MİK aralığını 0,03-4  $\mu\text{g/ml}$  olarak; Göller (77) ise 150 *Candida* suşunun MİK aralığını 0,03-16  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptamıştır.

Amp-B için MİK aralığı genellikle 0,25-1  $\mu\text{g/ml}$  arasındadır. Bu nedenle kesin bir sınır değer olmamakla beraber CLSI kriterlerine göre 1  $\mu\text{g/ml}$  üzerinde olanlar dirençli kabul edilmektedir (67). Çalışmamızda ise MİK aralığının 0,03-16  $\mu\text{g/ml}$  arasında değiştiğini saptadık. *Candida* türlerinin amp-B için MİK değerleri 1'inde 2  $\mu\text{g/ml}$ ; 20'inde 1  $\mu\text{g/ml}$ ; 34'ünde 0.5  $\mu\text{g/ml}$ ; 9'unda 0,25  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptandı.

Bu kritere göre slime oluşturan 64 *Candida* türünün 1'inde MİK değeri 1 µg/ml üzerinde bulunmuştur. Bu tür de *C.albicans* olarak saptanmıştır. Buna göre *Candida* türlerinin yaklaşık %98.4'ü Amp-B'ye duyarlı bulundu.

Amp-B'ye karşı saptadığımız MİK değerlerini ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmalarda kıyasladığımızda benzer sonuçlarla birlikte bizim yaptığımız çalışmada amp-B'ye karşı oldukça yüksek bir duyarlılık saptanmıştır (94).

Hsuch ve ark. 2005 yılında, 59 *C.glabrata* türünün 3'ünde Vorikonazol'un MİK değerini 2 ile 4 µg/ml, diğerlerinde MİK ≤ 0,5 µg/ml bulmuşlardır (95). Silva V ve ark. İse 2004 yılında 132 *Candida* türünde MİK değerini ≤ 1 µg/ml bulmuşlardır (96).

Ülkemizde Çetinkaya ve ark, fenotipik varyasyon gösteren 215 *C.albicans* türünde Vorikonazol duyarlılığını 0,03-0,5 arasında bulmuşlardır (97).

*Candida* türlerinin Vorikonazole için MİK değerleri 1'inde 8 µg/ml; 1'inde 4 µg/ml; 6'sında 2 µg/ml; 12'sinde 1 µg/ml; 11'inde 0,5 µg/ml; 21'inde 0,25 µg/ml; 12'sinde 0,125 µg/ml olarak bulundu.

CLSI kriterlerine göre Vorikonazol için MİK ≥ 1 µg/ml üzerinde olan türler dirençli kabul edilmektedir (67). Bu kriterlere göre slime oluşturan 64 *Candida* türünün 20'sinde MİK değeri ≥ 1 µg/ml üzerinde bulunmuştur. Buna göre *Candida* türlerinin yaklaşık %31,3'ü vorikonazol'e dirençli, %68,7'si ise Vorikonazol'e duyarlı bulunmuştur.

Çalışmamıza göre; yurt dışı ve yurtiçi yayınlarındaki verilere göre *Candida* türlerinde Vorikonazol direnci artmıştır.

Sojakova ve ark. 2004 yılında, ise vajinal kandidozlu hastalarda izole edilen 227 klinik örnekten yaklaşık 42'sinde Itrakonazol'e karşı direnç saptamışlardır (98). Cuenca-Estrella M. Ve ark 2005 yılında, 67 *Candida* türünden 43'ü Itrakonazole duyarlılığını MİK ≥ 0,25 µg/ml bulmuşlardır (99).

Ülkemizde Çetinkaya ve ark, fenotipik varyasyon gösteren 215 *albicans* türünde Itrakonazol duyarlılığını 0,03-1 arasında bulmuşlardır (97).

*Candida* türlerinin Itrakonazole için MİK değerleri 1'inde 8 µg/ml; 1'inde 4 µg/ml; 20'sinde 2 µg/ml; 11'inde 1 µg/ml; 18'inde 0,5 µg/ml; 13'ünde 0,25 µg/ml olarak bulundu.

CLSI kriterlerine göre Itranazole 33 *Candida* türünün dirençli olduğu (MİK $\geq$ 1  $\mu$ g/ml) saptandı (67). Bu türlerin 20'si *C.albicans*, 9'u *C.glabrata*, 2'si *C.tropicalis*, 1'i de *C.krusei* olarak tesbit edildi.

Türlerin %48,4'sı Itrakonazole duyarlı idi (MİK $\leq$ 0,5  $\mu$ g/ml).

Çalışmamızda bulduğumuz Itrakonazol duyarlılık oranları daha önceki çalışmalardan yüksek bulunmuştur.

CLSI'in Flukonazol için belirlediği direnç sınırı  $\geq$ 64  $\mu$ g/ml'dir (67).

Toksitesinin az olması nedeniyle yaygın kullanılan flukonazole karşı primer direnç özellikle *C.glabrata* ve *C.krusei*'de bildirilmektedir. Daha virulan olan enfeksiyonlarda daha sık izole edilen *C.albicans*'la ilgili direnç daha çok HIV (+) hastalarda rastlanmakta ve normal populasyonda flukonazole dirençli *C.albicans*'lar ortaya çıkmaktadır (61).

Davey ve ark. (85) 180 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada, Flukonazol için MİK aralığını 0,12->64  $\mu$ g/ml arasında saptamışlardır. Shawar ve ark.(86) 14 *C.albicans* izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını >64  $\mu$ g/ml olarak saptamışlardır. Espinel-İngroff (87) 30 maya izolatu ile yaptığı çalışmada MİK aralığını 0,25->64  $\mu$ g/ml arasında bulmuşlardır. Espinel-İngroff (89) 117 maya izolatu ile yaptığı bir başka çalışmada MİK aralığını 0,12->64  $\mu$ g/ml arasında değiştiğini belirlemiştir. Howser ve ark. (88) 98 suşluk çalışmasında MİK aralığını 0,12->256  $\mu$ g/ml olarak saptamıştır. Pfaller ve ark. (90) 597 maya suşu ile yaptığı çalışmada flukonazol için MİK aralığını 0,03->512  $\mu$ g/ml arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Flukonazole ile ilgili direnç %5-56 arasında değişen oranlarda bilinmektedir (67). Ülkemizde ise Arıkan ve ark. (92) 53 *Candida* suşu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını <0,2->64  $\mu$ g/ml olarak saptamış; Gün ve ark. (93) 50 izolatluk çalışmasında MİK aralığını 0,12->64  $\mu$ g/ml olarak bulmuşlardır. Kiraz ve ark. (94) 300 suşluk çalışmalarında MİK aralığını 0,06-8  $\mu$ g/ml olarak saptamıştır. Göller (77) ise 150 suşluk çalışmasında MİK aralığını 0,12-64  $\mu$ g/ml olarak belirtmiştir.

Bizim çalışmamızda ise MİK aralığı 0,125-64  $\mu$ g/ml arasında bulundu. *Candida* türlerinin Flukonazole için MİK değerleri 12'sinde 64  $\mu$ g/ml; 9'unda 32  $\mu$ g/ml; 9'unde 16  $\mu$ g/ml; 5'inde 8  $\mu$ g/ml; 5'inde 4  $\mu$ g/ml; 14'ünde 2  $\mu$ g/ml; 10'unda 1  $\mu$ g/ml olarak saptandı.



CLSI kriterlerine göre Flukonazole 12 *Candida* türünün dirençli olduğu (MİK $\geq$ 64  $\mu$ g/ml) saptandı (67). Bu türlerin hepsi *C. albicans* olarak bulundu.

Türlerin %53'ü Flukonazole duyarlı idi (MİK $\leq$ 8  $\mu$ g/ml).

CLSI'in Flukonazol için belirlediği MİK aralığı 0,125-64  $\mu$ g/ml arasındadır. Bu değere bakacak olursak yaptığımız çalışma hem ülkenizdeki değerlerle hem de yurtdışında yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Türlerde görülen direnç durumu da diğer çalışmalarda görülen direnç durumları ile uyumlu bulunmuştur (100,86-88,92-94).

Geçmişe kıyasla antifungal duyarlılık testlerinin rutin uygulaması alanında önemli adımlar atılmıştır. Antifungal duyarlılık testleri bugün, özellikle *Candida* ve Flukonazol, Itrakonazol, Vorikonazol için, klinik yanıtın tahmininde yardımcı olabilecek yöntemlerden biri olma özelliği taşımaktadır. İnvaziv mantar enfeksiyonlarında tedavi başarısı, birçok faktörün rol oynadığı bir süreci içermektedir. Bu faktörlerin en önemlilerinden birisi, konağın bağışıklık sisteminin durumu ve altta yatan hastalığın kontrolüdür. Henüz mevcut olmayan direnç sınır değerlerinin belirlenmesi ve gelecek in vitro-in vivo korelasyon çalışmalarının sonuçları, antifungal duyarlılık testlerinin yeni uygulama alanlarını belirleyecektir.

Bir kısım mikroorganizmaların doğada saprofit hayatta ve insan vücudunda yaşamaya uyum sağladıklarında *in vivo* katı yüzeylere yapışma ve kalınlığı birkaç mm'ye varan hücre tabakalarından oluşan biyofilm oluşturma özelliklerinin bulunduğu, bu yapışmanın özgün olabildiği veya olmadığı bilinmektedir. Bu biyofilm damar içi kateter veya protez uygulamalarında başlıca komplikasyon olan enfeksiyonlara da yol açabilmektedir (26).

Kateterler, ekstraselüler matriks içinde biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile kolonize olmakta ve mikroorganizmanın bu biyofilmden ayrılması çoğu kez septisemi ile sonuçlanmaktadır. Hastane kaynaklı kan dolaşımı ile ilgili enfeksiyonların başında Gram negatif bakterilerden sonra mantarlar gelmektedirler (27).

Fungeminin en yaygın etkeni olan *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. glabrata* gibi *Candida*'ların slime yapımı da virülansta etkili olmaktadır (28).

Fattani ve Douglas (100), slime oluşumu arttıkça *C.albicans* türlerinde amp-B'ye direncin attığını, *C.tropicalis* türlerinde ise slime oluşumu arttıkça amp-B'ye flukonazole direncin arttığını göstermişlerdir. Ayrıca *C.albicans* ve *Staphylococcus epidermidis*'in oluşturduğu karışık enfeksiyonlarda slime oluşturdukları ve amp-B ve flukonazole direnç oluştuğunu saptamışlardır.

Lewis ve ark. (101), kataterle ilişkili *Candida* enfeksiyonlarının in vitro koşullarda Amp-B, Flukonazol ve Vorikonazole karşı antifungal aktivitesini araştırmışlardır. Farklı dozlarda antifungaller *Candida* türlerinin oluşturduğu katater enfeksiyonlarında verilmiş ama slime oluşumu tam olarak engellenmediği görülmüştür. Bunu da in vitro koşullarda antifungal etkinliğin konusundaki mikolojik bilgi eksikliklerine bağlamışlardır.

Fattani ve Douglas (102), antifungallerin *Candida* slime tabakasına girişi adlı çalışmada; flukonazolün flusitozinden daha hızlı girdiğini, ama *C.albicans*'ta bu oranın daha az olduğunu göstermişlerdir. *C.glabrata* ve *C.krusei* de slime tabakasına ilaç girişi *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis*'ten daha hızlı olduğunu da saptamışlardır. Ayrıca bakteriler ve bakteriyel matriksin ilaç girişini yavaşlattığını ama azaltmadığını göstermişlerdir.

Özkan ve ark (103), kandan izole edilen 54 *Candida* türünde slime oluşumuna proteinaz aktivitesi ve antifungallerin MİK değerlerinin etkisini incelemişler. Ama *C.albicans* ve *C.parapsilosis* türlerinde amp-B, ketakonazol ve flukanazol'ün MİK değerlerinde slime oluşumu ve proteinaz aktivitesi arasında korelasyon saptamamışlardır.

Yücesoy ve Karaman (104), *Candida* türlerinde biyofilm oluşumu antifungal direnci incelemişlerdir. İki farklı yöntem kullanmışlar; bunlar tüp adherens ve mikroplate yöntemidir. 156 *Candida* türünden tüp adherens metodu ile 43 (%27), mikroplate yöntemi ile 26 slime oluşturan *Candida* türü belirlemişlerdir. Biz de çalışmamızda 250 *Candida* türünde 64 (% 25,6) slime oluşturan türü tüp adherens yöntemi ile saptadık, benzer oranlar tarafımızdan gösterilmiştir.

Dolapçı ve Tekeli (105), 350 *Candida* türünde slime oluşumunu incelemişlerdir. Bunların 8'i kandan, 246'sı ağızdan, 19'u da vajinal sürüntüden elde edildi. Modifiye tüp adherens metodu ile 53 (%15,14)'ünde slime oluşumu saptandı.

Çalışmamızda slime oluşturan türler %25,6 oranı ile daha önceki çalışmalardaki oranlardan benzer veya yüksek saptandı.

Çalışmamızda Amp-B'nin subinhibitör konsantrasyonlarında 64 Candida türünden 23'ü slime üretmiş, 41' ise üretmemiştir. Vorikonazol'un MİK değerlerinde 23'ü slime üretmiş, 41'i üretmemiştir. İtrakonazol'de 17'si üretmiş, 47'si üretmemiştir. Flukonazol de ise 29'u üretmiş, 35'i slime üretmemiş olarak saptandı.

Çalışmamıza göre antifungaller subinhibitör konsantrasyonlarda slime oluşumunu % 64,1 oranında inhibe etmiş, katater enfeksiyonu geçirenlerde ve immün düşkün hastalarda verilen düşük dozlardaki antifungallerle mikroorganizma kolonizasyonu % 50'den fazla engellenebileceği, dolayısı ile yüksek dozlardaki antifungallerin hastaya vereceği zararın azaltılabileceği düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda *Candida* türleri ile oluşan fungal enfeksiyon insidansı artmıştır. Enfeksiyonlardan en sık izole edilen tür *C.albicans* olmakla beraber günümüzde non-albicans türlerle oluşan enfeksiyonlarda artış gözlenmektedir. Kullanılan antifungal ajanlara karşı özellikle non albicans türlerde direnç görülmektedir.

Biyomateryallerin yüzeyinde *Candida* slime faktör oluşumu; kolonizasyon ve enfeksiyonlar için bir kaynak olup, çoğu kez mikroorganizmalardaki antimikrobiyal direnç ile de yakından ilişkilidir.

Kateterler, ekstraselüler matriks içinde biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile kolonize olmakta ve mikroorganizmanın bu biyofilmden ayrılması çoğu kez septisemi ile sonuçlanmaktadır

### Sonuçlar:

Klinik örneklerden 250 *Candida* türü saptandı.

- Bunların 158'si *C.albicans* (%63,2), 71'i *C.glabrata* (%28,4), 8'i *C.tropicalis* (%3,2), 8'i *C.kefyr* (%3,2), 2'si *C.krusei* (%3,2), 1'i *C.parapissilosis* (%0,4), 1'i *C.sake* (%0,4), 1'i *C.keturi* (%0,4) olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.1).
- Bu suşlardan 48 (%19.2)'i ağızdan, 42 (%16.8)'si vajinal sürüntüden, 42 (%16.8)'si balgamdan, 25 (%10)'i trakeal aspirattan, 20 (%8)'si yara yerinden, 16 (%6.4)'sı idrardan, 14 (%5.6)'ü ayak parmak arasından, 13 (%5.2)'ü el tırnağından, 12 (%4.8)'si batın içi mai örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen *Candida*'ların klinik örneklerle göre dağılımı Tablo 4.2'da verilmiştir.
- Slime oluşturan türler modifiye tüp adherens metodu ile belirlenmiştir. Bu suşların 41'i *C.albicans* (%64.1), 13'ü *C.glabrata* (%20,3), 3'ü *C.tropicalis* (%4,6), 5'i *C.kefyri* (%7.8), 1'i *C.krusei* (%1,6), 1'i *C.sake* (%1,6) olarak tanımlandı.
- Slime oluşturan türlerin Amfoterisin B, Vorikonazol, Itrakonazol ve Flukonazole karşı duyarlılıkları mikrobuyyon dilüsyon yöntemi ile araştırılarak incelenmiştir. Türlerin antifungallere duyarlılıkları; Amp-B'ye %98.4, Vorikonazole %68.7, Itrakonazole % 51.6, Flukonazole %53 saptandı.

- Antifungallerin subinhibitör konsantrasyonlarında; 64 *Candida* türünden Amp-B ile 41 (%64,1)'i slime oluşumunun inhibe edildiği, 23 (%35,9)'ünün ise etkilenmediği; vorikonazol ile 41 (%64,1)'inin inhibe edildiği; 23 (%35,9)'ünün etkilenmediği; itrakonazol'de 47 (%73,4)'sinin inhibe edildiği, 17 (%26,6)'sinin etkilenmediği. Flukonazol de ise 35 (%54,7)'inin inhibe edildiği; 29 (%45,3)'unun etkilenmediği saptandı. Subinhibitör konsantrasyonlarda antifungallerle slime oluşumunun engellenmesi %64,1 oranında tesbit edilmiştir.

### Öneriler

Son yıllarda fungal enfeksiyonlarda *Candida* türlerinde artış gözlenmektedir. En sık izole edilen tür *C.albicans* olmakla beraber günümüzde non-albicans türleride enfeksiyonlarda yol açmaktadır. Kullanılan antifungal ajanlara karşı özellikle non-albicans türlerde direnç görülmesi *Candida*'ların tiplendirilmesinin önemli olduğunu göstermektedir.

Biyomateryallerin yüzeyinde *Candida* slime faktör oluşumu; kolonizasyon ve enfeksiyonlar için bir kaynak olup, çoğu kez mikroorganizmalardaki antimikrobiyal direnç ile de yakından ilişkilidir.

Kateterler, ekstraselüler matriks içinde biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile kolonize olmakta ve mikroorganizmanın bu biyofilmden ayrılması çoğu kez septisemi ile sonuçlanmaktadır

Çalışmamıza göre antifungaller subinhibitör konsantrasyonlarda slime oluşumunu % 64,1 oranında inhibe etmiş, katater enfeksiyonu geçirenlerde ve immün düşkün hastalarda verilen düşük dozlardaki antifungallerle mikroorganizma kolonizasyonu engellenebilir. Dolayısı ile yüksek dozlardaki antifungallerin hastaya vereceği zararın azaltılabileceği düşünülmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. John E, Edwards J.R.(1995) *Candida* Species. In: Principles and Practise of Infectious Disease. Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. Eds (4. Ed). New York: Churchill Livingstone, 2289-2306.
2. Warren N.G., Hazen K.C.(1995) *Candida*, Crpytoccoccus and other Yeasts of Medical Importance. In: Manual of Clinical Microbiology. Murray P.R, Baron E.J, Pfaller M.A. Eds (6. Ed.) Washington DC: Amerikan Society for Microbiology, 723-738
3. Levitz S.M.( 1992) Overview of host Defenses in Fungal Infections. *Clinical Infectious Diseases*; **14** (suppl 1), 37-42
4. Wingard J.R. ( 1995) Importance of *Candida* Species Other than *C.albicans* as Pathogens in Oncology Patients. *Clinical Infectious Diseases*; **20**:115-125
5. Uzun M. (1999) *Candida albicans*. In: Aaçfidan A., Anđ . (eds) *Cinsel temasla bulaşan hastalıklar*. İstanbul, 365-385.
6. Kevin C., Howell H. (2003) *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In: Murray P.R., Baron E.J., Pfaller A.M. (eds) *Manual of Clinical Microbiology* (8 th. ed. ), Washington, 1693-1711.
7. Rinaldi G.M. (1993) Biology and pathogenicity of *Candida* species. In: Bodey P.G (ed). *Candidiasis, pathogenesis, diagnosis and treatment*. New York: Raven Pres, 1.
8. Segal E, Elad D. ( 1998) *Candida* species and *Blastoschizomyces capitatus*. In: Ajello L, Hay JR (eds). *Topley and Willson's Microbiology and Microbial Infections*. Vol.4. *Medical Mycology*. New York: Oxford University Press, Inc., 423.
9. Sheperd M.G. ( 1990) Biology of *Candida* species, In: Samaranayake LP, MacFarlane TW.(eds). *Oral Candidiasis*. Cambridge: Butterworth and Co. Lld., 11.
10. Yücel A. (1986) Tıp bakımından önemli *Candida* türlerinin mikolojisi. Tümbay E (ed). *Candida* Enfeksiyonları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları. No.6. Bornova: Bilgehan yayınevi, 9.

11. Tintelnot K., Haase G., Seibold M., et al. (2000) Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *C. dubliniensis*. *J.Clin. Microbiol.*; **38(4)**: 1599.
12. Neumeister B., Rockemann M., Marre R. (1992) Fungemia due to *Candida pelliculosa* in a case of acute pancreatitis. *Mycoses*. **35**;309.
13. Heath IB. (1995) The cytoskeleton. In: Gow NAR, Gadd G.M.(eds). *The growing fungus*. London: Chapman and Hall., 99.
14. Gow NAR, Crombie T, Gooday W. (1989) Polarized morphogenesis of *Candida albicans*, In: Tümbay E, Seeliger HPR, Anđ O. (eds) *Candida and Candidamycosis*. New York: Milenium Press., 13.
15. Calderone RA, Braun PC. (1991) Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. *Microbiological Reviews*. **55 (1)**;1.
16. Hostetter MK. (1994) Adhesins and ligands involved in the interaction of *Candida spp.* with epithelial and endothelial surfaces. *Clin. Microbiol. Rev.* **7(1)**; 29.
17. Kuştımur S. (1994) *Candida* patogenezinde rol oynayan faktörler. *Mikrobiyoloji Bült.* **28: 2**; 175.
18. Gow NAR. (1995) Yeast-Hyphal Dimorphism. In: Gow NAR. Gadd GM. (eds). *The growing fungus*. London: Chapman and Hall., 403.
19. Culter JE. (1991) Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu. Rev. Microbiol.* **45**; 187.
20. Çerikcioğlu N., Kotiloğlu E., Alaçam R. (1995) *Candida* acid proteinase: Its role in virulence. *Türk J. Dermatol.* **1-2**; 50.
21. Barrett-Bee K, Hayes Y, Wilson RG., et al. (1985) A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. *J.Gen. Microbiol.* **131**; 1217.
22. Chakrabarti A., Singh K., Narang A., et al. (2001) Outbreak of *Pichia anomala* infection in the pediatric service of a tertiary care center in Northern India. *J.Clin. Microbiol.* **39**; 1702.
23. Hoepfich PD, Ricaldi MG. (1994) Candidosis. In: Hoepfich PD, Jordan M, Ronald. AR (eds). *Infectious Diseases. (5th ed.)* Philadelphia: J P Lippincott Company., 498.

24. Baillie G.S., Douglas L.J.(1999) Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilms. *J Med Microbiol.*; **48**: 671-679.
25. Hawser S.P., Baillie G.S., Douglas J. (1998) Production of extracellular matrix by *Candida albicans* biofilms. *J Med Microbiol.*, **47**: 253-256.
26. Nikawa H, Nishimura H, Hamada T,. at al. (1999) Effects of modified pellicles on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces. *Mycoses.*, **42**: 37-40.
27. Xu Y, Ambudkar I, Yamagishi H., at al.(1999) Histatin 3-mediated killing of *Candida albicans*: effect of extracellular salt concentration on binding and internalization. *Antimicrobial Agents and Chemother*, **43**: 2256-2262.
28. Branchini M.L., Pfaller M.A., Rhine-Chalberg J. (1994) Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol.*, **32**: 452-456.
29. Pabuççuoğlu U. (2000) Kandidiazis. Mikozlar, Patogenez ve Patoloji. İzmir Güven ve Nobel Tıp Kitapevi, 63.
30. Uzun Ö. (1998) Fungal Hastane İnfeksiyonlarında tedavi yaklaşımları. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* **2**, 156-163.
31. Alpöz A. R., Hilmioglu S., Taşbakan M. I. (1999) Oral carriage of *Candida* and association between *Candida* and  $df_s$ ,  $DMF_s$  scores in a group of 7-12 year-old children. *Turkish Journal of Infection* **13(2)**, 169-172.
32. Sugar M.A., Lyman C.A. (1997) *Candida*. A Practical Guide to Medically Important Fungi and the Diseases They Cause. Philadelphia: Lippincott-Raven., 34.
33. Richardson M.D, Warnock D.V. (1997) Stperficial Candidosis. In: Fungal İnfection, Diagnosis and Management. (2nd ed.) Biaekvvell Science, 78.
34. Richardson M.D., Warnock D.W. (1997) Deep Candidosis. In: Fungal infection, Diagnosis and Management. (2nd ed.) Blackwell Science, 131.
35. Crislip M.A., Edwards J.E. (1994) *C.albicans* and related species. In: Gorbach S.L., Bartlett J.G., Blackiow N.R. (eds). Infectious Diseases. Philadelphia: WP Saunders Company., 1887.



36. Tümbay E, Karakartal G. (1986) Sistemik *Candida* İnfeksiyonları. Tümbay E (ed). *Candida* ve enfeksiyonları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları. No:6. Bornova: Bilgehan Yayınevi, 35.
37. Yücel A., Kantarcıoğlu A.S. (1999) *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler. *Cerrahpaşa J Med* **30(3)**, 236-246.
38. Hilmioğlu S., (2002) *Candida* enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı: Klasik tanıda izlenecek yol ne olmalı? *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 121-124.
39. Toraman Z.A. (2003) Doğrudan tanı yöntemleri ve önemi. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 166-175.
40. Özkütük A. (2003) Yeni izolasyon yöntemleri. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 176-181.
41. Kurutepe S., Değerli K., Çetinkaya Z. ve ark. (2001) *Candida* türlerinin tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyerinin değerlendirilmesi. İn: Kuştimur S., Kalkancı A. et.al. 2. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 251,
42. Yücesoy M., Ergör G., Yuluğ N. (2001) *Candida* türlerinin tanımlanmasında "CHROMagar *Candida*" besiyerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bül*t **35**, 549-557.
43. Yücel A., Kantarcıoğlu A.S. (2002) *Candida* türlerinde klamidospore oluşumunun yeni ve özgül bir yöntemle incelenmesi ve tanı bakımından önemi. *Turkish Journal of Infection* **16(3)**, 339-344.
44. Antoniadou A., Torres H.A., Lewis R.E., et.al. (2003) Candidemia in a tertiary care cancer center: in Vitro susceptibility and its association with outcome of initial antifungal therapy. *Medicine (Baltimore)* **82(5)**, 309-21.
45. Saraçlı M.A. (2002) *Candida* enfeksiyonlarının tanısında moleküler ve genetik tanı yöntemleri. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 133-144.

46. Bozdayı G., Kalkancı A., Biri A., ve ark. (2001) Çeşitli örneklerden izole edilen ve ID32 C kiti ile *Candida albicans* olarak isimlendirilen suşların PCR ve klasik yöntemlerle yeniden tiplendirilmesi. İn: Kuştimur S., Kalkancı A. et.al. *2.Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 193.
47. Güneş İ., Kalkancı A., Kuştimur S. (2001) *Candida* türlerinin tiplendirilmesinde kullanılan üç farklı hazır kitin karşılaştırılması. İn: Kuştimur S., Kalkancı A. et.al. *2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 248-49.
48. Çerikçioğlu N. (2003) Yeni identifikasyon yöntemleri. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 182-191.
49. İnci R. (2002) Antifungal ilaçlar. İn: Willke A.T., Söyletir G., Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İzmir, Nobel Tıp kitapçevleri, 296-306.
50. Kuştimur S. (1999) Antifungal duyarlılık testleri İn: Ustaçelebi Ş. ve ark. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji (1 th edition)*, Güneş kitabevi, Ankara, 1159-1166.
51. Voss A. (1999) Therapeutic approach to the patient with Candidemia. *Clinical Microbiology and Infection Disease* **5**, 2S51-2S57.
52. Arıkan S., Rex J.H. (2003) Antifungal Agents. İn: Murray P.R., Baron E.J., Pfaller A.M. et.al. *Manual of Clinical Microbiology* (8 th. Ed. ), Washington, 1859-1868.
53. Pauw B. (2000) Is there a need for new antifungal agents? *Clinical Microbiology and Infection Disease* **6**, 23-28.
54. Yücel A., Katarçioğlu A. S. (2002) Antifungallerin sistemik mantar enfeksiyonlarda kullanımı ve duyarlılık deneyleri: Genel yönlendirme. *Cerrahpaşa J Med* **33**, 261-280.
55. Yücesoy M., Gültaş N.Ş., Yuluğ N. (1999) Amfoterisin B lipit kompleksi ve lipozomal Amfoterisin B'nin *Candida albicans* suşlarına antifungal etkinliği ve bu etkide fosfolipaz üretiminin rolü. İn: Tümbay E., İnci R., Hilmioğlu S. ve

- ark. 1. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 1999) Kongre Kitabı*, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 235.
56. Arıkan S. (2001) Lipozomal Nistatin, Ekinokandinler ve Sordarinler. In: Kuştimur S., Kalkancı A. et.al. 2. *Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 149-154.
57. Katarcıoğlu S.A., Yücel A. (2003) Terbinafin ile flukonazol kombinasyonunun *Candida albicans* kökenlerine karşı *in vitro* etkisi. *Turkish Journal of Infection* **17(1)**, 71-75.
58. Arıkan S. (2002) *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 161-166.
59. Koç A.N. (2002) Tıbbi bakımdan önemli olan *Candida* türlerinin mikolojik özellikleri. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 37-45.
60. Mathema H., Cross E., Dun E. et.al. (2001) Prevalance of vaginal coloniation by drug-resistant *Candida* species on college-age women with previous exposure to over-the-counter azole antifungals. *CID* **33**, 22-26.
61. Koç N. (2003) Ülkemizde antifungal direnç. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 285-300.
62. Kalkancı A. (2003) Yeni antifungaller ve direnç mekanizmaları. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 272-284.
63. Halmy K. (2003) Treatment of onychomycoses. *Orv Hetil.* Oct 12; 144 **(41)**: 2003-9
64. Arıkan S. (1999) Antifungal Duyarlılık Testleri. *Ankem Dergisi* **13**, 332-336.
65. Yücesoy M. (1999) Mayalar için antifungal duyarlılık testleri. İn: Tümbay E., İnci R., Hilmioğlu S. ve ark. 1. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik*

*Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 1999) Kongre Kitabı*, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 191-199.

66. Rodriguez-Tudella J.L., Barchiesi F., Bile J. et. al. (2003) Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. *Clin Microbiol and Infect* **9**, 1-8.

67. National Committee for Clinical Laboratory Standarts. Reference method for Broth Dilution susceptibility.(1996) Testing of Yeasts; Approved Standard. NCCLS Document M27A. Villanova, Pennsylvania.

68. Pfaller M.A, Arıkan S., Lazono-Chiu M. et. al. (1998) Clinical evaluation of the ASTY colorimetric microdilution panel for antifungal susceptibility testing. *Journal Clin Microbiol.* **36**, 2609-12.

69. Pirinçgiller M. (1995) Maya mantarların tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılığı. Uzmanlık Tezi. On Dokuz Mayıs Üniversitesi. Samsun.

70. Azel H.E., Durmaz B., Refik M. ve ark. (1999) Turgut Özal tıp merkezinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida*'ların türlere göre dağılımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* **6(2)**, 146-49.

71. Kuştimur S., Kalkancı A., Mansuroğlu H. (2001) *Candida* türlerinin flukonazole duyarlılıklarının saptanmasında iki farklı mikrodilüsyon yönteminin karşılaştırılması. *Turkish Journal of Infection* **15(3)**, 349-351.

72. Coşkun Ö., Beşirbellioğlu A.B., Yıldiran Ş.T. ve ark. (2001) Kandidemili hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin Amfoterisin B ve Flukonazole in vitro duyarlılıkları. *Mikrobiol bült.* **35**, 565-571.

73. Ener B. (2003) Kandidoz. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 218-220.

74. Öztürkcan S., Topçu S. et.al. (1993) Diabetik hastarda oral *Candida* insidansı. *Mikrobiyoloji bülteni* **27**, 352-356.

75. Mete M., Arıkan E. (1993) Antibiyotik sağaltımındaki çocuklarda ağız ve bağırsakta *Candida* kolonizasyonu ve *Candida* şuşlarının Nistatine in vitro duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergisi* **7(1-2)**, 115-119.

76. Ergüven S., Köksal İ., Çerikçioğlu N. ve ark. (1990) Çeşitli örneklerden izole edilen *Candida* türleri ve antifungallere duyarlılıkları. *Ege Tıp Dergisi* **29(3)**, 966-969.

77. Göller S. (1999) Klinik örneklerden izole edilen *Candida* 'ların tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılık testleri. Uzmanlık Tezi, İzmir
78. Yücesoy M., Karaman M., Yuluğ N. (2001) İdrar kültüründen soyulanan *Candida* türlerinin flukonazol ve ampoterisin B'ye duyarlılıkları. In: Kuştimur S., Kalkancı A. et.al. 2. *Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 264.
79. Berktaş M., Gül A., Yavuz M.T. ve ark. (1996) Sağlıklı gebe kadınlarda *Candidalar*ın vajinal kolonizasyonu ve tür dağılımı. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi*, 186.
80. Tümbay E., Özbakkaloğlu B., Karadadaş N. ve ark. (1991) Mantar vulvo-vajinitlerinin yaş ve etkenlere göre dağılımı. *Ege Tıp Dergisi* **30(1)**, 94-96.
81. Hilmioğlu S., İlkit M., Çavuşoğlu C. ve ark. (1999) Vulvovajinal kandidoz etkeni mayaların in vitro antifungal duyarlılığı. *Turkish Journal of Infection* **13(2)**, 165-168.
82. Kaya D., Kiraz D. (1994) Vajinal örneklerden izole edilen maya türlerinin bazı antifungal maddelere duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni* **28**, 352-358.
83. Kantarcıoğlu A.S., Yücel A. (2001) Epidemiology of deep mycoses; considerations on antifungal prophylaxis and antifungal susceptibility tests. *Cerrahpaşa J Med* **32(3)**, 184-199.
84. Arıkan S. (2002) *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 161-166.
85. Davey K.G., Holmes E.d., Johnson E.M. et al. (1998) Comparative Evaluation of FUNGİTEST and broth microdilution methods for antifungal drugs susceptibility testing of *Candida species* and *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clin Microbiol.* 926-930.
86. Shawar R., Paetznick V., Witte Z. et al. (1992) Collaborative investigation of Broth microdilution and Semisolid agar dilution for in vitro susceptibility testing of *Candida albicans*. *Journal of Clin microbiol*, 1976-1981.

87. Espinel-Ingroff A., Kerkering M., Golson P.R. et al. (1991) Comparison Study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *Journal of Clin Microbiol* **7** 1089-1094.
88. Howser SF., Norris H., Jessup C.J. et. al. (1998) Comparison of a 2,3 Bis ( 2 Methoxy – 4 – Nitro-5-sulfophenyl )-5- ( ( Phenylamino) Carbonyl )- 2H - Tetrazolium Hydrokside (XTT) Colorimetric method with the standardized National Committee for Clinical Laboratory Standarts Method with testing clinical yeast isolates for susceptibility to antifungal agents. *Journal of Clin Microbiol* **5**, 1450-1452.
89. Espinel-Ingroff A. (1998) In vitro activity of the new triazole voriconazole againsts opportunistic filamentous and dimorphic fungi anf common and emerging yeast pathogens. *Journak of Clin Microbiol.* **12(1)**, 85-88.
90. Pfaller M.A., Barry A.L. (1995) In vitro susceptibility of clinical yeast isolates to three antifungal agents determinated by the microdilution Method. *Mycopathologia* **130**, 3-9.
91. Durupınar B., Günaydın M., Saniç A. ve ark. (1995) Maya türlerinin çeşitli antifungallere duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* **9(2)**, 62.
92. Arıkan S., Gür D., Akova M. (1995) Klinik önem taşıyan *Candida* türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* **9(2)**, 60
93. Gün H., Özyurt M., Haznedaroğlu T. (1993) Klinik örneklerden patojen etken olark izole edilen *Candida* suşlarının sistemik etkili antifungal ajanlara duyarlılıkları. *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* **4**, 181-192.
94. Kiraz N., Erturan Z., Uzun M. (1997) Üçyüz *Candida albicans* suşunun Ampoterisin B, Flusştozin, Flukonazol ve Mikonazole karşı duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi.* **27**, 121-24.
95. Hsuch P.R., Lau L.J. ve ark. (2005) Antifungal susceptibilities of clinical isolates of *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother.* Feb; **49(2)**: 512-7
96. Silva V, Alvarado D, Diaz M.C. (2004) Antifungal susceptibility of 50 *Candida* isolates from invasive mycoses in Chile. *Med Mycol.* Jun; **42(3)**: 283-5

97. Çetinkaya Z, Kiraz N. (2005) In vitro investigation of antifungal activity of phenotypic variation *Candida albicans* strains against fluconazole, itraconazole, voriconazole. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, **46(3)**: 197-201
98. Sojakova M, Liptojova D ve ark. (2004) Fluconazole and Itraconazole susceptibility of vaginal yeast isolates from Slovakia. *Mycopathologia*, Feb; **157(2)**: 163-9
99. Cuenca-Estrella M ve ark. (2005) In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents. *J. Anticrop Chemother.* Feb; **55(2)**: 194-9
100. Fattani MA., Douglas LJ. (2006) Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. *J Med Microbiol.*, Aug; **55(Pt 8)** :999-1008
101. Lewis R.E., Kontoyiannis D.P., Darouiche R.O. et al. (2002) Antifungal activity of amphotericin B, fluconazole, and voriconazole in an in vitro model of *Candida* catheter-related bloodstream infection. *Antimicrob Agents Chemother.* Nov; **46 (11)**: 3499-505
102. Fattani M.A., Douglas L.J. (2004) Penetration of *Candida* biofilms by antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother*, Sep; **48 (9)**: 3291-7
103. Ozkan S, Kaynak F, Kalkanci A. et al. (2005) Slime production and proteinase activity of *Candida* species isolated from blood samples and the comparison of these activities with minimum inhibitory concentration values of antifungal agents. *Mem Inst.Oswaldo Cruz*. May; **100(3)**: 319-23. Epub 2005 Aug 15.
104. Yucesoy M, Karaman M. (2004) Biofilm production and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species. *Mikrobiyol. Bul.*, Jan-Apr; **38 (1-2)**: 91-8.
105. Dolapci I, Tekeli A. (2002) Production of slime factor by various *Candida* types. *Mikrobiyol. Bul.* Jul-Oct; **36 (3-4)**: 323-8

**KABUL VE ONAY**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki  
jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08.02.2007

Doç. Dr.Orhan Cem AKTEPE

ÜYE

Doç. Dr. Zafer Çetinkaya

ÜYE

Doç. Dr. Neşe DEMİRTÜRK

ÜYE

Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Alparslan ARSLAN'ın ‘‘ Candida Türlerinde Subinhibitör Konsantrasyonda Antifungal İlaç Uygulamalarının Slime Faktör Oluşumuna Etkileri’’ başlıklı tezi ....../....../2007 günü saat .....da Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Fevzi Sefa DEREÖY

Enstitü Müdürü



## ÖNSÖZ

Tezimin tüm safhalarında bilgi ve desteğinden yararlandığım ve büyük yardımlarını gördüğüm Danışman Hocam Doç. Dr. Zafer ÇETİNKAYA'ya teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladığımdan bu yana sürekli ilgi, destek ve teşviklerini gördüğüm Hocalarım Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE'ye, Doç. Dr. Mustafa ALTINDIŞ'e ve Yrd. Doç. Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ'ye de teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamda benden yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. S. Nilay KIYILDI, Dr. Gülşah AŞIK, Dr. Nedim TUNÇ'a da teşekkürler...

Tabi ki; beni bu yaşıma getiren, her türlü fedakârlığı yapan sevgili aileme ve eşime minnettarım.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Önsöz.....	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
Tablo Listesi.....	VII
<b>ÖZET</b> .....	1
<b>SUMMARY</b> .....	3
<b>1. GİRİŞ</b> .....	5
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	6
2.1. Tarihçe.....	6
2.2. <i>Candida</i> Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri .....	6
2.2.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri.....	6
2.2.2. <i>Candida</i> Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	6
2.2.3. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri.....	7
2.3. Tıbbi Öneme Sahip Bazı <i>Candida</i> Türleri.....	9
2.4. <i>Candida</i> 'ların Hücre İnce Yapısı.....	10
2.4.1. Hücre İskeleti.....	10
2.4.2. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı.....	10
2.4.3. Hücre Membranı.....	11
2.5. <i>Candida</i> 'ların Virulans Faktörleri.....	11
2.5.1. Konak hücre yüzeyine tutunma (adezyon):.....	11
2.5.2. Maya-Hif Dimorfizmi.....	13
2.5.3. Fenotipik Değişimi.....	13
2.5.4. Salgısal Aspartil Proteinazlar.....	13
2.5.5. Fosfolipazlar.....	14
2.5.6. Slime Faktör.....	14

2.6. <i>Candida</i> İnfeksiyonlarında Bağışıklık Sisteminin Rolü.....	16
2.7. Patoloji.....	16
2.8. <i>Candida</i> ların Patogenezi.....	17
2.9. <i>Candida</i> Enfeksiyonları ve Tanısı.....	19
2.9.1. Yüzeysel <i>Candida</i> İnfeksiyonları.....	19
2.9.2. Primer Kutenöz Kandidiyazlar.....	20
2.9.3. İnvaziv <i>Candida</i> İnfeksiyonları.....	21
2.9.4. Allerjik Hastalıklar.....	25
2.10. Ekoloji ve Epidemiyoloji.....	25
2.11. <i>Candida</i> Türlerinin Laboratuar Tanısı.....	29
2.12. Tedavi.....	34
2.12.1. Polyen Grubu Antifungaller.....	35
2.12.2. Azoller.....	36
2.12.3. Primidin Sentezi İnhibitörleri.....	37
2.12.4. Ekinokandinler.....	38
2.12.5. Yeni Antifungal Ajanlar.....	38
2.13. Antifungal Duyarlılık Testleri.....	39
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>42</b>
3.1. İzolasyon.....	42
3.2. İdentifikasyon.....	42
3.3. Slime Oluşumunun Belirlenmesi.....	44
3.4. Antifungal Duyarlılık Testi.....	45
3.5. Slime Oluşturan Suşlar İçin Antifungal Stok Solüsyonları ve Dilüsyonların Hazırlanması.....	49
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>51</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>57</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>67</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>69</b>

**KISALTMALAR**

<b>ABCD</b>	: Amfoterisin B Colloidal Disporsiyon
<b>ABLC</b>	: Amfoterisin Lipid Kompleks
<b>ADT</b>	: Antifungal Duyarlılık testi
<b>AM<sub>3</sub></b>	:Antibiyotik Medium 3
<b>Amp-B</b>	: Amfoterisin B
<b>AGA</b>	: Arjinin-Glisin-Asparajin
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
<b>DK</b>	: Dissemine Kandidiyaz
<b>DMSO</b>	: Dimetil Sulfoksit
<b>EIA</b>	: Enzimimmunoassay
<b>5-FC</b>	: 5-Flusitozin
<b>GİS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>KOH</b>	: Potasyum Hidroksit
<b>KMK</b>	: Kronik Mukokütenöz Kandidoz
<b>LA</b>	: Lateks Aglütinasyon
<b>MİK</b>	: Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
<b>MOPS</b>	: 3-(N- Morfolino) Propan Sulfonik Asit
<b>CLSI</b>	: Clinical and Laboratory Standards (NCCLSI: National Committee for Clinical Laboratory Standards)
<b>NK</b>	: Natural Killer Hücreleri
<b>PNL</b>	: Polimorf Nüveli Lökositler
<b>RES</b>	: Retikülo-Endotelyal Sistem
<b>RIA</b>	: Radyoimmunassay
<b>SDA</b>	: Sabouraud Dekstroz Agar

**TABLO LİSTESİ**

**Tablo 2.1:** Klinik örneklerde üretilen *Candida* türlerinin kültür, mikroskopi ve biyokimyasal özellikleri.

**Tablo 2.2:** Klinikte sık kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları.

**Tablo 2.3:** CLSI M27 antifungal duyarlılık testi yönteminin temel prensipleri.

**Tablo 2.4:** Alternatif antifungal duyarlılık testleri.

**Tablo 3.1:** Amfoterisin B, Itrakonazol ve Vorikonazol dilüsyonlarının hazırlama şekli.

**Tablo 3.2:** Flukonazol dilüsyonunun hazırlama şekli.

**Tablo 4.1:** Klinik Örneklerden izole edilen *Candida* türleri.

**Tablo 4.2:** İzole edilen *Candida* türlerinin klinik örneklere göre dağılımı.

**Tablo 4.3:** Slime oluşturan *Candida* türleri

**Tablo 4.4:** Slime Oluşturan *Candida* türlerinin Amfoterisin B için MIK değerleri

**Tablo 4.5:** Slime Oluşturan *Candida* türlerinin Vorikonazol için MIK değerleri

**Tablo 4.6:** Slime Oluşturan *Candida* türlerinin Itrakonazol için MIK değerleri

**Tablo 4.7:** Slime Oluşturan *Candida* türlerinin Flukonazol için MIK değerleri

**Tablo 4.8:**Slime oluşturan *Candida* türlerinde subinhibitör konsantrasyonda Amfoterisin-B, Vorikonazol, Itrakonazol, Flukonazol'un slime oluşumuna etkileri