



T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAN KÜLTÜRÜNDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA TÜRÜ
MAYALARIN REPETETİVE-PCR İLE KLONAL
DAĞILIMLARININ BELİRLENMESİ**

Begüm (BAYRAM) UÇAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Yasemin ZER

Gaziantep
2016

T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAN KÜLTÜRÜNDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA TÜRÜ
MAYALARIN REPETETİVE-PCR İLE KLONAL
DAĞILIMLARININ BELİRLENMESİ**

Begüm (BAYRAM) UÇAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Yasemin ZER

Gaziantep
2016

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

KAN KÜLTÜRÜNDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA TÜRÜ
MAYALARIN REPETETİVE-PCR İLE KLONAL
DAĞILIMLARININ BELİRLENMESİ

Begüm (BAYRAM) UÇAR

Tez Savunma Tarihi: 21.10.2016

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmamın bir "Yüksek Lisans" derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.


Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Yasemin ZER
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Prof.Dr.Yasemin ZER

Prof.Dr.Ayşen BAYRAM

İmzası





BEYAN

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

21.10.2016

Begüm (Bayram) UÇAR

TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca desteğini ve yardımını esirgemeyen başta tez danışman hocam Prof. Dr. Yasemin ZER'e, eğitim sürecimde deneyimlerini ve bilgi birikimleri ile her turlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL, Prof. Dr. Ayşen BAYRAM ve Doç. Dr. Fahriye EKŐİ' ye teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen eőim Mehmet Sadık Uçar'a ve aileme. Yardımlarını esirgemeyen Mustafa Işık' a, yüksek lisans arkadaşlarım Hilal Sümeyra Bozhüyük' e, Dilara Tüter'e ve İrem Güneş'e teşekkür ederim

21.10.2016

Begüm (Bayram) UÇAR



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iii
KISALTMALAR ve SİMGELER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
GRAFİKLER DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. <i>Candida</i> 'ların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri	2
2.2.1. <i>Candida albicans</i>	6
2.2.2. <i>Candida glabrata</i>	7
2.2.3. <i>Candida tropicalis</i>	7
2.2.4. <i>Candida parapsilosis</i>	7
2.2.5. <i>Candida krusei</i>	7
2.2.6. <i>Candida lusitaniae</i>	8
2.3. Ekoloji ve Epidemiyoloji	8
2.4 Patogenez ve Patoloji	10
2.5 <i>Candida</i> Enfeksiyonları (kandidoz)	12
2.5.1 Yüzeysel kandidozlar	12
2.5.1.1 <i>Candida</i> dermatiti	12
2.5.1.2 Ağız kandidozu	12
2.5.1.3 <i>Candida</i> özofajiti	13
2.5.1.4 <i>Candida</i> vajiniti	13
2.5.1.5 Kronik mukokutanöz kandidoz (KMK)	13
2.5.2 Derin (sistemik) kandidozlar	13
2.5.2.1 Kandidemi	14
2.5.2.2 Merkezi sinir sistemi kandidozu	15
2.5.2.3 Solunum sistemi kandidozu	15
2.5.2.4 <i>Candida</i> endokarditi	16
2.5.2.5 <i>Candida</i> osteomyeliti	16
2.5.2.6 <i>Candida</i> endoftalmi	16
2.5.2.7 Gastrointestinal <i>Candida</i> enfeksiyonları	16
2.5.2.8 Kandidüri ve üriner sistem kandidozu	17
2.6 <i>Candida</i> immünolojisi	17
2.7. <i>Candida</i> 'ların tanısı	19
2.7.1 Mikroskopik inceleme	19
2.7.1.1 Primer izolasyon	20
2.7.1.2 İdentifikasyon	20
2.7.1.2.1 Germ tüp testi	20
2.7.1.2.2 Mısırunlu Tween 80 besiyerinde morfolojik görünüm	21
2.7.1.2.3 Karbonhidrat asimilasyon testleri	21
2.7.1.2.4 Karbonhidrat fermantasyon testleri	22
2.7.1.2.5 Üreaz testi	22
2.7.1.2.6 Hızlı trehaloz testi	22
2.7.1.2.7 Kromojenik besiyerleri	22

2.7.1.2.8. <i>Candida</i> 'ların İdentifikasyonunda PCR Bazlı Metodlar.....	23
2.7.2 Kültür Dışı Tanı Yöntemleri	24
2.7.2.1 Serolojik yöntemler.....	24
2.7.2.2 Moleküler Yöntemler.....	25
2.8. <i>Candida</i> İnfeksiyonlarının Tedavisi	26
2.9. Non-albicans <i>Candida</i> (NCAC) Türleri.....	28
2.10. <i>C. albicans</i> 'larda Virülans Faktörler	31
2.11. <i>Candida</i> 'ların Virülans Faktörleri	34
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	41
3.1. Örneklerin Toplanması.....	41
3.2. Kan Kültür Sistemi	41
3.2.1 Bactec 9240	41
3.2.2. Aerop kan kültürü şişesinin içeriği.....	42
3.2.3. Besiyerileri.....	42
3.3. Mayaların Tanımlanması	43
3.3.1. Konvansiyonel Testler.....	44
3.3.2. Phoenix Mikroorganizma Tanımlama Sistemi.....	44
3.4. Kökenlerin Genotiplenmesi İçin Moleküler Yöntem.....	46
3.4.1. DNA Ekstraksiyonu İçin Yapılan Aşamalar	46
3.4.2. Thermalcycler'da DiversiLab Parmak-izi Kiti Kullanılarak rep-PCR Yapılması Aşaması	47
3.4.3. Biyoanalizör Kullanılarak Otomatik Mikrofluidic Elektroforez Yapımı	48
3.4.4. rep-PCR DNA Fingerprinting	49
4. BULGULAR.....	51
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ	77

KISALTMALAR ve SİMGELER

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

AIDS : Acquired İmmunodeficiency Syndrome

AMB : amfoterisinB

AP-PCR : application of polymerase chain reaction

BOS : beyin omurilik sıvısı

CLSI : The Clinical and Laboratory Standards Institute

DNA : Deoksiribonükleik Asit

EIA : Enzyme İmmun Assay

ELİSA : Enzyme Liked İmmuno Sorbant Assay

EMB : Eosin Metilen Blue

GİS :Gastro İntestinal Sistem

GlcNAc : N-asetil-D-glukozamin

HIV : Human İmmunodeficiency Virus

IgA : immünglobülinA

IgG : immünglobülin G

KOH : potasyum hidroksit

µL: mikrolitre

µm : mikrometre

NCAC : non-Albicans candida türleri

NK : natural killer

OPC : orofaringeal kandidoz

PAS : periyodik asit schiff

PCR: polymerase chain reaction

PFGE : pulsed field gel elektroforez

PHR1: pH-regülatörü gen1

PHR2 : pH-regülatörü gen2

PL : fosfolipaz

PNA-fish : peptit nükleik asitli in situ floresan hibridizasyon yöntemi

PVC : polivinil klorür

RE : restriksiyon enzim

Rep-PCR : repetitive element palindromic polymerase chain reaction

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

RIA : Radio İmmun Assay

SAP: salgısal asit proteinaz

SDA : Sabouroud Dekstroz Agar

SVK : santral venöz kateter

TRL : toll-like reseptörleri

UPGMA : unweighted pairwise grouping matematisal averaging

USA : United States of America

YBÜ : Yoğun Bakım Ünitesi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Candida albicans</i> suşlarının çeşitli morfolojik üremelerinin epifloresan fotokompozisyonu	29
Şekil 2.2. <i>Candida</i> türlerinin Cornmeal Tween 80 agarda makroskopik kolonileri ve SDA'daki mikroskobik yapıları	30
Şekil 2.3. Bir maya hücresinin germinasyon, tomurcuklanma ve mukozadan penetrasyon aşamaları	33
Şekil 4.1. <i>C.albicans</i> , <i>C. Parapsilosis</i> , <i>C.tropicalis</i> ilişkisini gösteren dendogram....	54
Şekil 4.2. <i>C.albicans</i> , <i>C. Parapsilosis</i> , <i>C.tropicalis</i> ilişkisini gösteren benzerlik matriksi	55



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Bazı önemli <i>Candida</i> türlerinin biyokimyasal (asimilasyon) özellikleri...	4
Tablo 2.2. Kandidoz için predispozan faktörler	9
Tablo 2.3. Çeşitli <i>Candida</i> türlerinin morfolojik özellikleri	29
Tablo 2.4. <i>Candida albicans</i> ile ilişkilendirilen virulans faktörleri.....	40
Tablo 3.1. Mayaların tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal reaktifler	45
Tablo 3.2. Thermal Cycler Cihazı Uygulama Verileri	48
Tablo 4.1. Hastaların cinsiyetleri, yaşları ve tanımlanan türler	51
Tablo 4.2. Hastaların yaş ortalaması.....	52



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1. Hastaların türler arasında dağılım grafiği.....	52
Grafik 4.2. <i>C.albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C.tropicalis</i> ilişkisini gösteren noktalama grafiği	56



ÖZET

Kan Kültüründen İzole Edilen Candida Türü Mayaların Repetitive-PCR İle Klonal Dağılımlarının Belirlenmesi

Begüm UÇAR

Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: prof. Dr. Yasemin ZER

78 sayfa, Haziran 2016

Yoğun bakım üniteleri (YBÜ) hastane enfeksiyonlarının en sık rastlandığı hastane birimleri olup, son yıllarda maya enfeksiyonlarında da artış gözlenmektedir. Maya enfeksiyonlarının çoğunun endojen kökenli olduğu bilinmekle birlikte çapraz bulaşın da olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma, YBÜ’ünde yatmakta olan hastaların kan kültürü örneklerinden izole edilmiş *Candida* izolatlarının DNA parmak izi analizi ile benzerliklerinin araştırılması amacı ile yapılmıştır.

Mayıs-Aralık 2014 tarihinde, YBÜ’ünde yatmakta olan hastaların kan kültürü örneklerinden izole edilen *Candida* izolatları çalışmaya alındı. Kan kültürü örnekleri Bactec (BD, USA) sisteminde değerlendirildi. Üreme olan kan kültürü şişelerinden önerilen prosedüre uygun olarak subkültürler yapıldı. Tanımlama, konvansiyonel yöntemler ve Phoenix (BD, USA) kullanılarak yapıldı. *Candida* olarak saptanan mikroorganizmaların Diversilab (Biomerieux, Fransa) cihazı ile rep-PCR yöntemi ile DNA parmak izi analizi yapılarak klonal benzerlikleri araştırıldı.

Çalışma kapsamında 44 farklı hastadan soyutlanmış izolatta DNA parmak izi araştırması yapıldı. Bununla birlikte 40 izolatta sonuç alındı. Çalışmada değerlendirilen 40 izolattın, 21’i (% 52.5) *C. albicans*, 12’si (% 30) *C. parapsilosis*, 7’si (% 17.5) *C. tropicalis*, idi. DNA parmak izi analizi sonrasında 9 *C. parapsilosis* izolatının aynı klon olduğu saptandı. Ayrıca *C. albicans* izolatları arasında 3 farklı benzerlik (her birinde iki izolat bulunan) saptandı.

Kandidemide mikroorganizmanın kaynağının sıklıkla endojen olduğu bilinmekle birlikte, izolatların bazılarının identik saptanması kandida için ekzojen kaynaklar olabileceğini düşündürmüştür. YBÜ gibi birçok risk faktörü taşıyan hastaların yattığı alanlarda enfeksiyon kontrol önlemlerinin doğru uygulanmasının en önemli yaklaşım olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kandidemi, Yoğun bakım ünitesi, rep-PCR

ABSTRACT

Detection of clonal distribution of *Candida* type yeasts isolated from blood culture with repetitive PCR

Begüm UÇAR

Master Thesis, University of Gaziantep, Institute of Medical Sciences

Department of Medical Microbiology

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Yasemin ZER

78 pages, June 2016

Intensive Care Units (ICU) are the most common hospital units for nosocomial infection and an increase in the *Candida* infection has been observed in recent years. *Candidas* are known to be endogenous origin of the majority of infections which are thought to be cross-contamination. This study was to evaluate *Candida* isolates which are isolated from blood culture samples of patients are investigate the similarity with DNA fingerprint analysis.

Isolated from blood culture isolates of *Candida* in patients who were stayed ICU enrolled in the study in May and December 2014. Blood culture samples were evaluated in the Bactec system (BD, USA). In accordance with the proposed procedure, sub-cultures were made from the blood culture bottle of Reproduction. Identification was performed using convention methods and Phoenix (BD, USA). Microorganisms identified as candida was searched Diversilab (Biomérieux, France) and rep-PCR DNA fingerprinting analysis.

During the research, there has been a study on the isolates from 44 different DNA fingerprints. With this study, they reached out their results on 40 isolates. 40 isolates that were evaluated in this study were consisted of, they discovered 21 isolates consist *C. albicans* (52.5 %), 12 consist of *C. parapsilosis* (30 %) and 7 consist of *C. tropicalis* (17.5 %) out of 40 isolates.

After the DNS fingerprint analysis, 9 *C. parapsilosis*, isolates was proven to be in the same clone. Besides, there has shown 3 different similarities in *C. albicans* isolates. The source of microorganisms also often known endogenous, that has suggested that it may be for some isolate determination. It is believed that; the most important approach is to touce control over the infections that the patiens with intensive care unit or similar risky factories.

Key words: Candidemia, intensive care units, rep-PCR



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Candida'lar insanların derilerinde ve mukozalarında bulunan ökaryotik diploid mayalar olarak bilinmektedir. Kişilerde genellikle ağız veya gastrointestinal kanalda bulunmaktadırlar. İnsanlarda yüzeysel ya da kronik enfeksiyonlara neden olmaktadır. *Candida* türlerinin hepsinin değil sadece belli bir kısmının insanlarda enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir. Çoğunlukla *C. albicans*'ın enfeksiyona neden olduğu bildirilmekle birlikte özellikle non-albikan bazı *Candida* türlerine de (*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei* ve *C. glabrata*) son yıllarda daha sıklıkla rastlanmaktadır.

Candida'lar normal florada bulunmalarına rağmen genellikle enfeksiyonlarına karşı doğal bir direnç söz konusudur. Bununla beraber bu doğal direncin kırılmasına neden olan özellikle tanı ve tedavi amacıyla uygulanan invaziv işlemlerde artış, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı, immün süpresif hasta sayısında artış gibi majör sebepler *Candida* enfeksiyonlarının da yaygınlaşmasına neden olmuştur. Günümüzde hastane enfeksiyonları içerisinde *Candida*'ların 2. veya 3. sıralarda olduğu rapor edilmektedir. *Candida*'ların yaptığı enfeksiyonların önemli mortalite, morbidite nedeni olduğu bilinmektedir. Aslında diğer önemli bir problem de antifungal sayısının insan-maya hücresel benzerliğinden dolayı çok olmayışıdır. Tüm bunlar göz önüne alındığında diğer hastane enfeksiyonlarında olduğu gibi *Candida* etkenli hastane enfeksiyonlarında da enfeksiyon kontrol prosedürleri öne çıkmaktadır.

Enfeksiyon kontrolünün sağlanması amacıyla önerilenlerden biri kaynak enfeksiyonlarının belirlenmesidir. Günümüzde yaygın olarak *Candida* enfeksiyonlarına kaynağı endojen olduğu, mantarın konak faktörlerine bağlı fırsatçı patojen olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, YBÜ gibi birçok risk faktörü taşıyan hastalarda fungemi etkeni olarak saptanan *Candida* türü mantarların benzerlik analizi ile araştırılması ve enfeksiyon kontrol programlarına katkı sağlanması amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Pamukçuk olduğu düşünülen oral lezyonların anlatımları Hippocrates ve Galen'in zamanlarına kadar dayanır. Rosen ve Rosenstein 1771'de pamukçuğun özellikle yenidoğanların hastalığı olduğunu açıklamışlardır. Veron 1835'te hastalığın doğum kanalından bulaştığını savunmuştur. Langenbeck 1839'da bir hastanın oral lezyonlarında mantar bulmuş, fakat bunun tifonun etkeni olduğunu zannetmiştir. Berg, 1841'de pamukçuğun fungal nedenli olduğunu ispatlamıştır. 1843'te Robin organizmayı *Oidium albicans* adıyla tanımlamıştır. 1861'de Zenker, ilk iyi dokümanede edilmiş derin yerleşimli *Candida* vakasını tanımlamıştır. İlk *Candida* neden liendokardit vakası 1940'ta tarif edilmiştir. *C. albicans* için bir dönem yüzden fazla sinonim mevcut olmakla birlikte, Zopf tarafından 1890'da konulan *Monilia albicans* ve Berkhout'un 1923'te kullandığı *Candida albicans* isimleri en fazla kullanılmış ve sonunda ikincisi kalıcı olmuştur (1,2).

Candida enfeksiyonlarının tarihinde en ilginç zaman aralığı, 1940'larda antibiyotiklerin yaygın olarak kullanıma girmesiyle başlamıştır. Bu dönemden sonra, *Candida* enfeksiyonlarının her çeşidinde patlama denebilecek kadar bir artış görülmüş, ayrıca daha önce görülmemiş klinik şekilleri ortaya çıkmaya başlamıştır (2).

2.2. *Candida*'ların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Mantarlarla ilgilenen bilim dalı olan mikoloji, adını Yunanca şapkalı mantar anlamına gelen "mykes"ten almıştır. Mantarlar çoğunlukla fırsatçı patojen mikroorganizmalar olup aynı zamanda ökaryotik hücre özelliğine sahiptirler. Yeryüzündeki mantarlar spor yapılarına, hif yapılarına ve eşey özelliklerine göre 5 taksonomik sınıfa ayrılırlar. Bunlar Oomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes ve Deuteromycetes sınıflarıdır. Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes ve Deuteromycetes insanda hastalık oluşturan mantar cinslerini içerir. *Candida* türleri Deuteromycetes sınıfında yer alırlar. Deuteromycetes sınıfı yapay bir sınıf olup, eşeyli üremesi saptanamayan mantarların tümü bu sınıfta incelenir. Seksüel sporlarının olmaması nedeniyle bu grupta

yer alan mantarlar tam olmayan ya da eksik mantarlar (Fungi Imperfecti) olarak da adlandırılmaktadır (1,3,4).

Candida cinsi içerisinde yer alan mantar türleri, normalde insan deri ve mukoza florasında bulunan mikroorganizmalardır. Doğum sırasında veya doğumdan hemen sonra yenidoğana bulaşarak çeşitli vücut bölgelerinde kolonize olurlar. Bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında kandidoz olarak tanımlanan yüzeysel veya derin, akut veya kronik enfeksiyonlara neden olurlar (3,5,6).

Candida türleri, klinik örneklerde ve kültürlerinde, 3-6 µm büyüklüğünde oval veya yuvarlağımsı, tomurcuklanan hücreler (blastokonidyum veya blastosporlar) olarak görülen, maya şeklinde funguslardır. Türlerin çoğu, yalancı hif (psödohif) oluştururlar. Yalancı hif, peş peşe tomurcuklanan blastokonidyumların birbirinden ayrılmayıp uzayarak ve aralarında boğumlar oluşturarak yaptıkları hücreler zinciridir. *Candida* türleri arasında *C. albicans* ve çok daha seyrek izole edilen *C. dubliniensis* ve *C. norvegensis* gerçek hifler de oluşturabilmektedirler (5,7).

Candida türleri, SDA gibi rutin besiyerlerinde oda ısısında ve 37 °C'de 24 saatte üreyip genellikle kirli beyaz veya krem rengi, yumuşak kıvamlı ve tipik olarak mayamsı kokulu koloniler oluşturmaktadırlar. Koloninin besiyeri yüzeyinde kalan bölümü blastokonidyumlardan oluşmuştur; besiyerinin yüzeyinin altında da yalancı hifler bulunur (5). Bakteri üretiminde kullanılan genel üretim besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilmektedirler. Bu yüzden, genç kültürlerde bakteri kolonileri ile karışabilmektedir. Gram pozitif boyanma özelliği göstermektedirler (3). En iyi üreme pH 4.5-5 arasında olup, pH 3-7.5 arasında üreyebilen türleri de vardır (8).

Çok sayıda olan kandida türlerinden sadece bazıları insanda enfeksiyon etkenidir. En sık görülen kandidoz etkeni *C. albicans*'tır. İnsanda hastalık oluşturan diğer önemli türler; *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei* ve *C. glabrata*'dır. Ancak bunlar dışında *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. famata*, *C. zeylanoides*, *C. utilis* gibi bazı türler de, sık olmamakla birlikte, enfeksiyon etkeni olarak görülebilirler (5).

Candida albicans iki morfolojik test ile diğer kandida türlerinden ayırt etmek mümkündür. Serumda 37 °C'de iki saatlik inkübasyon sonunda hücrelerden boğum

oluşturmadan uzayan çimlenme boruları (germ tüp) veya gerçek hif oluştururlar. Mısırunu-Tween 80 agarda ise *C. albicans* tipik olarak iri ve küre şeklinde klamidosporeler (klamidokonidyum) oluşturur. Bu iki özellik tür için tanı koymakta oldukça önemlidir (5,7,9).

Candida türleri, SDA gibi rutin besiyerlerinde oluşturdukları kolonileri ve mısırunu-Tween 80 gibi besinden fakir besiyerlerinde saptanan blastokonidyumlarının özellikleri ve blastokonidyumların yalancı hif boyunca dizilimlerine göre farklar gösterirler. Ancak türlerin kesin tanısı sonradan yapılan şeker fermentasyon ve asimilasyon deneyleri ile konulur (5, 10) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Bazı önemli *Candida* türlerinin biyokimyasal (asimilasyon) özellikleri (5)

	Glukoz	maltoz	sukroz	Trehaloz	Galaktoz	Sellobiyoz	Ksiloz	Rafinoz	Laktoz	Dulsiitol	Melibiyoz	Üreaz	NO ₃ -NO ₂
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. kefyr</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Candida'ların hücre duvarı konak ile başlıca etkileşimden sorumlu olan yapıdır. Çeşitli moleküllerin iç ve dış ortamlar arasında geçişlerinde rolü vardır ayrıca maya hücresinin değişik yüzeylere tutunmasında (adezyon) doğrudan görev alır. Ayrıca mantarın maya veya hif formunun karakteristik şeklinin korunmasından sorumludur ve hücreyi osmotik, kimyasal ve fiziksel hasarlara karşı korur (8,11,12).

C. albicans'ın hücre duvarı, hücrenin kuru ağırlığının yaklaşık % 30'unu oluşturmaktadır (12). Hücre duvarının ana bileşenleri (% 80-90) karbonhidratlardır. Proteinler (% 6-25) ve lipidler (% 1-7) minör duvar bileşenleri olarak bulunurlar. Karbonhidratlar ise başlıca üç temel polisakkarit yapısında bulunur:

- 1) Proteinlerle kovalent olarak bağlanmış mannoz veya mannan polimerleri (mannoproteinler),
- 2) β -1,3 ve β -1,6 7 bağları içeren dallanmış glukoz polimerleri olan β -glukanlar,
- 3) β -1,4 bağları içeren, dallanmamış N-asetil-D-glukozamin (GlcNAc) polimerlerinden oluşan kitin (11,13,14).

Mikrofibriller polimerler olan β -glukanlar ile kitin, duvarın yapısal komponentleridir. Hücreye güçlü fiziksel özellikler sağlayan sert iskeleti oluşturmaktadırlar. Miktar olarak β -glukanlar ve hücre duvarı ağırlığının % 47-60'ı olmak üzere ana bileşenlerdir. Kitin, küçük (% 0.6-9) ama önemli bir komponenttir (11,13). Düşük kitin düzeyli mutantların, osmotik olarak hassas olduğu ve anormal morfoloji gösterdiği tespit edilmiştir (12). Öte yandan mannan yapısal polimerler olan β -glukanlar ve kitinin içine gömüldükleri amorf matriksi ve hücre duvarı karbonhidratlarının % 40'ını oluştururlar. Bu karbonhidratlar içerisinde en önemlisi manandır, hücre duvarının majör antijenik komponentidir ve aynı zamanda mannoprotein yapısında olan fimbriyaların epitelyal hücrelere bağlanmada rolleri vardır (11,13,14).

Elektron mikroskopu ile yapılan çalışmalara göre kandidaların hücre duvarı elektron dansitesindeki farklılığa göre ayrılan ve değişik kalınlıkta en az beş tabaka içerir. Bu tabakaların sayısına, kalınlığına, üreme formuna (maya veya hif), üreme ortamına ve suşuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (7,15,16).

Genel olarak glukun ile kitin hücre duvarının iç tabakasında yoğun olarak görünmektedir. Protein ve mannopteinler ise tüm duvar yapısında bulunmakla birlikte, hücre duvarının dış tabakasında daha baskın görünürler (12,13). Birçok çalışma göstermiştir ki, hücre duvarının tabakalı yapısı, mannopteinlerin hücre duvarı yapısında değişik düzeylerde bulunmasından kaynaklanmaktadır (13). Diğer bir deyişle, tabakalanna, hücre duvarı bileşenlerinin (β -glukun, kitin ve mannan) her tabakada niteliksel olarak değil, niceliksel olarak farklı oranlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır (13,15). Maya hücresi ve germ tüp (hif) hücre duvarı kompozisyon olarak benzetmektedir, bununla birlikte relatif miktarları morfolojiye bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (11,13). Örneğin, *C. albicans* hif hücre duvarında mayanın hücre duvarında bulunandan üç katı kitin bulunur (13,17).

Hücre membranı taşıdığı ozmoenzimler aracılığı ile moleküllerin iç ve dış ortama geçişinde rol oynar. Kitin sentetaz gibi, duvar bileşenlerinin 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 bazı enzimler de membranda yer alırlar. *Candida*'ların hücre zarında; fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin ve fosfatidil inozitol gibi fosfolipidler bulunur. Tüm mantarlarda olduğu gibi, *Candida*'ların da hücre membranında da sterol bulunur ve membran lipidlerinin % 20'sini oluşturur. Sterolün % 95'i ergosterol formunda bulunur. Ergosterol ise antifungal ilaçlar için en önemli hedefdir (7).

2.2.1. *Candida albicans*

Candida albicans için bugüne kadar 100 farklı isim kullanılmıştır. Bu türe ilk olarak Charles-Philippe Robin (1821-1885) 1853'de *Oidium albicans* olarak ad vermiştir. Daha ileri çalışmalardan sonra Zopf, 1880'de bu ismi değiştirerek *Monilia albicans* isimlendirmiştir. Son olarak Berkhout tarafından 1923'de *Candida albicans* olarak adlandırılmıştır (18). Çeşitli *Candida* türlerinin isimleri değiştirilirken *C. claussenii* ve *C. langeronii* türleri de *C. albicans* ile birleştirilmiştir. *C. dubliniensis* türü farklı blastokonidia ve klamidospore yapıları nedeniyle *C. albicans*'tan ayrı tutulmuştur (19). Germ tüp formasyonu ve klamidospore formasyonu *C. albicans* identifikasyonunda en önemli morfolojik aranan özelliklerdir (20). *C. albicans*'ın tüm klinik izolatları diploid

yapıdadırlar (18). Tüm kandidiazis olgularında en çok izole edilen tür *C. albicans*'tır.

2.2.2. *Candida glabrata*

Candida glabrata ilk olarak Anderson tarafından 1971'de *Cryptococcus glabrata* olarak adlandırılmış olup daha sonra Lodder ve de Vries 1938'de *Torulopsis glabrata* adını vermişlerdir. Türlerin kökenlerine göre sınıflandırılması diğer *Candida* türlerinde olduğu gibi *Torulopsis* türlerinin psödohif oluşturamaması temeline dayanmaktadır. Ancak bu kriter *C. glabrata* türünün hatalı isimlendirilmesine yol açtığı için uygun görülmemektedir (21). Meyer ve Yarrow 1978'de bu türü ovoid yapısı ve psödohif oluşturamaması nedeniyle *C. glabrata* olarak isimlendirmişlerdir.

2.2.3. *Candida tropicalis*

Aldo Castellani (1877-1971) Sri Lanka'da çalıştığı dönemlerde aralarında *C. tropicalis* türünün de bulunduğu çeşitli *Candida* türlerinin ayrımı üzerine yoğunlaşmıştır (1910) ve bu türe *Oidium tropicale* adını uygun görmüştür. Bu türle ilgili verilen diğer isimlerden bazıları; *Monilia tropicalis*, *Candida vulgaris*, *Mycotorula dimorpha*, *Candida paratropicalis* olarak sayabilmek mümkündür. *C. tropicalis*'e bugüne kadar 58 farklı isim verilmiştir. Son olarak Berkhout 1923'te bugünkü ismi olan *C. tropicalis* olarak adlandırmıştır (18). *C. tropicalis* germ tüp negatiftir ve klamidospor oluşturmamaktadır. Diploid Asomiçetes benzeri mayalardır (21).

2.2.4. *Candida parapsilosis*

Bu tür için *Monilia onychopila*, *Monilia parapsilosis*, *Mycocandida parapsilosis* gibi isimlerle kullanılmıştır. Diploid bir maya türü olan *Candida parapsilosis* adını Langeron ve Talice tarafından 1932'de almıştır. Koloni morfolojisi *C. albicans* türüne benzer ancak mikroskopik olarak çarpık veya kıvrık kısa psödohif görüntüsü olup aynı zamanda bazen büyük hifal unsurları ile dev hücreler olarak adlandırılır (19).

2.2.5. *Candida krusei*

Castellani 1910'da *C. krusei*'i *Sacharomyces krusei* olarak ve 1912'de *Endomyces krusei* olarak anılmıştır (22). Chalmers ise 1913'te *Monilia krusei* ismini vermiştir.

Berkhout 1923'te *C. krusei* olarak isimlendirmeden önce bu tür için 18 farklı isim kullanılmış, son olarak *C. krusei* olarak adlandırmıştır. *C. krusei* kolonileri Sabouraud dekstroz agarda *C. albicans* ve diğer *Candida* türlerinin oluşturduğu kolonilerine benzer ancak Cornmeal-Tween 80 agarda uzamış blastokonidyalarla psödohif oluşturması, çapraz (birbirine girmiş) kibrit çöpü veya ağaç dalı görüntüsü ile *C. albicans* ve diğer *Candida* türlerinden ayrılır (18, 19). *C. krusei* türü flukonazole doğal dirençli bir mayadır.

2.2.6. *Candida lusitaniae*

Dietrichson bu türü 1954'te *Candida parapsilosis* var. Obtusa olarak adlandırmıştır. van Uden ve do Carmo-Sousa 1959'da *C. lusitaniae* olarak isimlendirmiştir. Bu tür ilk olarak Portekiz'de sıcak kanlı hayvanların sindirim kanalından izole edilmiştir. *C. lusitaniae* 1979'dan beri insanlarda kan, idrar ve solunum sisteminde fırsatçı patojen olarak değerlendirilmiştir (18). *C. lusitaniae* türü *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* türlerine benzer ancak sellobiyozu fermente edebilmesi ve ramnozu sindirebilmesi ile bu türlerden ayrılır (19). *C. lusitaniae* genellikle düşük virulanslı bir mayadır ve amfoterisin B'ye direnç gösterebilmektedir (20).

2.3. Ekoloji ve Epidemiyoloji

Candida türleri, özellikle *C. albicans*, normal nüfusun yaklaşık % 20'sinin kommensal florasında (orofarenks, gastrointestinal sistem, vajen, deri) bulunmaktadır (23). *C. albicans*, florada en sık bulunan tür olmakla birlikte deri florasında diğer türlere göre daha az yer alır. Ayrıca *C. albicans*'a çevrede de ender olarak rastlanabilir. Hastanede yatan hastalardaki kolonizasyonun, sağlıklı insanlara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (5, 7). *Candida* türleri, hafif seyreden, deri ve mukoz membranları tutan yüzeysel enfeksiyonlardan, hayatı tehdit edici, invaziv, birçok sistemi tutan enfeksiyonlara kadar değişen çeşitli klinik tablolara neden olur. *Candida*'nın çoğalması ve konak savunmasına karşı gelebilmesi için bağışıklık sisteminde bazı değişikliklerin olması gerekir (6). *Candida albicans* tüm kandidozlarda en sık görülen etkidir. Ancak son yıllarda *albicans* dışı türler desistemik kandidoz olgularında % 46'lık bir oranda daha sık görülmektedirler. Kandidoz etkeni olarak *albicans* dışı türlerin artması, geniş etki alanlı antibiyotik ve antineoplastik ilaçların kullanımı, damar içi kateterizasyon,

nötropenik ve immüsuprese hastaların sayıca artması, flukonazolün yaygın kullanımı ve ayrıca hastane ortamında personelden bulaşmaya bağlanmaktadır (5). Kandidoz için predispozan faktörler Tablo 2.2’de gösterilmiştir (24).

Tablo 2.2. Kandidoz için predispozan faktörler (24)

Kutanöz ve mukozal Kandidoz	Fizyolojik faktörler: Gebelik, ileri yaş, bebeklik Travmatik faktörler: Maserasyon, yanık, diğer enfeksiyonlar Hematolojik faktörler: Hücresele immün yetmezlik, AIDS Endokrin faktörler: Diabetes mellitus İyatrojenik faktörler: Antibakteriyel kullanımı, oral kontraseptifler
Sistemik kandidoz	İyatrojenik faktörler: İmmüsupresyon, organ nakli, cerrahi, steroid tedavisi, sitotoksik ilaçlar, antibakteriyel antibiyotikler, kateterler, hiperalbuminasyon, protez kalp kapağı Hematolojik faktörler: Kronik granüloematöz hastalık, aplastik anemi, agranülositoz, lösemi, lenfoma Diğer faktörler: Malinite, malnütrisyon, travma, intravenöz ilaç bağımlılığı, periton diyalizi
Kronik mukokutanöz kandidoz	Hematolojik faktörler: Hücresele immün yetmezlik Endokrin faktörler: Hipoparatiroidizm, demir metabolizması bozuklukları Diğer faktörler: Timoma, heredite, A hipovitaminozu

Kandidozların büyük bir çoğunluğu endojen kaynaklı olup kişi ağız veya gastrointestinal kanal florasında bulunan kandida ile enfekte olmaktadır. Ancak etken bazen ekzojen kaynaklı da olabilir (5, 25). Örneğin, vajinal kandidozlu annelerden doğan bebeklerde ağız kandidozuna rastlanabilir. Ayrıca enfekte anne eli bebek için bir enfeksiyon kaynağı olabilmektedir. Genital kandidoz cinsel ilişki ile partnerlere bulaşabilir (5). Ekzojen kaynak olarak sağlık personelinin elleri veya total parenteral beslenmenin yapıldığı santral venöz kateterler de sorumlu olabilirler. Bir çalışmada, hemşirelerin % 58'inin, yardımcı sağlık personelinin % 38'inin ellerinde kandida türlerini taşıdıkları saptanmıştır. Sağlık çalışanlarının ellerinde en çok kolonize olabilen türlerin *C. albicans* ve *C. parapsilosis* olduğu görülmüştür (25). Ayrıca yenidoğan servisinde kandida vajinitli hemşirelerden bulaşma ile ortaya çıkan enfeksiyon patlakları saptanmıştır (5).

2.4 Patogenez ve Patoloji

Candida'lar insan organizması üzerinde 3 şekilde bulunabilirler:

1) Flora üyesi olarak: Çeşitli *Candida* türleri vücudun belirli bölgelerinde yerleşerek bu bölgelerde bulunan diğer flora üyesi mikroorganizmalarla birlikte denge halinde yaşamlarını sürdürmektedirler. Bu denge bozulmadığı sürece hastalık oluşturmazlar.

2) Kolonize olarak: Uzun süre yüksek dozda antibiyotik, kortikosteroid, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımı, çeşitli kronik hastalıklar gibi hazırlayıcı faktörlerin varlığı sonucu vücudun belirli bölgelerinde az sayıda bulunan *Candida*'lar sayıca çoğalarak o bölgeye yerleşmektedirler. Bu duruma kolonizasyon adı verilir.

3) İnfeksiyon etkeni olarak: Vücudun belirli bölgelerinde kolonize olan *Candida*'lar, ya buldukları bölgede ya da çevreye yayılarak enfeksiyon oluşturmaktadırlar (3). *Candida*'lar fırsatçı enfeksiyon yapan mantarlardır. Sağlıklı kişilerde hastalık yapmayan, vücudun savunma mekanizması, bir şekilde bozulmuş veya kesintiye uğramış kişilerde hastalık oluşturan mantarlara fırsatçı enfeksiyon yapan mantarlar adı verilir (3,6). Normal bakteriyel flora, derinin ve gastrointestinal sistem mukozasının bütünlüğü ve hücrel immünite, kandida enfeksiyonlarına karşı koruyan başlıca konak faktörleridir (6). Hücrel immünite elemanları olan T ve B lenfositler deri ve mukoza

yüzeyindeki *Candida*'ların sistemik enfeksiyon oluşturmalarını engellerler. Bu yüzden *Candida*'ların enfeksiyon oluşturmaları için konak organizmada hazırlayıcı bir takım faktörlerin birlikte oluşması gerekir. Bu faktörler; uzun süreli antibiyotik kullanımı, hücrel immün yetmezlikler, diabetes mellitus gibi kronik hastalıklar, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımı, immün sistemi bozan hastalıklar, nötropeni, organ transplantasyonu, gastrointestinal operasyonlar, dengesiz beslenme, yaşlılık, malign hastalıklar, uzun süreli kateterizasyon, intravenöz ilaç bağımlılığı, kemoterapi uygulaması vs. olarak sıralanabilir (3). *Candida* enfeksiyonları yüzeysel ve derin enfeksiyonlar olmak üzere başlıca 2 grupta toplanabilir. Yüzeysel *Candida* enfeksiyonları deri ve mukozaların, derin kandidozlar ise iç organların ve çeşitli sistemlerin enfeksiyonlarıdır. Yüzeysel kandida enfeksiyonlarında etken deri veya mukozadaki bir çatlaktan yalancı hifleri ile doku içine girer; yalancı hifler ve bunlardan tomurcuklanma ile oluşan blastokonidyumları ile dokuya yayılır. Deri ve mukozada çoğalarak yüzeysel enfeksiyon oluştururlar. Derin veya sistemik kandidozlarda çoğu kez gastrointestinal olmakla beraber herhangi bir kolonizasyon odağından hematogen yayılım sonucu mantar, fagositik etkinliği yetersiz olan hastalardakanda çoğalıp hemen hemen her organa veya sisteme yerleşebilir (3,5).

Candida enfeksiyonlarının patogeneğinde, belirtilen konak faktörlerinin yanı sıra; adezyon yeteneği, maya-hif dimorfizmi ve de asit proteinaz ve fosfolipaz aktivitesine sahip hidrolitik enzimlerin üretilmesi gibi mantara ait virülans faktörlerinin rolleri de çok önemli bir yer tutmaktadır (7).

Candida'ların zararsız kommensal bir formdan patojenik forma geçişleri oldukça komplike olup, mikroorganizmanın çeşitli virülans faktörleri ve çevresel faktörlerle ilişki olduğu bildirilmektedir. *Candida* enfeksiyonlarının ortaya çıkışı hem konak hem de mikroorganizmaya ait faktörlerle ilişkilidir (26).

Candida türlerinin morfolojik özelliklerinin bilinmesi identifikasyon için önemlidir. Tanıda maya ile hif formlarının ayrımı önemli olabilmekle birlikte kültür yöntemlerine göre daha düşük sensitiviteye sahiptir (27). Direkt tanıda lezyondan alınan örneğin potasyum hidroksit (KOH) ile hazırlanan preparatında çatal şeklinde (yaklaşık 45 derece açılı) pigmentsiz septalı hiflerin görülmesi karakteristiktir (28).

KOH-Kalkaflor floresan-boyama metodunda ise hif, maya hücreleri ve diğer fungal yapılar floresan renkte görülebilmektedir (29). Lezyonlu bölgeden alınan örnek lamda tespit edildikten sonra Gram boyama veya Periyodik Asit Schiff (PAS) tekniği ile boyanarak incelenebilir. Gram boyamada kandidal hif ve mayalar koyu mavi, PAS boyamada kırmızı/mor olarak görüntülenmektedir (30).

Kronik hiperplastik kandidiazisde, lezyondan alınan biyopsi örneği PAS veya Gomori metenamin gümüş boyama yöntemiyle histolojik olarak değerlendirilebilmektedir. Bu yöntemlerle dokulardaki fungal yapıların incelenmesi mümkün olabilmektedir. Blastosporlar ve hif veya psödohiplerin varlığı histopatolojik olarak gösterilebilir. Ayrıca kronik hiperplastik kandidiazis tanısında kullanılmaktadır (31).

2.5 *Candida* Enfeksiyonları (kandidoz)

Kandidozlar, yüzeysel ve derin enfeksiyonlar olarak iki grupta incelemek mümkündür.

2.5.1 Yüzeysel kandidozlar

2.5.1.1 *Candida* dermatiti

Candida türlerine bağlı gelişen deri enfeksiyonları sık görülür ve değişik klinik tablolarla ortaya çıkabilmektedir. İntertrigo, “Erosio interdigitalis blastomycetica”, paronişi özellikle HIV ile infekte hastalarda gelişen kandida onikomikozu, bebeklerde alt bezi ile temas eden bölgelerde oluşan deri lezyonları, en sık oluşan deri enfeksiyonlarıdır. Diğer deri tutulumları arasında, folikülit, balanit, perianal kandidiyazis ve generalize kutanöz erüpsiyonlar sayılabilir (6).

2.5.1.2 Ağız kandidozu

Farklı klinik tablolar oluşabilmektedir. Pamukçuk (akut pseudomembranöz kandidiyazis); en çok süt emen bebeklerde ve yaşlılarda görülür. Bunun dışında CD4+ hücre sayısı <200 olan HIV (+) hastalarda, kanserlilerde ve steroid inhaler kullananlarda ortaya çıkabilmektedir (7).

Akut atrofik kandidoz; Akut pseudomembranöz kandidozun bir sekeli olmakla birlikte, dilde nonspesifik atrofi mevcuttur (2). Kronik atrofik kandidoz; takma diş stomatiti olarak bilinir. Angular cheilitis; ağız köşelerinde, çatlak ve inflamatuvar reaksiyonla karakterlidir (2,7). Lökoplakia; yanak, dudaklar ve dilde, eritemli zeminde oluşan, yapışık, beyaz nodüller şeklinde seyreden, topikal tedaviye yanıt vermeyen, kronik seyirli ve prekanseröz bir lezyondur (2,6,7).

2.5.1.3 *Candida* özofajiti

Özofagusta gelişen *Candida* enfeksiyonu, sıklıkla malignite tedavisi ve AIDS ile ilişkilendirilebilir. Oral kandidoz ile birlikte veya ondan bağımsız olarak oluşabilir (7, 13).

2.5.1.4 *Candida* vajiniti

Kadınların % 75'inin yaşamları boyunca en az bir kez candida vulvovajinitiepizodu geçirdikleri belirtilmektedir (2,7,32). Olguların % 80'inden *C. albicans* sorumlu olduğu bilinmektedir. Bunu % 5 ile *C. glabrata* izler. Diabetes mellitus, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve gebelik en önemli risk faktörleridir (7).

2.5.1.5 Kronik mukokutanöz kandidoz (KMK)

Genellikle erken çocukluk döneminde ortaya çıkan, deri ve mukozalarda yaygın lezyonlarla karakterize hastalık tablosu olup hücresel immün yetmezlik ve endokrinopatilerle ilişkili bulunmuştur (3,5). En sık birlikte olduğu endokrinopatiler, hipoparatiroidizm ve addison hastalığıdır (2). T lenfosit fonksiyonundaki anormallik major immün defektir. Çoğu hastada nötrofiller normal olup, T ve B lenfosit sayısı ve immünglobülin düzeyleri de normaldir (2, 24).

2.5.2 Derin (sistemik) kandidozlar

Derin/sistemik kandidoz, kandidemiye takip eder. Konak savunmasının normal olduğu durumlarda, kandidemi geçicidir ve vücut kısa sürede mantarı uzaklaştırır. Buna karşılık yetersiz fagositik etkinlik durumlarında *Candida* kandan uzaklaştırılmaz; mantar kanda

çoğalıp herhangi bir organ veya sisteme yerleşerek enfeksiyon odakları oluşturur. En sık tutulan organlar; böbrekler, deri, göz, kalp, karaciğer, dalak ve beyin zarlarıdır (5).

Sistemik kandidoz en sık kronik kortikosteroid veya başka immünoşüpresif ilaç kullanan; lösemi, lenfoma ve aplastik anemi gibi hematolojik hastalıkları olan ve kronik granüloamatöz hastalıklı kişilerde görülmektedir (5).

2.5.2.1 Kandidemi

Candida türleriyle gelişen nozokomiyal fungeminin hastanede yatış süresini ortalama 30 gün uzattığı ve tek başına % 38 mortaliteye neden olduğu gösterilmektedir (33). Kan kültüründe kandida üremesi basite alınıp, kontaminasyon olarak değerlendirilmemelidir. Bazı hastalarda disemine kandidiyazın bir bulgusudur, bazı hastalarda ise kateter kolonizasyonunu gösterir ve her durumda dikkate alınması gerekmektedir (34).

Candida spp. nozokomiyal kan akımı enfeksiyonları içerisinde dördüncü, YBÜ'lerde üçüncü sırada yer almaktadır. YBÜ'lerdeki prevalans cerrahi ve dahili kliniklere göre 10 kat daha fazladır (35). Kandidemi için <1 yaş ve >65 yaş grubunun, kanser hastalarının, diyabet hastalarının ve santral venöz kateter (SVK) taşıyan hastaların daha fazla risk altında olduğu belirlenmiştir. *Candida*'ların kan dolaşımına ulaşmaları başlıca gastrointestinal sistem (GİS) mukozasından, damar içi kateterler yoluyla ve pyelonefrit gibi lokalize enfeksiyon odağından olmaktadır (34).

İnsanlarda, mayalar dahil mikroorganizmaların kan dolaşımına geçmesinde en önemli giriş kapısı gastrointestinal sistemdir. Hastanede yatan hastada, hücresel bağışıklığı baskılayan bir enfeksiyon ya da travma ile birlikte geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, mukozal yüzeylerde *Candida*'nın aşırı çoğalmasına neden olmaktadır. Daha sonra nötrofil migrasyon ve mikrobisidal aktivitesinin baskılanması ve gastrointestinal sistem mukozasının bütünlüğünün bozulması, enfeksiyonun yayılımıyla sonuçlanır (34,36,37). Özellikle SVK'li hastalarda, *Candida*'nın damar içi kateter yüzeyinde kolonizasyonu da kan dolaşımına önemli bir geçiş yolu olduğu düşünülmektedir (34). Çalışmalar göstermiştir ki; kandidemi yönünden en riskli hastalar iki gruptur. Bunlar: 1) İmmün sistemi baskılanmış hastalar, 2) Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardır (34). Nozokomiyal kandidemili hastalarda yapılan bir çalışmada en güçlü risk faktörü olarak

uygulanan antibiyotik sayısı saptanmış ve üçten fazla antibiyotik alanlarda kandidemi riski hiç antibiyotik almayan veya en fazla iki antibiyotik alanlara göre 12.5 kat yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada kandan başka vücut bölgelerinden kandida izole edilmesi, hemodiyaliz ve “Hickmann” kateteri diğer anlamlı risk faktörleri olarak saptanmıştır (36). Kandidemi etyolojisinde en sık etken olan *C. albicans*'tır. İkinci sırada ABD'de *C. glabrata* yer alırken, Avrupa'da *C. tropicalis* veya *C. parapsilosis* etken olmaktadır. *C. glabrata* flukonazolün profilakside kullanıldığı hastalarda ve yaşlılarda artan sıklıkta görülmekte ve bu türe bağlı enfeksiyonlar daha ağır ve ölümcül seyretmektedir. *C. parapsilosis* daha çok deri ve mukozadan kaynaklanan kandidemiye yol açmaktadır (34). *C. tropicalis* kandidemileri daha çok nötropenisi ile mukoziti olan, özellikle flukonazol profilaksisi almamış olan hastalarda görülmektedir. *C. krusei*'ye bağlı kandidemiler daha çok hematolojik malignitesi olanlarda veya kemik iliği ve kanalicılarında, özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan hastalarda görülmektedir (34). Kandidemi tanısında altın standart kan kültüründe *Candida*'nın üremesidir. Fakat kan kültüründe üreme oranı düşüktür. Kandidemi tedavisinde, izole edilen *Candida* türü antifungal ilacın seçimi yönünden yol gösterici olmakla birlikte, zaman içinde direncin artacağı düşünüldüğünden antifungal duyarlılık testlerine gereksinim giderek artmaktadır. Kandidemi ve invaziv kandidozda esas sorun, kan kültürü sonuçları çıkmadan önceki dönemde veya kültürler negatif kaldığı durumlarda kandidemi şüpheli hastalara uygulanacak preemtif ya da ampirik antifungal tedaviye karar vermek ve uygun ilacın seçimini yapmaktır. Tedavinin geç başlaması, etkenin dirençli olması, dozun ve tedavi süresinin uygun olmayışı, hastanın tedavisiz kalması kandidemilerden ölüm sıklığını arttırmaktadır (34).

2.5.2.2 Merkezi sinir sistemi kandidozu

Menenjit; dissemine kandidozun bir belirtisi olarak veya bağımsız olarak gelişebilir. Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde ya da ventriküloperitoneal şanti bulunan hastalarda, hematogen yayılım sonucu veya bir travma ile mantarın doğrudan subdural bölgeye inokülasyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (7).

2.5.2.3 Solunum sistemi kandidozu

Kandida pnömonisi çoğunlukla iki şekilde oluşabilmektedir: 1) Endobronşiyal inokülasyondan kaynaklanan diffüz veya lokal bronkopnömoni veya 2) Hematojen yayılım sonucu oluşan ve erken dönemlerinde konjestif kalp yetmezliği veya Pneumocystis pnömonisinden ayrımı güç olabilen diffüz infiltrat şeklindedir. Diğer formlar nadirdir. *Candida*'lar bronşit, larenjit, epiglottit ve laringeal protez enfeksiyonuna da yol açabilmektedir (2).

2.5.2.4 *Candida* endokarditi

Prostetik kapağı ya da doğal kapakta harabiyeti olan hastalarda hematojen kandidiyazis endokardite neden olabilmektedir. Endokardit için diğer risk faktörleri intravenöz ilaç bağımlılığı ve santral venöz kateterizasyondur. Eroin bağımlılarında *C. Parapsilosis* en yaygın etkindir (2).

2.5.2.5 *Candida* osteomyeliti

Candida osteomyeliti, median sternotomi komplikasyonu olarak gelişebilmektedir. Hematojen yayılıma bağlı osteomyelit ise en sık vertebralara yerleşmektedir (38). Bazen aspirasyon ya da kortizon injeksiyonu sırasında ve daha seyrek olarak bir travma sonrası gelişebilmektedir. Kanser hastalarında ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde daha fazla görülmektedir (7).

2.5.2.6 *Candida* endoftalmiti

Candida endoftalmiti tanısı, birçok organa hematojen yayılım anlamına gelir ve hemen antifungal tedaviye başlanılmalıdır (36).

2.5.2.7 Gastrointestinal *Candida* enfeksiyonları

Candida türleri GİS'te herhangi bir bölgede mukozayı enfekte edebilmektedir. Özofagustan sonra en çok enfekte olan bölge midedir. Tipik olarak kandidanın "benign" mide ülserlerini enfekte ettiği görülmektedir. Bunun dışında, midede, oral kandidiyazise benzeyen yaygın mukoza tutulumu da tarif edilmiştir. İnce ve kalın barsaklarda ise,

ülser ve psödomembran oluşumu sık görülmektedir. Gastrointestinal mukoza tutulumu derin ülserlere ve takiben kanama ve perforasyonlara neden olabilir. Kandida, periton, karaciğer, dalak, safra kesesi ve pankreasta da enfeksiyona neden olabilir. Karaciğer, dalak ve pankreas enfeksiyonları ise, çoğunlukla kemoterapiye bağlı nötropenisi gelişen bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda görülmektedir. Bunların dışında safra kesesi ve safra kanallarında tıkanıklığa yol açan fungus topları, karaciğer ve dalakta apseler gözlenebilmektedir (6).

2.5.2.8 Kandidüri ve üriner sistem kandidozu

İdrar yolu kandidozları alt ve üst üriner sistem ile böbreğin kandida enfeksiyonlarını içermektedir. En önemli bulgusu kandidüdür. Ancak kandidüri yalnız idrar yolu enfeksiyonunun değil, kontaminasyon, kolonizasyon veya yaygın kandida enfeksiyonunun da bir belirtisi olabilir (39). Hastanede yatan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların % 5-10'unu *Candida* türleri oluşturur. Hastanede yatan ve 14 günden uzun süreli üriner kateteri olan hastalarda kandidüri sık görülmektedir. 7 günden daha uzun süreli üriner kateteri olan yoğunbakım ünitesi hastalarında kandidüri oranı % 22 olarak tespit edilmiştir (40). En sık rastlanan etkenler *C. albicans* ve *C. tropicalis*'tir. *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* da etken olarak saptanmaktadır (41). *Candida* türleriyle gelişen üriner sistem enfeksiyonları, sistit, pyelonefrit, ureterde mantar topu ve renal apse olarak sayılabilir (36).

2.6 *Candida* immünolojisi

Hücre aracılı immünite (T hücreleri) ve nonspesifik hücreli immünite (makrofajlar, NK hücreleri ve nötrofiller), genellikle mantarlara karşı asıl savunmayı sağlamaktadır. Mantarlara karşı savunmada, hücreli savunma mekanizmalarının önemi; klinik olarak, invaziv fungal enfeksiyonların çoğunun defektif hücreli immüniteli bireylerde ortaya çıktığının gözlenmesiyle kanıtlanmıştır (42).

Candida'nın kolonizasyondan, mukozal invazyon ve/veya sistemik yayılıma geçiş, konak ve mantara ait faktörlere bağlıdır. Antibiyotik tedavisi sonucu normal floranın değişmesi, kazanılmış veya primer immün yetmezlik ve anatomik bariyerlerin yıkılması enfeksiyona zemin hazırlamaktadır (43).

Mantar hücre duvarı, mantara fiziksel koruma sağlamakta olup onu kompleman aracılı lizis gibi konak savunmalarına karşı dirençli kılmaktadır. Doğumsal bağışık savunma, mantar hücreduvarı komponentlerini tanımak ve yanıt geliştirmek için, β -glukanreseptörü, mannozreseptörleri ve toll-like reseptörleri (TLR) taşımaktadır (43). Nötrofil, makrofaj ve monositler asıl önemli antifungal etkili hücrelerdir. Nötrofil ve monositler, sitokinler, kemokinler ve kompleman bileşenlerinin aktivasyonu ile enfeksiyon bölgesine toplanmaktadırlar (43). Monositik öldürme, invitro olarak polimorfonükleer öldürmeden çok daha etkili olup ek olarak eozinofiller de *Candida*'yı fagosite eder ve öldürür. Plateletler de antikandidal aktiviteye sahiptirler (13).

Doğal bağışıklık, dissemine kandidoza karşı baskın olan koruyucu mekanizmadır. Kantitatif ve kalitatif olarak nötrofil ve monositlerdeki anormallikler sistemik kandidiyazisle birlikte. Lenfoma, lösemi, kronik granümatöz hastalık ve nötropeni ile sonuçlanan yoğun kanser kemoterapisi alanlar, dissemine enfeksiyon için artmış riskaltındadırlar (43).

Hücresele aracılı immünite sırasında, *Candida* antijenleri T hücrelerine sunulur ve beraberinde sitokin sentezi ile bu hücrelerin proliferasyonu sağlanır ve bu sitokinler fagositlerin kandidasidal fonksiyonlarını artırır (44).

Orofaringeal kandidoz (OPC), immünkompromize hastalardaki en yaygın mikotik enfeksiyonlardan biridir. Hücre aracılı immünite, gastrointestinal yüzeylerde kandidozun önlenmesinde baskın rol oynamaktadır. AIDS'te orofaringeal ve özofageal kandidoz gelişimi CD4+ lenfositlerin sayısındaki azalmayla ilişkilidir. Kronik mukokutanöz kandidoz'lu hastalar tipik olarak, çocukluk çağında kandidozla tanışır. Çoğunlukla tekrarlayan ve inatçı olan bu hastalığı taşıyanların, kandida türlerine karşı hücresele immün cevaplarında yetmezlik vardır ve enfeksiyonla etkili bir şekilde mücadele edememektedirler (43).

Mantarlar, komplemanı klasik ve alternatif yoldan aktive eder ve fungal hücre yüzeyinde C3 birikir. Kompleman aktivasyonu enfekte dokulara fagositlerin toplanmasını kolaylaştırır, onların antikandidal aktivitelerini artırır (43).

Fungal enfeksiyonlarda antikora bağımlı immünitinin rolü tartışmalıdır. Literatür, antikor immünitesinin lehinde ve aleyhinde çok sayıda çalışma içerir ve medikal önemi olan mantarların herhangi biri için doğal antikor immünitesinin rolü üzerinde görüş birliği yoktur. Kandidozlu bireylerde, kontrollere göre, *C. albicans*'a karşı oluşmuş antikorların düzeyi genellikle daha yüksek bulunmaktadır (42).

Antikorlar maya hücrelerini aglütine ederler ve enfeksiyonu sınırlandırarak konak defansına katkıda bulunmaktadır. *C. albicans*'a karşı antikorlar güçlü opsoninlerdir. Bununla beraber, opsonik antikor fagositoz için gerekli değildir, çünkü maya, kompleman sistemini aktive edebilmektedir. Spesifik IgG *C. albicans* üremesini direkt etkilemez, ancak hifal antijene karşı oluşmuş Fab fragmanı germ tüp oluşumunu inhibe edebilir. *C. albicans*'a karşı oluşan antikorlar, serumda immünosupresif polisakkarit antijenleri bağlayabilir, böylece fungal ürünlerin nötralizasyonunda rol oynamaktadırlar (42).

2.7. *Candida*'ların tanısı

Kandidoz tanısında önemli olan direkt tanıdır. Yüzeysel kandidoz tanısı için incelenecek klinik örnekler; deri kazıntısı, tırnak kazıntısı ve mukozalardan alınansürüntü ve/veya kazıntı örnekleridir. Derin/sistemik kandidoz kuşkusunda kan, beyin-omurilik sıvısı, balgam, idrar, eksudalar, doku biyopsileri, ameliyat materyalleri, damariçi kateter uçları gibi örnekler incelenmektedir. Örnekler, başka mikroorganizmaların üremesini engellemek için, hemen laboratuara ulaştırılmalıdır. Ancak laboratuara hemen gönderilemeyen örnekler birkaç saat buzdolabında bekletilebilir. Derin kandidoz tanısı, klinik tablonun özgül olmaması ve tanıya ilişkin test sonuçlarının yorumundaki zorluklardan dolayı güçtür. Bu nedenle, derin kandidoz kuşkusunda olabildiğince kaynaktan örnekler alınmalı ve örneklerden özellikle direkt mikroskopik inceleme yapılmasına özen gösterilmelidir (1).

2.7.1 Mikroskopik inceleme

Deri ve tırnak kazıntısı gibi sert örneklerden % 15'lik potasyum hidroksit (KOH) ile preparat hazırlandıktan sonra direkt olarak incelenmektedir. BOS, idrar gibi sıvı örnekler ise santrifüjlendikten sonra sedimentinden, diğer yumuşak örnekler direkt olarak preparat hazırlanarak gram boyası ile boyandıktan sonra incelenir (1).

Mikroskopik incelemede, tomurcuklanan hücreler ve yalancı hifler, boyalı preparatlarda ise Gram pozitif boyanan 8-10 µm boyutunda oval veya yuvarlak *Candida* hücreleri görülebilmektedir. Preparatlarda yalancı hiflerin görülmesi *Candida*'nın doku içerisine girdiğinin veya enfeksiyonun işareti olarak kabul edilir (1,7). *Candida* sepsislerinde hasta kanından hazırlanan preparatlar Wright ve Giemsa yöntemleri ile boyanarak incelenebilir (45).

2.7.1.1 Primer izolasyon

Candida türleri her türlü hasta örneğinden izole edilebilir. Herhangi bir klinik örnekteki varlığı çevresel kontaminasyon, kolonizasyon ya da aktif enfeksiyona bağlı olabilir. Bu nedenden dolayı örneğin cinsi, aynı hastadan alınan birden fazla örnekte aynı türün üremesi, üremelerde koloni sayısı, değerlendirmelerde kritik noktalardır (46). Tüm örnekler antibiyotikli SDA gibi rutin bir besiyerine ekilerek, oda ısısında (22-26 °C) ve 37 °C'de inkübe edilirler. *Candida* türleri genellikle 24 saat içinde koloni oluştururlar, ancak 48 saatte kolonileri daha belirginleşir. Oluşan kolonilerden Gram preparasyonu yapılarak, Gram pozitif maya hücresi olup olmadığı kontrol edilir (1,7).

2.7.1.2 İdentifikasyon

Candida türlerinin geleneksel identifikasyonu morfolojik ve biyokimyasal özellikleri temel alınarak yapılır. Bu özelliklerin başlıcaları; görünümü ve rengi, hücrelerin büyüklüğü ve şekli, hif ve/veya psödohif oluşumu, germ tüp oluşturma yeteneği, klamidospore oluşturma yeteneği, karbonhidrat asimilasyonu, nitrat asimilasyonu ve şeker fermentasyonu olarak sayılabilir (47).

2.7.1.2.1 Germ tüp testi

Bu testte, Reynolds-Braude belirtisi olarak adlandırılan, *Candida*'ların serumlu ortamda germ tüpü (çimlenme borusu) oluşturma özelliği incelenir (45). Germ tüp testi, *C. albicans*'ın tanısında hızlı bir testtir ve hem primer hem de saf kültürlerden yapılabilir (47). Germ tüp oluşumunu incelemek için, test edilecek suş, insan ya da tavşan serumu içerisine ekilir ve 37 °C'de maksimum 3 saat süreyle inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası, bu süspansiyondan bir damla alınarak lam-lamel arasında 40x objektif ile incelenir. Germ tüp, maya hücresinin yarısı kadar genişlikte, 3-4 katı uzunlukta olan, maya hücrelerinden çıkan ve gerçek hifin başlangıcı olan filamentöz bir uzantıdır. En önemli özelliği, maya hücrelerinden çıkış noktasında boğum olmamasıdır. Boğum olmaması, germ tüpün psödohiften ayrımını sağlar. Germ tüp oluşturan *Candida* türleri *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'tir. *C. dubliniensis*, fenotipik özellikleri *C. albicans*'a benzeyen ve *C. albicans*'tan kesin ayrımı moleküler yöntemlerle mümkün olabilen bir türdür. İzolasyon oranı çok düşüktür (18,48). Bu nedenle, germ tüp oluşturan suşlar rutin mikoloji laboratuvarlarında *C. albicans* olarak tanımlanabilir (47,48).

2.7.1.2.2 Mısırunlu Tween 80 besiyerinde morfolojik görünüm

İncelenen suş mısırunlu Tween 80 besiyerine ekilerek hif, blastokonidyum, klamidospore ve artrokonidyum varlığı yönünden mikroskop altında incelenir. *Candida* türleri içerisinde sadece *C. albicans* ve *C. dubliniensis* klamidospore oluşturur. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* dışında kalan *Candida* türlerinin her biri, mısırunlu Tween80 besiyerinde kendine özgü tipik bir morfoloji gösterir. Örneğin, *C. glabrata*'nın blastosporları küçüktür ve psödohif oluşturmaz. Fakat bu görünüm sadece ön tanımlama için fikir verebilir ve *albicans* ve *dubliniensis* dışı *Candida* türlerinin birbirinden kesin ayrılabilmesi için mısırunlu Tween 80 besiyerindeki morfolojik görünüm yeterli olmaz (48).

2.7.1.2.3 Karbonhidrat asimilasyon testleri

Karbonhidrat asimilasyon testleri, mayayı, oksijen varlığında spesifik bir karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilmesi esasına göre tür düzeyinde tanımlamaya yardımcı olur. Klasik Wickerham-Burton yöntemini esas alan bir takım otomatize ve yarı otomatize ticari kitleler kullanımdadır. Bunlardan bazıları API 20CAUX (bioMérieux, Fransa), API ID 32C (bioMérieux, Fransa) ve BBL Minitek YeastSet

(Becton Dickinson, ABD) olarak sayılabilir (49).

2.7.1.2.4 Karbonhidrat fermantasyon testleri

Fermantatif mayalar alkol ve karbondioksit oluştururlar. Gaz oluşumu, fermantasyonun göstergesidir. Besiyerinin pH değeri değişmeyebilir. Test, birçok *Candida* türünün, *Cryptococcus* ve *Rhodotorula* gibi nonfermentatif türlerden ayrılmasında kullanılır (49).

2.7.1.2.5 Üreaz testi

Candida türlerinin, diğer mayalardan ayrımında kullanılır. *Trichosporon* türlerinin büyük çoğunluğu, *Cryptococcus* ve *Rhodococcus* türleri üreaz pozitif iken, klinik örneklerde rastlanan *Candida* türlerinin çoğunluğu *C. lipolytica* ve *C. krusei*'nin bazı suşları hariç, üreaz negatiftir (18,45,49,50). Uygun substratların varlığında, üreaz enzimi, üreyi parçalayarak amonyak oluşturur ve pH yükselmesine neden olur, bu da renk indikatörünün (fenol kırmızısı) sarıdan, pembeye renkdeğiştirmesi ile anlaşılır (18,49,50).

2.7.1.2.6 Hızlı trehaloz testi

Hızlı trehaloz testi, *C. glabrata*'nın 3 saat içerisinde identifikasyonuna olanak sağlar. The Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI), *C. glabrata*'nın trehalozu asimile etmesine dayanan hızlı bir test prosedürünü, M35-A dokümanı adı altında yayınlamıştır. Yanlış pozitif sonuç oluşabilir, ancak *C. glabrata*'nın morfolojik olarak germ tüp ve psödohif oluşturmaması ve küçük hücre boyutlarıyla desteklenirse, bu olasılık azaltılabilir (49).

2.7.1.2.7 Kromojenik besiyerleri

Kromojenik agar besiyeri kullanılarak bir veya birkaç *Candida* türünün olası tanısı belirlenebilmektedir. Bu besiyerleri, farklı *Candida* türlerinin ürettiği enzimlere aksiyona giren türe özgü kromojenik substratlar içerir ve üreyen kolonilerin rengi türe göre değişir. CHROMagar Candida (CHROMagar France; Paris, France), CandidaID (bioMerieux), CandiSelect (Bio-Rad, France) ticari kromojenik besiyerlerinden

bazılarıdır (49). *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*'nin tanımlanması için, CHROMagar'ın özgüllük ve duyarlılığı, % 100'e yakın bulunmuştur. Aynı türlerin identifikasyonunda doğru saptama oranı çok yüksektir (18).

2.7.1.2.8. *Candida*'ların İdentifikasyonunda PCR Bazlı Metodlar

Candida enfeksiyonlarının tanısında kullanılan moleküler bazlı tekniklerden en etkili tartışmasız PCR yöntemidir. Bu teknik kan ve doku örneklerinden oldukça fazla miktarda mikrobiyal nükleik asidi tanımlama yapabilmektedir. Son yıllarda *Candida* kökenli sistemik enfeksiyonların tanısında PCR tekniğinin etkinliğini araştırmaya yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır (54-56).

PCR reaksiyonu, DNA'nın çift zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasını (denatürasyon), daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasını (hibridizasyon) ve sonra zincirin uzamasını (polimerizasyon) (çift iplikçikli DNA'ların sentezi) ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. PCR'in en önemli getirisi, spesifik primerlerin örnekler üzerinde direkt olarak kullanılabilir olması, diğer mikroorganizmalar ya da konak DNA'sını amplifiye etmemesidir.

PCR duyarlılığını arttırmak için birçok araştırmacı fungal genom için amplifiye edilecek DNA bölgelerine özgü primerler oluşturmuşlardır. Mayalarda hedef tanı için en sık kullanılan PCR primerleri, 18S, 5.8S ve 28S rRNA alt ünitelerini kodlayan rRNA gen bölgesi için, internal transcribed spacer 1 (ITS1), ITS2 ve ITS4' tür (50). Daha yeni olarak, multipleks hedefler, real-time PCR için eşlenerek *Candida* türlerinin identifikasyonunda başarıyla uygulanmaktadır (55,56).

Candida türlerinin morfolojik özelliklerinin bilinmesi identifikasyon için önemlidir. Tanıda maya ve hif formların ayrımı önemli olabilmekle birlikte kültür yöntemlerine göre daha düşük hassasiyete sahiptir (27). Direkt tanıda lezyondan alınan örneğin potasyum hidroksit (KOH) ile hazırlanan preparatında çatal şeklinde (yaklaşık 45 derece açılı) pigmentsiz septalı hiflerin görülmesi karakteristiktir (28).

KOH-Kalkoflor floresan-boyama metodunda ise hif, maya hücreleri ile diğer fungal yapılar floresan renkte görülebilmektedir (29).

Lezyonlu bölgeden alınan örnek lamda tespit edildikten sonra Gram boyama veya Periyodik Asit Schiff (PAS) tekniğiyle boyanarak incelenebilir. Gram boyamada kandidal hif ve mayalar koyu mavi, PAS boyamada kırmızı/mor olarak görüntülenmektedir (30).

Kronik hiperplastik kandidiazisde, lezyondan alınan biyopsi örneği PAS veya Gomori metenamin gümüş boyama yöntemiyle histolojik olarak değerlendirilebilmektedir. Bu yöntemlerle dokulardaki fungal yapıların incelenmesi mümkün olabilmektedir. Blastosporlar ve hif veya psödohiflerin varlığı histopatolojik olarak gösterilebilir. Ayrıca kronik hiperplastik kandidiazis tanısında kullanılmaktadır (31).

2.7.2 Kültür Dışı Tanı Yöntemleri

2.7.2.1 Serolojik yöntemler

Mantar enfeksiyonlarında serolojik testlerin rutin tanıda kullanımı henüz tam olarak yaygınlaşmamıştır. Hastane enfeksiyonlarına yol açması nedeniyle daha çok *Candida* enfeksiyonlarının tanısında bu testler kullanılmaktadır (7). Serolojik testler, mantar enfeksiyonlarının tanısı yanında, hastanın tedaviye cevabının değerlendirilmesinde, hastalık ilerlemesinin gösterilmesinde kullanılabilir. Serolojik testlerin bir kısmı mantar antijenlerine karşı oluşan antikorların gösterilmesine yöneliktir. Diğerleri ise mantar antijenlerinin ve metabolik ürünlerin gösterilmesi temeline dayanır. Antijen ve antikorların birlikte araştırıldığı yeni kombine testler daha özgül sonuçlar verir. Kandidozun tanısında tek başına kullanılacak bir test bulunmamaktadır. Tek örnekten elde edilen sonucun duyarlılığının düşük olması nedeniyle literatürde bir anlaşma oluşmamıştır. Bu sebeple birden çok ardışık örneğin test edilmesi gereklidir. Serolojik testlerden elde edilen sonuçlar, klinik bulgular ve kan kültür sonuçları ile beraber değerlendirilmelidir (51).

Antikorların gösterildiği testler

Candida'ya karşı oluşan antikorlar tüm hücre aglütinasyonu, Lateks aglütinasyonu, indirekt immün floresans, RIA ve EIA ile araştırılabilir. Başlıca hedef antikorlar, anti-mannan antikorlar olmuşturmaktadır. Enolaz, aspartik proteinaz ve metalloproteinaz gibi kandida antijenlerine karşı oluşan antikorlar da arama için kullanılabilir diğer hedeflerdir (51).

Antijenlerin gösterildiği testler

Bu amaçla ısıya duyarlı antijen, mannan ve enolaz kullanılmaktadır (51). İnvaziv kandidoz tanısında en fazla kullanılan antijenik yapı manmandır. Sağlıklı bireyde antikorlarca hızla uzaklaştırılmaktadır. Bu sebeple immünsüprese kişilerde daha kullanışlıdır. En çok kullanılan yöntem ELISA yöntemidir. Anti-mannan antikor testi ile beraber kullanıldığında duyarlılık ve özgüllüğü artmaktadır (46,51). Mantar hücre duvarı komponentlerinden B-glukan antijeninin serumda aranması son zamanlarda hızla önem kazanan bir testtir. Ancak bu test panfungal bir test olup, sadece mantar varlığını gösterebilen, ancak cins özelliği veremeyen bir yöntemdir (46,51).

Fungal metabolitlerin gösterildiği testler

Tanı için kullanılan major fungal metabolit D-arabinitol'dur. İdrarda D-arabinitol/L-arabinitol oranının tespit edilmesi tanıda yardımcı olmaktadır. Fakat gaz likid kromatografisi gibi ileri yöntemler gerektirir. İkinci bir yaklaşım, D-arabinitol/kreatinin oranının serumda bakılmasıdır (46,51,52). Salgısal aspartik proteinazların kandidoz da taranması yeni bir tanısal yaklaşım olup, kolonizasyon ve enfeksiyon ayrımı yapabilecekleri bildirilmiştir (51).

2.7.2.2 Moleküler Yöntemler

Klinik örneklerden *Candida* türlerini belirleyecek rutin kullanımda olan bir sistem yoktur (46,53). Pek çok çalışma, üremeden sonra identifikasyona yönelik olmuştur. Ancak son yıllarda peptid nükleik asit floresans in situ hibridizasyon (PNA-FISH) ticari kiti kullanım onayı almıştır. Kit, türe özgül rRNA dizisini hedefleyerek kan kültürlerinde *C. albicans*'ın belirlenmesini sağlar. Yapılan çalışmalarda testin % 99 duyarlı, % 100 özgül olduğu saptanmış olmakla beraber diğer türler için yardımı yoktur

ve kan kültür pasajlarının gerekliliğini ortadan kaldıramaz (46).

2.8. Candida İnfeksiyonlarının Tedavisi

Fungal enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungal ilaçları kimyasal özellikleri ve elde edilmiş özelliklerine göre yeni bulunanlarla birlikte 10 grup altında incelemek mümkündür. Bunlar; polyenler, azoller, primidinler, benzofuranlar, alilaminler, ekinokandinler, sordarinler, nikomisinler, pramidisinler, benanomisinler ve azasterollerdir (3).

Polyenler: Streptomyces cinsi mantarların ürettiği sekonder metaboliklerden hazırlanan antimikotiklerdir. Bunlar hücre membranı üzerine etki ederek hücre membranının fonksiyonunu bozarlar. Başta ergosterol olmak üzere mantar hücresinin membranındaki sterollere bağlanırlar. Bu grupta 2 önemli antifungal ilaç bulunmaktadır. Bunlar; Amphotericin B ve Nystatin dir. Amphotericin B candida türleri, Blastomyces dermatidis, Aspergillus ve diğer fırsatçı küf mantarları ile mukormikoz etkenlerine karşı etkilidir. Nystatin ise Streptomyces noursei kültürlerinden elde edilen polyen grubu antifungaldır (3).

Azoller: Geniş spektrumlu bir antimikotik olup Gr (+) bakteriler üzerinde belli bir derecede etkilidir. Ergosterol biyosentezini ve mantar hücresinin oksidaz reak.larını engelleyerek hücre membranı sentezini bozarlar. Fungistatik etkiye sahiptirler. Azoller kimyasal özelliklerine göre 2 gruba ayrılır. Bunlar; imidazoller ve triazollerdir. Bu grup ilaçlar gerek lokal enfeksiyonlarda gerekse sistemik enfeksiyonlarda kullanılırlar. Oral ve topikal olarak kullanılan formları da vardır. Azol grubunda yeni geliştirilen 3 antifungal ilaç daha olup bunlar; vorikanazol, posakonazol ve ravukonazol'dür (3).

Primidinler: Bu gruptaki en önemli antifungal flutosin'dir. Dar spektrumlu bir aktivitesi vardır. Yalnızca candida, kriptokok ve aspergilluslara bağlı sistemik enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Emilimi ve BOS'a geçişi iyi, proteinlere bağlanması düşüktür. Mantarlar üzerine etkisi nükleik asit sentezi üzerinedir (3)

Benzofuranlar: En önemli antimikotik Griseofulvin'dir. Fungustatik aktiviteli olup

oral alımı takiben hızla absorbe olur. Genelde mantar hücresinin mikrotübüler proteinlerine bağlanıp mitozu önleyerek ve Nükleik asit sentezini engelleyerek etkili olur. Ayrıca kitin sentezinide engelleyerek hücre duvarı üzerine de etkili olur. Oral yolla kullanılmakta olup ağız yoluyla alındığında zayıf absorbe olmasına rağmen, deride stratum korneumda yüksek oranda toplanır. Bu sayede mikrotübülleri etkileyerek mantarın hif oluşturmasını ve üremesini engeller. Bu yüzden dermatofitoz tedavisinde kullanılır (3).

Alilaminler: Bu grupta terbinafin ve naftitin yer alır. Terminafin sistemik veya topikal, naftatin ise yalnızca topikal olarak kullanılır. Etki alanları dar olup genellikle dermatofitler üzerine etkilidir. Lipofilik ve keratolitik etki gösterirler. Skualen peroksidazı inhibe ederek skualen ve ergosterol sentezinin bloke olmasına yol açar. Mantarın hücre duvarı işlevi ve sentezi bozularak fungusitik etki ortaya çıkar (3).

Ekinokandinler: Mantar hücresinin 3-beta-glukan sentezini bozarak etki eden antifungallerdir. Candida ve Aspergillus türleri üzerine fungusid etkisi vardır (3).

Sordarinler: Elongasyon Faktör-3 üzerine etki göstererek mantar hücresinin protein sentezini bozan antifungallerdir. Mayalar ve küf mantarları üzerine etkilidir (3).

Nikomisinler: Streptomyces tendea tarafından üretilen peptid yapıda antifungaldir. Bu antifungalın etkili olabilmesi için mantar hücresi içine girmesi gerekir. Mantar hücresi içine giren antifungal kitin senteaz enzimini inhibe eder. Bu enzimin inhibe olmasıyla mantar hücresinin kitin biyosentezi bozulur ve hücre parçalanarak ölür (3).

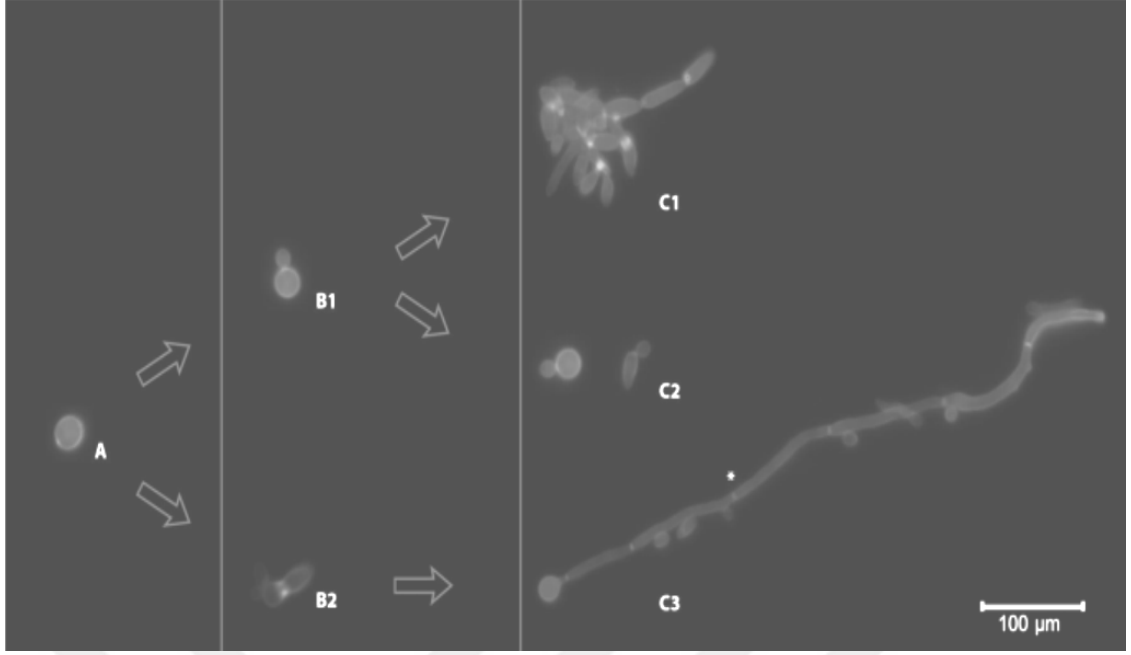
Pramidisinler ve Benanomisinler: Mantar hücre duvarında mannoproteinlerin sakkarid bölgeleri ile kalsiyum bağımlı kompleksler oluşumuna yol açarlar. Buna bağlı olarak membran bütünlüğünü ve fonksiyonu bozulan mantar hücresi ölür. *Candida*, *Aspergillus* türleri ve *C. neoformans* üzerine etkilidir (3).

Azasteroller: Mantar hücresinde sterol sentezini bozan bileşiklerdir. Sterol sentezi duran mantar hücresinde bir süre sonra bölünme durmaktadır. Bu da mantar hücresinin çoğalmasını engelleyici etki yapmaktadır (3)

2.9.Non-albicans *Candida* (NCAC) Türleri

Candida'lar oldukça fazla miktarda heterojen gruplara sahip ve değişik morfolojik karakterlerde fungal mikroorganizmalardır. Makroskopik olarak *Candida* kolonileri SDA'da üremekte, krem renginden sarıya kadar değişen renklerde koloniler oluşturmaktadırlar. Bu türler, kültür özelliklerine göre, S koloni, parlak veya kuru, buruşuk veya mat olabilmektedir. Standart şartlarda ve optimal besi yerlerinde koloniler yuvarlaktan ovale kadar değişen şekillerde, tomurcuklanan ve yaklaşık olarak 2-5×3-7 µm büyüklüğünde olmaktadır (60) (Şekil 2.2). *C. albicans* ve *C. dubliniensis* gibi türler hif formunda veya psödohif gibi filamentöz tipte koloniler de oluşturabilmektedirler (Şekil 2.1). Hif ve psödohif arasındaki fark hangi yol ile oluştuğu ile ilgilidir. Psödohifler maya hücrelerinden tomurcuklanma yoluyla oluşmaktadır, ancak yeni gelişenler ana hücreye yapışık olarak uzantılar göstermektedirler ve filamentler halinde daralarak, hücre-hücre bağlantılarını oluşturmaktadırlar (Şekil 2.1). Psödohifler arasında internal septalar bulunmamaktadır (Şekil 2.1). Gerçek hifler ise maya hücrelerinden veya mevcut hiflerin dallarından oluşmaktadırlar. Gerçek hiflerin gelişmesi "germ tüp" prensibiyle başlamakta daha sonra uzantılar ve yan dallar halinde septalarla bölünmüş fungal birimler şeklinde devam etmektedirler (Şekil 2.1).

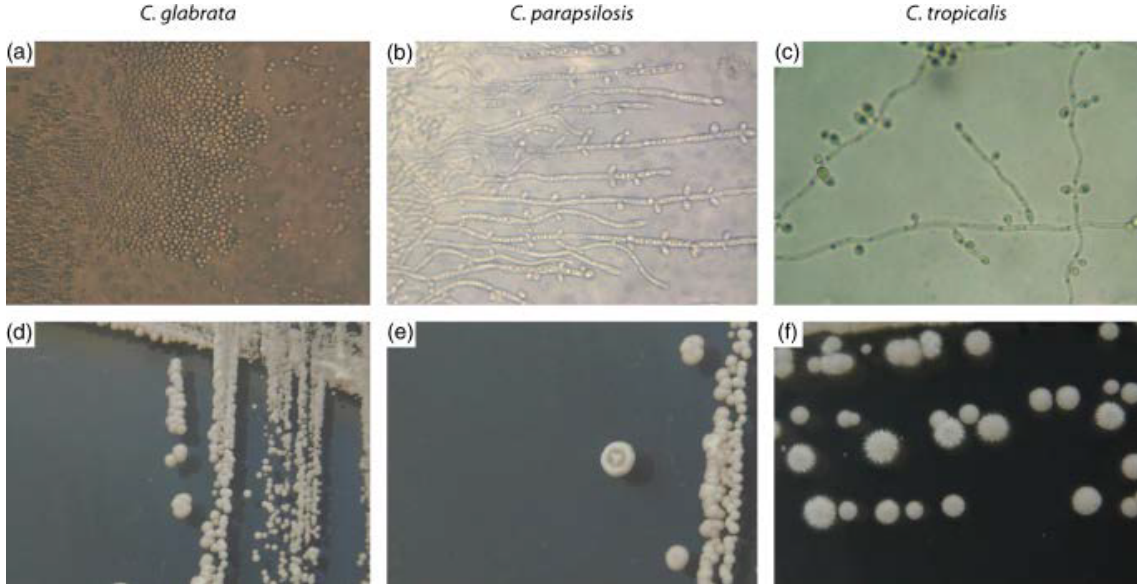
C. albicans ve *C. dubliniensis* gerçekte polimorfik yapıya sahip olup bu durum hif veya psödohif oluşturma yetenekleriyle ilişkilidir. Bu türler germ tüp pozitif özelliği göstermektedirler (61). Bunun yanı sıra *C. glabrata* polimorfik olmayıp ve sadece maya formunda üremektedir (Tablo 2.3, Şekil 2.1). Geçmişte bu tür psödohif formu olmadığından *Torulopsis* familyası içerisinde sınıflandırılmıştı. Ancak 1978'de psödohif oluşturma yeteneğinin *Candida*'lar için belirleyici bir ayırt edici faktör olmadığı anlaşıldığından, *Torulopsis glabrata*'nın insanlarda hastalık yapıcı bir etken olduğundan *Candida* familyasında yer alması önerilmiştir (62). *C. parapsilosis* ile ilgili olarak; bu türün gerçek hif oluşturmadığı ancak karakteristik geniş ve kıvrık psödohifler oluşturarak "dev hücre" formunda ürediği bilinmektedir (60,63). Buna karşılık mısır özü agarda ve 25 °C'de 72 saatte, *C. tropicalis*'in oval blastosporlar bazı kaynaklara göre psödohif ve gerçek hifler oluşturduğu bildirilmiştir (60,61,64) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Candida albicans* suşlarının çeşitli morfolojik üremelerinin epifloresan fotokompozisyonu: (A)blastokonidya; (B1)tomurcuklanmayla üreme; (B2)germ tüp formasyonu; (C1)psödohif formasyonu; (C2)maya formu; (C3)hif formasyonu.

Tablo 2.3. Çeşitli *Candida* türlerinin morfolojik özellikleri

Türler	Germ tüp	Hif/Psödohif	Mayaların büyüklüğü (µm)	CHROM-agar <i>Candida</i> besiyerindeki koloni rengi
<i>C. albicans</i>	+	+/+	4-6x 6-10	Mavi - Yeşil
<i>C. tropicalis</i>	-	±/+	4-8 x 5-11	Koyu mavi
<i>C. parapsilosis</i>	-	-/+	2.5-4 x 2.5-9	Beyaz
<i>C. glabrata</i>	-	-/-	1-4	Beyaz, pembe-mor



Şekil 2.2. *Candida* türlerinin Cornmeal Tween 80 agarda makroskopik kolonileri ve SDA'daki mikroskopik yapıları. Mikroskopik yapılar: (a)*Candida glabrata*, (b)*Candida parapsilosis*, (c)*Candida tropicalis*, makroskopik koloniler; (d)*Candida glabrata*, (e)*Candida parapsilosis*, (f)*Candida tropicalis*.

C. glabrata hücresi 1-4 μm boyutlarında olup, *C. albicans* 4-6 μm , *C. tropicalis* 4-8 μm ve *C. parapsilosis* 2.5-4 μm 'den daha küçük yapıdadır (60). SDA besiyerinde *C. glabrata* parlak, pürüzsüz ve krem rengi koloniler oluşturmaktadır (Şekil 2.2). Bu koloniler büyüklükleri dışında (diğer türlerden biraz daha küçük), çoğunlukla diğer *Candida* türlerinden ayırt edilememektedir (Şekil 2.2). Ayrıca *C. parapsilosis*, SDA besiyerinde ürediğinde, beyaz, kremi, parlak/berrak ve pürüzsüz/buruşuk koloniler yapmaktadırlar (Şekil 2.2). Aynı ortamda *C. tropicalis* kolonileri az da olsa miselyum (hif kitlesi) ile sınırlı olup, krem renğinde görünmektedirler (61) (Şekil 2.2).

Candida türlerinin biyokimyasal özellikleriyle ilişkili olarak *C. glabrata* sadece glukoz ile trehalozu fermente ederken, *C. albicans* sükröz dışında birçok şekeri fermente etmektedir (70). *C. tropicalis* ise sükröz ve maltozu fermente etmektedir (65). Geçmişte *C. parapsilosis* maltozu fermente edemediği için bir *Monilia* türü olarak sınıflandırılmaktaydı (63, 66).

Albicans dışı *Candida* türlerinin mikrobiyolojik doğrulamalarının yapılması zordur çünkü kan kültürü sonuçlarının % 50'den fazlası negatif çıkabilmektedir. (62). İdrardan veya müköz membranlardan alınan pozitif örnekler, invaziv hastalığı mutlaka ortaya koymazken, sistemik enfeksiyon esnasında teşhis edilebilmektedir (67). Ayrıca,

Candida türlerinin virulansları arasındaki farklılıklar, antifungal ilaç dirençlerine göre klinik teşhiste büyük önem taşır.

Laboratuvar tanısı *Candida*'ların izolasyonu ile identifikasyonu için yeni metodların gelişmesiyle oldukça önemli hale gelmiştir. Türe özgü FISH antikor-antijen teknikleri ve moleküler yaklaşımlar, tanı ve tiplendirmede başarıyla kullanılan bazı yöntemlerdir (69). Buna rağmen, bu tekniklerin çoğu henüz standardize edilmemiş veya onay almamış yöntemler olup klinik tanıda laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmamaktadır (68).

Birçok laboratuvar standart yaklaşımlar çerçevesinde tanıyı non-moleküler yöntemlerle yapsa da *Candida*'ların identifikasyonunda PCR bazlı yöntemlerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır.

2.10. *C. albicans*'larda Virulans Faktörler

Kandidiazis insanlarda deri, oral kavite ve özafagus, gastrointestinal sistem, vajina ve vasküler sistemin yaygın bir enfeksiyonudur. Bununla birlikte immunsupresyon ya da çeşitli nedenlerle bağışıklık sisteminin zayıflaması *Candida* enfeksiyonları için en önemli sebep olup 24 mikroorganizmaya ait çeşitli virulans faktörleri ise hastalığın oluşumu ve şiddetiyle ilişkilidir. *Candida*'larda virulans faktörler arasında konak tanıyıcı biyomoleküller (adezinler), morfogenez (tek hücreli mayalar ve filamentöz, büyüme formları arasında geri dönüşümlü değişim), gizli aspartil proteinaz ve fosfolipazlar sayılabilir.

Candida'lar insanlarda hastalık oluşturan önemli patojenler arasında yer almaktadır. Çevre koşullarına spesifik savunma yöntemleriyle, çeşitli anatomik bölgelerde kommensal olarak hayatta kalabilmeleri çok yönlü patojen olmalarıyla ilişkilidir. Bu nedenle *C. albicans* ve diğer *Candida* türlerinin oluşturduğu hastalıkların spekturumu diğer birçok kommensal mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonlardan daha fazla ve daha ciddidir. Örneğin *Escherichia coli*, normalde insanların barsaklarında kolonize olmakta ve bazen geçici bir süre oral kavitede ve nadiren vajinal mukozada da görülebilir iken, *Candida*'lar ise bahsedilen bu alanlarda kommensal olarak bulunmakta ve fırsatçı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Mukozal yüzeylerde, beslenme

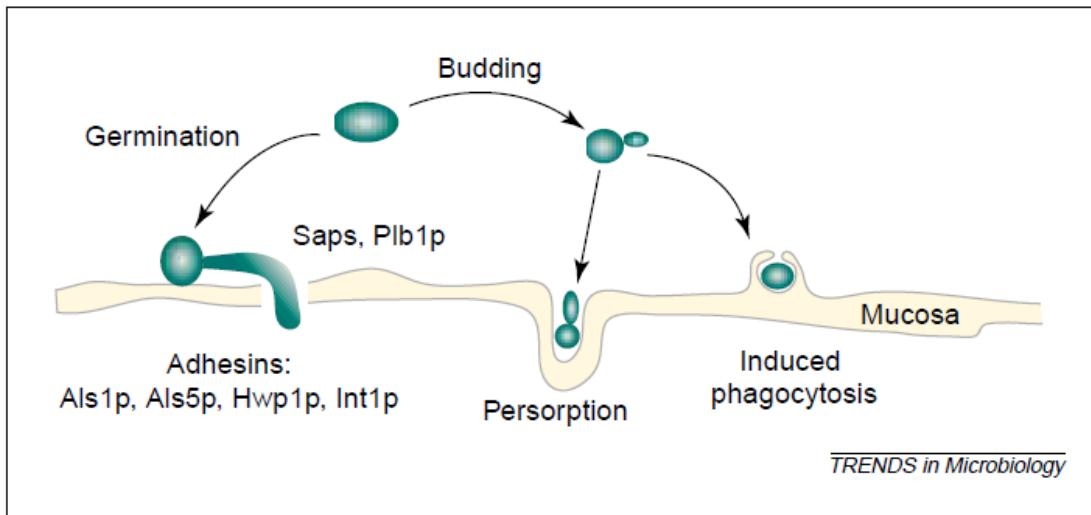
bozuklukları bakteriler ve mantarlar arasında kompetitif davranış şekli, daha güçsüz olan mikroorganizmanın selektif eliminasyonuna neden olmaktadır. Floradaki birçok bakteri beslenme bozuklukları ya da fazlalıkları sırasında, kendi katabolik ve anabolik metabolik yollarını regüle eder; insanlardaki patojen mantarların da, hayatta kalabilmek için muhtemelen aynı yolu izledikleri düşünülmektedir. Örneğin *Candida*'larda birçok spesifik genin katabolik proteinleri kodladığı ve bu genlerin bazılarının, mikroorganizmanın kommensal ve patojen olarak hayatını devam ettirmede rol oynadığı düşünülmektedir (70).

Mukozal flora üyeleri arasındaki kompetitif yarışmanın yanında konakçı dokuları spesifik yanıtlarına karşı *C. albicans* gibi etkin patojenler bir takım fizyolojik adaptasyon mekanizmalarıyla ortamın pH'sı gibi parametrelere ayak uydurmak zorunda kalmaktadır. Kan dolaşımı ya da dokulardaki nötral pH'da mikroorganizmanın hücre duvarı sentezine yardımcı olan vajinal kanalda nötral ortamda optimum adaptasyon sağlamaya yardımcı olan pH-regülatörü gen 1 (*PHR1*) rol oynamaktadır. *PHR1*'in etkisi sona erdiğinde ikinci pH-regülatörü gen (*PHR2*) devreye girmekte ve benzer etkiyi asit pH'da göstermektedir (71-73). Bu örnek, *Candida*'ların konak dokularına adaptasyonunda rol oynayan fizyolojik adaptasyon mekanizmalarından sadece biridir. Buna ek olarak, *Candida* türleri, predispoze faktörler varlığında konakçıyı istila ederek geniş ölçüde spesifik immun defektler oluşturmaktadır.

Buna rağmen *Candida* türleri fırsatçı patojendir. *Candida* türlerinin konakta belli bazı anatomik lokalizasyonları olup buralarda enfeksiyon oluşturabilmektedirler. Kandidiazis sıklığı, bu hastalığın ne derece önemli olduğunu göstermektedir (62,74,75). Bu nedenle *Candida* türleri, ABD'de ve birçok ülkede en önemli dördüncü nozokomiyal enfeksiyon sebebi olup bu hastalarda mortalite oranının % 35'lere varan kandidemiye neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca AIDS hastalarının % 70'inde orofarengeal kandidiazis geliştiği bildirilmektedir. Bunun yanında her 100 kadından yaklaşık 70'inin bir kez de olsa *Candida* türlerinden ileri gelen vajinit öyküsü olduğu ve kadınların yaklaşık 20'sinde nükslerin görüldüğü bildirilmektedir (62).

Candida enfeksiyonlarına karşı son zamanlarda bölgesel özel immun koruyuculuktan bahsedilmektedir. Örneğin hayvan modellerinde sistemik invazyona karşı koruyuculuk, vajinite karşı koruyuculuk şeklinde bahsedilmektedir (62). T-hücre immun yanıtı,

orofarengal kandidiazis, kutanöz ve vajinal enfeksiyonlara karşı önemli koruyuculuk sağlasa da, sistemik hastalığa karşı oluşan direnç, nötrofil ya da mononükleer fagositler gibi immun hücrelerce oluşturulan fonksiyonel fagositik yanıt ile daha sık ilişkilendirilmektedir. Orofarengal kandidiazisli AIDS hastalarında, CD4⁺ hücre sayısındaki azalma, hastalık seyri ve nüksü ile ilişkilendirilse de, AIDS hastalarında hastalıklarının terminal evresine kadar, kan yoluyla geçen sistemik enfeksiyonlar gelişmemektedirler. Bulgular AIDS hastalarında vajinit insidansının diğer hasta popülasyonlarına göre daha fazla olmadığını göstermektedir. Bu nedenle CD4⁺ hücreleri oral mukoza ile karşılaştırıldığında vajinal mukozadaki koruyuculukla ilişkilendirilmemektedir. *Candida* türlerine karşı oluşan antikorlar, anahtar epitoplara birleştiğinde birkaç kandidiazis hayvan modelinde koruyucu olduğu gösterilmiş ve humoral immun yanıtın kompleman sistem ve diğer kalıtsal komponentler gibi koruyucu dengenin bir parçası olabileceğini düşündürmektedir (76). Bu organizmalardaki immun mekanizmanın biraz komplike olduğu görülmektedir. Kandidiazise karşı korunmada konak savunma mekanizmalarının tümü olaya dahil olmaktadır. Bu mekanizmalardan birinde herhangi bir aksamının meydana gelmesi hastalığın oluşması veya nüksü ile sonuçlanmaktadır. *Candida*'larda fenotipik değişimin mikroorganizmanın patojenitesinde farklılıklar doğurduğu gösterilmiştir. Kandidiazis patogenezinde mukozal yüzeyde meydana gelen ilk reaksiyonlar Şekil 2.3'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.3. Bir maya hücresinin germinasyon, tomurcuklanma ve mukozadan penetrasyon aşamaları

Bir *C. albicans* maya hücresi hem tomurcuklanma aşamasında (sağda) hem germinasyon safhasında (solda) hem de mukozadan penetrasyonu görülmektedir. Ancak, maya hücresinin persorsiyonu (ortada), tomurcuklanan hücrelerin submukozaya alınması ile sonuçlanmaktadır. Şekil 2.3 'te , bir maya hücresinin mukoza hücresi tarafından fagositozu görülmektedir. Bu olaylar, adezinler [*ALS1p*, *ALS5p* (*ALAIp*), *HWPIp* ve *INT1p*] ile enzimlerin (*SAPS* ve *PLB1p*) kontrolü altında gerçekleşmektedir. Germ tüp, farklı antijenlerin maya hücresiyle karşılaştırması biçiminde şematize edilmiştir. Fenotipik dönüşümün patogeneze olan etkisi, antijenik değişimlerin yanı sıra organizmanın dokuya özel affinitesi ile ilişkilendirilebilir.

Candida'ların insanlarda hem bir patojen hem de mukozal yüzeylerde kommensal mikroorganizmalar olduğunu unutulmamalıdır. Ne yazık ki, *Candida*'ların kommensallığı ile patojenliği arasındaki farkların ne olduğu hakkında çok az şey bilinmektedir.

2.11. *Candida*'ların Virülans Faktörleri

Adezyon

Candida'ların mukozal epitelyum ve endotel hücrelerine yapışması kolonizasyonunda ilk aşamasıdır ve kandidozun ortaya çıkmasında önemli bir adımdır (30,31).

Adezyon karmaşık bir işlem olup birden fazla adezinin ve birden fazla bağlanma mekanizmasının etkisi ile gerçekleşir (30). *Candida*'ların adezinleri, integrin analogları (memelilerdeki CR-2 benzeri olan C3d reseptörü ve CR-3 benzeri olan iC3b reseptörü), fibronektin reseptörü, adeziv mannopteinler (hücre duvarının en dışında mannopteinlerden oluşan radyal uzantılı fibriller), N-Acetylglucosamine bağlayıcı protein, salgısal asit proteinaz, faktör 6, laminin reseptörü ve fibrinojen bağlayan protein olarak tanımlanmaktadır (17). *C. albicans* aderansı en fazla olan türdür (17,31). Karbon kaynağı olarak yüksek konsantrasyonda şeker, özellikle galaktoz içeren ortamlarda üreyen *C.albicans* kökenlerinin epitelyum hücrelerine daha iyi bağlandığı ve bu kökenlerin daha virulan olduğu gösterilmiştir (24).

Dimorfizm

Bazı mantarlar, dimorfizm denen, biri küf evresi diğeri ise maya evresi olmak üzere, en az iki yapı özelliği gösterirler (32). *Candida* türleri içerisinde küf üreterek çoğalabildiği bilinen tek tür *C. albicans*'tır (31). *C. albicans*, deri ve mukozalard akommensal olarak, patojen olmayan morfotipi olan maya hücreleri şeklinde bulunmaktadır. Patojen morfotipe değişimine neden olan en önemli faktörler konağa özgü bazı faktörlerdir. Bu faktörlerin başlıcaları, deri bütünlüğünün bozulması, antibiyotik ve oral kontraseptiflerin kullanımına bağlı olarak vajen florasının değişmesi ve çeşitli sebeplere bağlı olarak konağın bağışıklık sisteminin baskılanmasıdır. *C. albicans* maya formundan invaziv hif formuna geçerek hastalık oluşturmaktadır (33). Hif, mantara, dokulara penetrasyon ve fagositozdan kaçma özellikleri kazandıran bir yapıdır (31,33,34). *C. albicans*'ın hifal formu, epitel hücreleri için, maya formundan daha adezivdir (28,35). *C. albicans* hifleri, uzarken, ortamdaki topoğrafik değişikliklere bağlı olarak yön değiştirebilmektedir. Tigmotropizm adı verilen bu olay, *C. albicans*'ın yapay membranlar üzerinde üremesi sırasında in vitro koşullarda gözlenmiştir. Membranın üzerinde minör bir açılma ya da por oluşumu gerçekleştiğinde, hif, uzadığı yönü değiştirerek bu porlara doğru yönelmektedir. Tigmotropizmin, in vivo olarak hifin lokal yaralara invazyonunda rol oynayan bir faktör olabileceği düşünülmektedir (33).

Bazı araştırmacılar, enfeksiyon geliştirebilme bakımından iki şeklin farklı olduğunu gösterememişlerdir, her iki şeklin de bu mantarın patojenitesinde önemli olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca dimorfizmin biyofilm oluşumundaki önemini incelemek için yapılan bir çalışmada, her iki formun biyofilm oluşumunda ortaklaşa rol aldığı, maya formunun (iç tabaka) yüzeye yapışmada önemli olduğu, hifal formun (dış tabaka) da kalınlık sağladığı gözlenmiştir (31).

Fenotipik değişim

Fenotipik değişim, geri dönüşümlü olan, *C. albicans* suşlarında spontan olarak sıklıkla gözlenen bir olaydır. İki şekilde oluşabilir:

a) Tipik olarak *C. albicans* WO-1suşunda gözlenen, yuvarlak tomurcuklanan hücrelerden oluşan beyaz kubbeli koloniden, büyük, uzun, asimetric tomurcuklanan

hücrelerden oluşan gri düz koloniye dönüşüm, beyaz-opak (w-o) dönüşümü olarak adlandırılır ve 10^{-4} sıklıkta oluşur.

b) Koloni morfolojisinde 10^{-2} - 10^{-4} sıklıkta oluşan değişim sonucu, düzgün (S), tüylü, düzensiz (R), yıldız, halka, noktalı ve şapka koloni morfolojileri ortaya çıkabilir. Fenotipik değişimle ilgili klinik açıdan önem taşıyan en önemli özellikler, bu değişimin antifungal ilaçlara duyarlılığı, konak hücreye adezyonu, antijenisiteyi, aspartil proteinaz aktivitesinin düzeyini, nötrofil ve oksidantlara duyarlılığı etkiliyor olmasıdır (16,31,33).

Slime faktör ve biyofilm oluşturma

Slime faktörü ilk kez 1982'de Christensen tarafından *Staphylococcus epidermidis* için tanımlanmıştır (36). Slime, visköz, ekstrasellüler bir madde olup, mikroorganizmanın plastik yüzeylere yapışmasında ve prostetik materyallerde kolonizasyon oluşturmada görev alır ve *Candida*'lar tarafından da oluşturulduğu gösterilmiştir (30). Tıbbi gereçlerin implantasyonundan sonra ilk olay, tükrük, mukus, serum ya da kan gibi gereci çevreleyen farklı vücut sıvılarındaki çeşitli makromoleküllerin (fibrinojen, fibronektin, kollajen ve laminin vb.) yüzeyüzerinde birikerek "conditioning film-hazırlayıcı film" oluşturmalarıdır. Mikroorganizmalar genellikle çıplak gerecin yüzeyine değil, bu film tabakasına tutunmaktadırlar. İlk adezyon geri dönüşümlü gevşek bir tutunma tarzındadır. Bu, ekzopolimer üretimiyle sıkı bir tutunmaya dönüşür. Ekzopolimerler, makromoleküllerin oluşturduğu film tabakasını saran slime (glikokaliks) tabakasını oluşturmaktadır. Mikroorganizmalar, bu slime tabakası içinde çoğalarak ve ekstrasellüler matriks salgılamaya devam ederek kalın bir film tabakasına yol açarlar, buna biyofilm denir (37).

Olgun biyofilmin yaklaşık % 15'i hücrelerden, % 85'i ise matriks materyalinden oluşmaktadır (38). Biyofilm matriksinin yapısında, oranları *Candida* türüne göre farklılık göstermekle birlikte, karbonhidrat, protein, heksozamin, fosfor ve uronik asit bulunmaktadır (39).

Nozokomiyal enfeksiyonların en az yarısı medikal gereçlerle ilişkilidir (40). *Candida* türlerinin nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan ana etkenler arasında sıklığı artmaktadır ve enfeksiyonlarından çoğunlukla implante gereçler sorumludur ve gerecin yüzeyinde

biyofilm saptanabilmektedir (37). *Candida* enfeksiyonlarıyla kuvvetle ilişkili bulunan tıbbi gereçler, santral venöz kateterler (SVK), üriner kateterler, endo trakeal tüpler, periton diyaliz kateterleri, yapay kalp kapakçıkları, pacemaker, eklem protezleri, ventrikülo-peritoneal şantlar, vasküler bypass greftleri, oküler lensler, kırık fiksasyon aletleri olarak sayılabilir (37,41).

Farklı *Candida* türlerinin, hatta farklı *C. albicans* suşlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri farklıdır. Bununla beraber, biyofilm oluşumu ile en çok ilişkilendirilen tür *C. albicans*'tır (77). Ortamdaki artmış glukoz miktarının biyofilm oluşumunu hızlandırdığı gözlemlenmiştir. Özellikle intravenöz hiperalbuminasyon uygulanan hastalarda *C. parapsilosis*'in SVK'e kolonize olma kapasitesinin artmasıyla, kateter enfeksiyonlarına yol açması buna örnektir (78). Hafif akımın olduğu ortamlarda (dolaşım ve üriner sistem gibi) statik ortamlara kıyasla biyofilm oluşumu daha fazla olmaktadır. Ayrıca, yüzeyin kimyasal yapısı biyofilm oluşum hızını etkilemektedir. PVC'ye kıyasla lateks yüzeylerde daha fazla, poliüretan ve % 100 silikonda ise azalmış olarak saptanmıştır (37). Biyofilm, mikroorganizmanın implante gereçlere yapışıp çoğalarak, sürekli bir enfeksiyon kaynağı olmasını sağlar. Ayrıca, mikroorganizmayı vücudun savunma mekanizmaları olan opsonizasyon, fagositoz ve kemotaksise karşı koruduğu bildirilmiştir (2). En önemli özelliklerinden biri de antifungal ajanlara direnç gelişimidir (37). Birçok çalışma kandida biyofilmlerinin klinik olarak önemli antifungaller olan amfoterisin B, flukonazol, flusitozin, itrakonazol, ketokonazol, nistatin, terbinafin veya azollere (vorikonazol ve ravikonazol) dirençli olduğunu göstermektedir (79-81). Bununla beraber amfoterisin B (AMB)'nin lipid formülasyonları (lipozomal AMB ve AMB lipid kompleks) ve ekinokandinler (kaspofungin ve mikafungin) biyofilme karşı etkili bulunmuştur (37,81).

Salgısal aspartik proteinaz (Sap)

C. albicans'ın hücre dışı proteinaz enzimi ilk kez 1965 yılında Staib tarafından bulunmuştur (81). Kimyasal özelliklerinden dolayı salgısal asit proteinaz, karboksil proteinaz isimleri de kullanılmaktadır (16). *Candida* asit proteinazı düşük pH'ye ihtiyaç duyar, fizyolojik pH, *Candida* proteinazının aktivitesine engel olmaktadır (81,82). *Candida*'nın asitproteinaz sekresyonu uygun glukoz konsantrasyonuna bağlıdır. Glukozun, proteinazı indükleyen kritik konsantrasyonu türler arasında değişir.

Diabetiklerin kandidoza tipik yatkınlığında, yüksek glukoz varlığında fungal proteinazın indüklenmesinin rolü olduğu düşünülmektedir (81).

Enzim, *C. albicans* kökenlerinin çoğu tarafından ve daha az oranda *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* kökenlerince üretilmektedir. *C. kefir*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. Guilliermondii* ise nadiren salgılamaktadır (16,54,84). Proteinaz; serum albumini, hemoglobin, keratin, kollajen, laminin, kazein, fibronektin, IgA, IgG'nin Fc kısmı ve komplemanın C3 komponenti gibi birçok proteini parçalayabilme özelliğine sahiptir (16,55-57,83). *Candida* asit proteinazının IgA'yı sindirme yeteneğinden dolayı gastrointestinal sistem ve mukozal yüzeylerde kolonizasyonu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (56,58,83).

Asit proteenazların, *Candida*'ların mukozalara kolonizasyonunun erken dönemlerinde rol aldığı gösterilmiştir (31,83). Asit proteinazın mayayı konağın savunma sistemine karşı koruduğuna dair bulgular vardır. Proteinaz salgılayan suşların, fagositoza ve hücreiçi öldürmeye karşı daha dirençli oldukları gösterilmiştir (56,58,83).

Salgısal asit proteinaz enzim ailesi, 10 farklı gen tarafından kodlanmaktadır (SAP1-10) (54,59). SAP gen ekspresyonunun mantarın mayadan hife geçişi (dimorfizmi) ve fenotip değişimi ile ilişkisi olduğu bulunmuştur. SAP1, SAP2 ve SAP3 genlerinin yalnızca maya hücrelerinde, SAP4, SAP5 ve SAP6'nın ise hif hücrelerinde eksprese olduğu; SAP1'in *C. albicans*'ın opak fenotipinde, SAP2 ve SAP3'ün ise hem opak hemde beyaz fenotipte eksprese olduğu belirtilmiştir (31).

Fosfolipaz

Fosfolipaz (PL) terimi, gliserofosfolipidlerdeki bir ya da daha fazla ester bağımlı hidrolize etme yeteneği olan bir grup enzim için kullanılmaktadır. Tüm fosfolipazlar substrat olarak fosfolipidleri kullanmakla birlikte, her enzim spesifik bir ester bağına etki etmektedir (60). Nitekim fosfolipazlar, fosfolipid molekülündeki hedefleri olan spesifik ester bağlarına göre A, B, C ve D şeklinde sınıflandırılırlar (34,60).

İlk kez 1960'larda Costa tarafından raporlanmıştır. Werner, yumurta sarısı ve lesitin içeren katı besiyerinde mayaları üreterek lipid yıkım ürünlerini analiz etmiştir (60,61).

C. albicans tarafından salgılanan fosfolipazlar, epitelyal hücre membranını parçalayarak ve hifal yapının sitoplazmaya girmesini sağlayarak, kandidozdaki konak doku invazyonunda önemli bir rol üstlenmektedir (62,64). İlk zamanlarda farklı *Candida* türlerinin fosfolipaz üretme yeteneğini değerlendirmek için yapılan yumurta sarısı bazlı testler yalnızca *C. albicans*'in ekstraselüler fosfolipaz ürettiğini, albicans dışı türlerin üretmediğini göstermiştir. Ancak bunun aksine, son zamanlarda albicans dışı *Candida* türlerinin de fosfolipaz üretimini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bununla birlikte, *C. albicans*'a kıyasla, albicans dışı türlerin salgıladığı fosfolipaz miktarı belirgin derecede düşüktür. Örneğin, *C. krusei*'nin fosfolipaz aktivitesi, *C. albicans*'inkinin yaklaşık 1/10'i kadardır (60). Fosfolipaz aktivitesinin mantar hücrelerinin maya formlarında miçel formlarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (62,64).

Esteraz

Patojenik *Candida* türlerinin çoğu esteraz ve fosfolipaz gibi lipolitik enzimler salgılamaktadır. Bu türlerin esteraz aktivitesi farklı oranlarda tween içeren, tween opasite testi besiyeri kullanılarak gösterilmiştir (65). Mayaların lipolitik aktivite gösteren esteraz enzimini salgıladığı ilk kez 1978 yılında Rudek tarafından Tween 80 opasite testi ile gösterilmiştir (66). Esteraz aktivitesi, patojen *Candida* türlerinin biyotiplendirilmesi sırasında bulunmuştur. Enzimin aktivitesi, yalnızca tek karbon kaynağı olarak Tween 80 ve diğer tweenleri içeren besiyerinde gözlenmektedir. Tween, polioksietilen sorbitan bileşiklerinin bir karışımıdır (67). Tween opasite testinde besiyerinde opasite gözlenmesi hidrolizin göstergesidir ve kandida türlerinin lipolitik enzim üretimi ile ilişkilidir. Serbest kalan yağ asitleri besiyeri içerisinde bulunan kalsiyuma bağlanırlar ve oluşan bu kompleks inokülasyon bölgesinin etrafında çözünmeyen kristaller olarak görülmektedirler (65).

Tween 80 opasite testi, standart morfolojik ve fizyolojik testlerin tamamlayıcısı olarak değişik *Candida* türlerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Özellikle *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in ayırt edilmesinde kullanışlı olduğu bildirilmektedir.

Besiyerinin hazırlanması basit ve ekonomik olup, yorumlanması da kolaydır (65). *Candida*'ların esteraz aktiviteleri ile ilgili veriler oldukça sınırlıdır. Ancak şu ana kadar yapılan çalışmalarda, esteraz aktivitesinin virülansta etkili olduğunu gösteren bulgular

mevcut değildir (30).

Tablo 2.4. *Candida albicans* ile ilişkilendirilen virulans faktörleri

Virulans Faktörler	Etkisi
Tutunma	Ağızda tutunmaya neden olur
Nispi hücre yüzeyi hidrofobisitesi	Nonspesifik tutunma sürecini başlatır
Hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin sentezi	Spesifik tutunma mekanizmalarını aktive eder
Konak savunmasını aşma	Ağızda tutunmaya neden olur
Yüksek düzeyde fenotipik dönüşüm	Sık sık hücre yüzey değişikliğiyle antijenik modifikasyon
Hif oluşumu	Olası fagositozu engeller; fagosite edilmiş olan mayaların kurtulmasına olanak sağlar
Salgısal aspartil proteinaz üretimi	Salgısal IgA yıkımı
Komplement moleküllerine bağlanma	Antijenik maske
Konak dokulara invazyon ve doku yıkımlanması	Patojeniteyi arttırır
Hif oluşumu	Oral epitelyuma invazyonu sağlar
Salgısal aspartil proteinaz üretimi	Konak hücre ve ekstraselüler matriks yıkımı
Fosfolipaz üretimi	Konak hücre yıkımı

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 16.02.2015 tarihinde 396 kararı uyarınca onayı alınmıştır.

Çalışmamıza Mayıs-Aralık 2014 tarihinde, Gaziantep Üniversitesi dahiliye YBÜ'sinde yatmakta olan hastaların mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültürü örneklerinden, *Candida* olarak izole edilen suşlar dahil edildi. Çalışmada değişken sayısını azaltabilmek için kan kültürü örnekleri Bactec 9240 (BD, USA) sisteminde değerlendirildi. Üreme olan kan kültürü şişelerinden önerilen prosedüre uygun olarak subkültürler yapıldı. Tanımlama, konvansiyonel yöntemler ve Phoenix (BD, USA) kullanılarak yapıldı. *Candida* olarak saptanan mikroorganizmaların Diversilab (Biomérieux, Fransa) cihazı ile rep-PCR yöntemi ile DNA parmak izi analizi yapıldı. Sadece dahiliye YBÜ' sinden örnek alındı. Böylece mikroorganizma, örnek türü, örneğin alındığı servisin aynı olması sağlandı.

3.1. Örneklerin Toplanması

Laboratuvarımıza YBÜ'den gelen kan kültürü örneklerden izole edilen *Candida* suşları çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan suşlar, kan kültürü örneklerinden izole edildi. Kültürler aerob kan kültürü şişesine ilgili birimde konan endikasyonla alındı. Laboratuvara ulaşan kan kültürü şişeleri en kısa sürede cihaza konarak inkübasyonu başlatıldı. *Candida* olarak tanımlaması yapılan izolatlar çalışma yapılana dek -20 °C'de skim milk besiyeri içerisinde bekletildi. İzolat toplanması tamamlandıktan sonra tüm izolatların taze kültürü yapılarak diğer testler yapıldı.

3.2. Kan Kültür Sistemi

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültür şişeleri BD Bactec 9240 (Becton Dickinson, USA) cihazına kayıtları yapılarak yerleştirildi. Cihazın inkübasyon dönemi yedi gün olarak belirlendi. İnkübasyon dönemi boyunca kan kültürü şişeleri takip edildi.

3.2.1 Bactec 9240

Bactec kültür sistemi florometrik ölçüm yapan tam otomatize bir hemokültür sistemidir. Kültür şişelerinde bakteri üremesi ve buna bağlı CO₂'in artması durumunda CO₂ artışına duyarlı floresan maddelerde oluşan ışımanın ölçülmesi esasına dayanır. Şişede sensörün floresansındaki, yüksek CO₂ miktarından kaynaklanan artışlar Bactec floresan serisi cihazı ile izlenir. CO₂ artış hızı ve miktarının analiz edilmesiyle BACTEC floresan serisi cihazı, kültür şişesinin pozitif olup olmadığını, yani test örneğinin canlı organizma içerip içermediğini belirler. Bactec model 9240 cihazı 240 şişe kapasitelidir.

3.2.2. Aerop kan kültürü şişesinin içeriği

Bileşenlerin Listesi

▪ İşlenmiş Su	30 mL
▪ Soya-Kazein Dijeste Broth	% 3
▪ Maya Ekstraktı	% 0.25
▪ Amino Asitler	% 0.05
▪ Sodyum Polianetolesülfonat (SPS)	% 0.05
▪ Vitaminler	% 0.025
▪ Antioksidanlar/ Redükthanlar	% 0.005
▪ İyonik Olmayan Tutucu Resin	% 16

Bactec cihazında “pozitif” sinyalinin verilmesi ile, kan örnekleri prosedürüne uygun olarak katı besiyerlerine (koyun kanlı besiyeri, çikolata agar ve eosin-metilen-blue besiyeri) ekildi.

3.2.3. Besiyerileri

Koyun Kanlı agar (BD/Germany)

1 L saf su içinde hazırlanan besiyerinde;

• Kazeinin Pankreatik Dijesti	12 gr
• Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	5 gr
• Maya Ekstraktı	3 gr
• Sığır Eti Ekstraktı	3 gr
• Mısır Nişastası	1 gr
• Sodyum Klorür	5 gr

- Agar 13.5 gr

Defibrinleştirilmiş koyun kanı % 5 içermekte olup, pH aralığı 7.3 ± 0.2 'dir.

Çikolata agar (BD/Germany);

1 L saf su içinde hazırlanan besiyerinde;

- Kazeinin Pankreatik Dijesti 7.5 gr
- Seçilen Et Peptonu 7.5 gr
- Mısır Nişastası 1 gr
- Dipotasyum Fosfat 4 gr
- Monopotasyum Fosfat 1 gr
- Sodyum Klorür 5 gr
- Agar 12 gr
- Hemogloblin 10 gr
- IsoVitaleX Enrichment 12 mL
- Piridoksal 0.01 gr
- Gelişim Faktörleri 0.5 ve pH aralığı 7.2 ± 0.2 'dir.

Eosin metilen blue agar (EMB) (BD/Germany);

1 L saf su içinde hazırlanan besiyerinde;

- Jelatinin Pankreatik Dijesti 10 gr
- Laktoz 5 gr
- Sükroz 5 gr
- Dipotasyum Fosfat 2 gr
- Agar 13.5 gr
- Eosin Y 0.4 gr
- Metilen Mavisi 0.065 ve pH aralığı 7.2 ± 0.2 'dir.

Ekim yapılan kanlı agar ve EMB agar plakları normal atmosferik koşullarda, çikolata agar ise gaz pack ilave edilmiş jar içerisinde, 24-48 saat 36 ± 2 °C'de inkübe edildi.

3.3. Mayaların Tanımlanması

Üreyen mayaların tanımlanması için konvansiyonel yöntemler ve Phoenix (Becton Dickinson, Almanya) otomatize maya tanımlama sistemi kullanıldı.

3.3.1. Konvansiyonel Testler

a. Gram Boyama; temiz bir lama bir damla serum fizyolojik damlatılarak üreyen besiyerinden *Candida* alınarak süspansiyon yapıldı, havada kurutulup alevde tespit edildi ve aşağıdaki boyama prosedürü uygulandı;

- Kristal viyoleto damlatılarak, 1-2 dakika beklendi ve preparat su ile yıkandı,
- Lugol damlatılarak, 1-2 dakika beklendi ve su ile yıkandı,
- Alkol ile renksiz sıvı akana kadar renk giderildi ve su ile yıkandı,
- Sulu füksin damlatılarak, 30 saniye beklendi ve su ile yıkandı.

Kurutma kağıdı arasında hafifçe bastırılarak kurutulup x100 büyütme objektif ile immersiyon yağı damlatılarak incelendi.

b. Germ Tüp (çimlenme borusu) Testi; Saf olduğu anlaşılan kültürle germ tüp testi yapıldı. Aşağıdaki germ tüp test prosedürü uygulandı;

- Test edilecek olan maya kolonisinden öze ile bir miktar alınarak 0.5 mL insan serumu içerisinde süspansiyon yapıldı.
- 37 °C'de maksimum 3 saat inkübe edildikten sonra süspansiyonundan bir damla alınarak lam-lamel arasında ışık mikroskopunda x400 büyütme ile incelendi.
- Maya hücresinden çıkan, maya hücresinin yarısı kadar genişlikte, 3-4 katı uzunlukta olan, başlangıç noktasında boğumlanma olmayan ve uzunluğu boyunca belirgin kabarıklık göstermeyen filament şeklindeki uzantılar germ tüp olarak değerlendirildi.

Germ tüp oluşturan maya suşları *C. albicans* olarak tanımlandı.

3.3.2. Phoenix Mikroorganizma Tanımlama Sistemi

Phoenix, bakteri ve mayaların tür düzeyinde tanımlamasını ve antibiyogram yapılmasını sağlayan, geniş bir veri tabanına sahip, tam otomatize bir sistemdir.

Mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan panellerde, organizmanın kimliğini belirlemek için bir dizi geleneksel, kromojenik ve florojenik biyokimyasal test kullanır. Tanımlama (ID) ve antibiyogramın (AST) aynı anda yapılabildiği paneller, 136 mikro kuyucukta kurutulmuş reaktifler içeren polistiren yapıdadır. Phoenix Paneli, 51 kuyucuklu ID tarafından ve 85 kuyucuklu AST tarafından oluşur. ID tarafı, kurutulmuş biyokimyasal sübstratlar ve 2 floresan kontrol kuyucuğu bulunur. AST tarafı, liyofilize antimikrobiyal madde içeren 84 kuyucuk ve 1 büyüme kontrol kuyucuğu içerir. Cihazda inkübasyon 35 °C’de yapılmaktadır. İnkübasyon süresince cihaz, panelleri periyodik olarak test eder. Kuyucuklarda meydana gelmiş olan biyokimyasal reaksiyonlar veya bulanıklık otomatik olarak her 20 dakikada bir test ederek o etken için veriler sistemin işlemcisinde toplanır. Reaksiyonların tamamlanmasının ardından veri tabanındaki bilgilerle kıyaslayarak bakteri ve mayalar cins ve tür düzeyinde tanımlanmış olur.

Maya panellerinde bulunan tanımlamada kullanılan kimyasallar Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Mayaların tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal reaktifler

1	A_Aspargine-7-Amido-4-Methylcoumain	22	C-Fruktoz
2	A_Benyl-l_Cysteine7-A-4-M	23	C-Sükroz
3	A_Glycine-Arginine-7-A-4-M	24	D-Fruktoz
4	A_Glycine-Proli-7-A-4-M	25	D-Galaktoz
5	A_Glycine-7-Amido-4-Methylcoumain	26	D-Dextroz
6	A_H-B-Alanine-7-Amido-4-Methylcoumain	27	S-Ürea
7	A_l-Alanine-7-Amido-4-Methylcoumain	28	T-Esculin
8	A_l-Arginine-7-Amido-4-Methylcoumain	29	l-Alanine-Trifluoromrthylcoumann
9	A_l-Sitruiline-7-Amido-4-Methylcoumain	30	Flurescent Interference Control Well
10	A_l-Glutamine-7-Amido-4-Methylcoumain	31	S-Glicine-Thiamine-Nsa
11	A_l-Histidine	32	N-l-Gamma-Gutamyl-P-Nh
12	A_l-Proline-7-Amido-4-Methylcoumain	33	N-l-Proline-P-Nitroanilide-Nh
13	A_l-Tryptophane-7-A-4-M	34	P-P-Nitrophenyl-B-A-D-Glucosine
14	A_l-H-7-Amido-4-Methylcoumain	35	P-P-Nitrophenyl-B-D-Glucosine
15	A_l-Valine-7-Amido-4-Methylcoumain	36	O-Nitrophenyl-B-D-Glucosine
16	A_l-Lysine-Alanin-7-A-4-M	37	Maltotrioz
17	A_l-Lysine-Proline-7-A-4-M	38	D-Trehaloz
18	A_Ornithine-7-Amido-4-Methylcoumain	39	D-Tagatoz
19	A_Threonine-7-Amido-4-Methylcoumain	40	C-Mannitol
20	C- Dekstroz	41	Polimiksin
21	D-Glukonik Asit	42	3-Metil Glutarik Asit

Mayaların identifikasyonunda hazırlanan koloni süspansiyonu 2 McFarland bulanıklığına uygun şekilde hazırlandı. Daha sonra Phoenix yeast panel ID kısmına dökülüp, belirtilen şekilde yerleştirilerek inkübasyona bırakıldı. Sistemde *Candida* spp. olarak tanımlanan suşlara moleküler yöntem ile genotiplenme yapıldı.

3.4. Kökenlerin Genotiplenmesi İçin Moleküler Yöntem

Candida suşlarının genotipik analizi otomatize bir sistem olan Diversilab (bioMerieux, Fransa) cihazında çalışıldı. Diversilab, rep-PCR teknolojisi kullanılarak standardize ve tekrarlanabilir DNA parmak izi profilleri ile kısa bir sürede suşların genotiplendirmesini yapan, otomatik bir PCR cihazıdır. Cihaz ve adapte edildiği kit, ticari bir kit olduğundan (patentli ürün) ilgili firma ve kit kullanım kılavuzundan *Candida* genomik analizi için araştırılan gen bölgesine ulaşılammıştır.

Bu çalışma 4 aşamada yapıldı.

1. *Candida* saf kültüründen manuel DNA ekstraksiyonu yapıldı.
 2. Thermalcycler’da DiversiLab parmak izi kitleri kullanılarak rep-PCR yapıldı.
 3. Biyoanalizör kullanılarak otomatik microfluidic elektroforez yapıldı.
 4. İnternet tabanlı yorumlama yazılım programı ile kolay ve hızlı değerlendirme yapıldı.
- DNA ekstraksiyonu yapmak için -20 °C’de stokladığımız suşlar bir gece etüvde bekletildikten sonra koyun kanlı agara ekilerek canlandırıldı.

3.4.1. DNA Ekstraksiyonu İçin Yapılan Aşamalar

Ekstraksiyon kitinin içeriği

- Kumlu tüp
- 2 ml’lik ependorf tüp
- Kolonlu tüp
- MD1, MD2, MD3, MD4, MD5 Solusyonu

1. 300 µl MicroBead çözeltisi, her biri içerisinde kum tanesi bulunan MicroBead tüpüne dağıtıldı.
2. Besiyerinden numune alındı (2 defa 1µl öze).
3. MicroBead tüpündeki sıvı içerisinde, alınan *candida* kolonileri öze ile iyice karıştırıldı.
4. 50 µL MD1 çözeltisi eklendi.
5. 10 dakika boyunca 2400 rpm'de vortekslendi.
6. 30 saniye 10.000×g'de çevrildi.
7. 100 µL MD2 çözeltisi temiz ependorf tüplere boşaltıldı.
8. Tüm süpernatantı (6. adımdan) 100 µL MD2 çözeltisine (içerisinde kum tanesi olmamasına dikkat edilerek) aktarıldı.
9. Kısa bir süre vortekslendi.
10. 15 dakika +4 °C'de soğutuldu.
11. 1 dakika 10.000×g de çevrildi.
12. 450 µL MD3 çözeltisi temiz ependorf tüplere boşaltıldı.
13. 200 µL süpernatant (11. adımdan) 450 µL MD3 çözeltisine aktarıldı.
14. Kısa bir süre vortekslendi (40-50 saniye).
15. Kısa bir süre santrifüj edildi (1 dakika kadar).
16. Süpernatant (15. adımdan, 65 0µL) temiz bir spin filtreye transfer edildi.
17. 30 saniye 10.000×g'de çevrildi ve aşağı akan sıvı atıldı.
18. 300 µL MD4 çözeltisi spin filtreye boşaltıldı.(17. adımdan)
19. 30 saniye 10.000×g de çevrildi ve aşağı akan sıvı atıldı.
20. 1 dakika 10.000×g kuru olarak çevrildi.
21. Spin filtre yeni temiz bir tüpe yerleştirildi.
22. 35 µL MD5 çözeltisi spin filtrenin tam ortasına ve filtreye dokunmadan boşaltıldı.
23. 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
24. Filtre çıkarılıp atıldı.
25. DNA toplama tüpünde tutuldu ve DNA ekstraksiyon işlemi tamamlandı.

3.4.2. Thermalcycler'da DiversiLab Parmak-izi Kiti Kullanılarak rep-PCR Yapılması Aşaması

rep-PCR ve uygun DiversiLab DNA parmak-izi kiti kullanılarak örnekler amplifiye edildi

PCR Kitinin İçeriği

- Master Mix
- PCR Buffer
- Primer Mix
- Taq Polimeraz

Testin Uygulanması

1. Amplifikasyon aşaması izolasyon odasından farklı bir odada yapıldı. Amplifikasyon için kullanılacak buffer, master mix, primer mix, taq DNA Polimeraz -20 °C'lik derin dondurucudan çıkarıldı. Taq DNA Polimeraz çalışma anına kadar buz kalıbı üzerinde bekletildi.
2. Örnek sayısı kadar PCR amplifikasyon karışımı ependorf tüpüne hazırlandı ve 1ml'lik ependorf tüplerine 23 µL dağıtıldı.
3. Hasta örneklerinden elde edilmiş DNA ekstraktlarından 2'şer µL ependorf tüplerine dağıtıldı ve kapakları kapatıldı.
4. Örneklerdeki nükleik asit 'thermal cycler' cihazında aşağıdaki sikluslar uygulanarak çoğaltıldı (35 döngü, Tablo 3.2).
5. Çalışma tamamlanınca PCR ürünleri cihazdan alındı.
6. DNA LabChip on Agilent Bioanalyzer cihazına yerleştirildi.

Tablo 3.2. Thermal Cycler Cihazı Uygulama Verileri

Step	Temp (°C)	Time (seconds)
Initial Denaturation	94	120
Denaturation	94	30
Annealing	45	30
Extension	70	90
Final Extension	70	90
Hold	4	–

3.4.3. Biyoanalizör Kullanılarak Otomatik Mikrofluidic Elektroforez Yapımı

Kitin içeriği

- Chip reaktifleri
- Marker
- Jel Boyası
- Jel matriksi

Testin uygulanması

1. Jel-boya içeriğinin oda ısısına getirilmesi beklendi.
2. Jel ve boya vortekslendi ve kısaca spin yapıldı.
3. 1.5 mL'lik bir tüpe 200 µL jel ve 10 µL boya konuldu.
4. Homojen olana kadar vortekslendi.
5. Kit içindeki spin filtreye (kolonlu tüp) transfer edildi.
6. 1500×g'de 10 dakika oda ısısında santrifüj edildi.

Chip'e yükleme aşaması

1. Marker ve ladder kısaca vortekslendi.
2. Bu aşamada jel-boya karışımının vortekslenmesi önerilmemektedir.
3. 9 µL jel-boya karışımı çip üzerinde işaretli olan 'G' kuyucuğuna pipetlendi.
4. Çip yükleme istasyonunda şırınga 1 mL'de iken 30 saniye çipe basınç uygulandı. İstasyon kapağı açılarak piston dengeye gelene kadar beklendi.
5. Kalan G kuyularına 9 µL jel-boya karışımı pipetlendi.
6. Her bir numune kuyusuna 5 µL marker sonuna kadar pipetlendi.
7. Marker konulan kuyulara 1 µL'de maya DNA'sı konup pipetlendi.
8. Çip 1 dakika vortekslendi ve cihaza yüklendi (Resim 4).

3.4.4. rep-PCR DNA Fingerprinting

Rep- PCR fingerprinting teknolojisi kullanılarak internet tabanlı yorumlama ve yazılım programı ile değerlendirme yapıldı.

Tüm *Candida* izolatlarının rep-PCR tabanlı parmak izi kalıpları DiversiLab sistemi ve *Candida* DNA parmak izi kiti kullanılarak elde edilmiştir. Değerlendirme için benzerlik hesaplarının yapılmasında DiversiLab yazılımı Pearson Korelasyon katsayısı ve UPGMA (Unweighted Pairwise grouping mathematical averaging); matematiksel

ortalamayla ağırlıksız çiftlerin gruplandırılması yöntemi rep-PCR profillerini otomatik olarak karşılaştırmak amacıyla kullanıldı. DiversiLab yazılımı içerisinde rep-PCR DNA parmak-izi veritabanı mevcuttur. Analiz sonucunda DiversiLab'ın 2.1.66 versiyonlu yazılımları kullanıldı.

Ek olarak sonuçları içeren, bilgisayar tarafından oluşturulmuş, DNA parmak izinin otomatik okunmasını gösteren dendogram, benzer DNA dizilerinin renklerle ayrılarak gösterilen benzerlik matrisi ve suşların benzerliklerine göre grafik üzerinde noktalama yapan noktalama grafiği bilgilerin yorumlanmasında kullanıldı.

Benzerlik matrisindeki renklerden kırmızı % 100-95 oranında, turuncu % 95-90 oranında, mavi % 90-80 oranında, pembe % 80-70 oranında, gri % 70-0 oranında benzerlik olduğunu göstermektedir. Aynı suş olarak kırmızı renkte görünen yani % 100-95 oranında, benzerlik gösteren suşlar kabul edildi.

4. BULGULAR

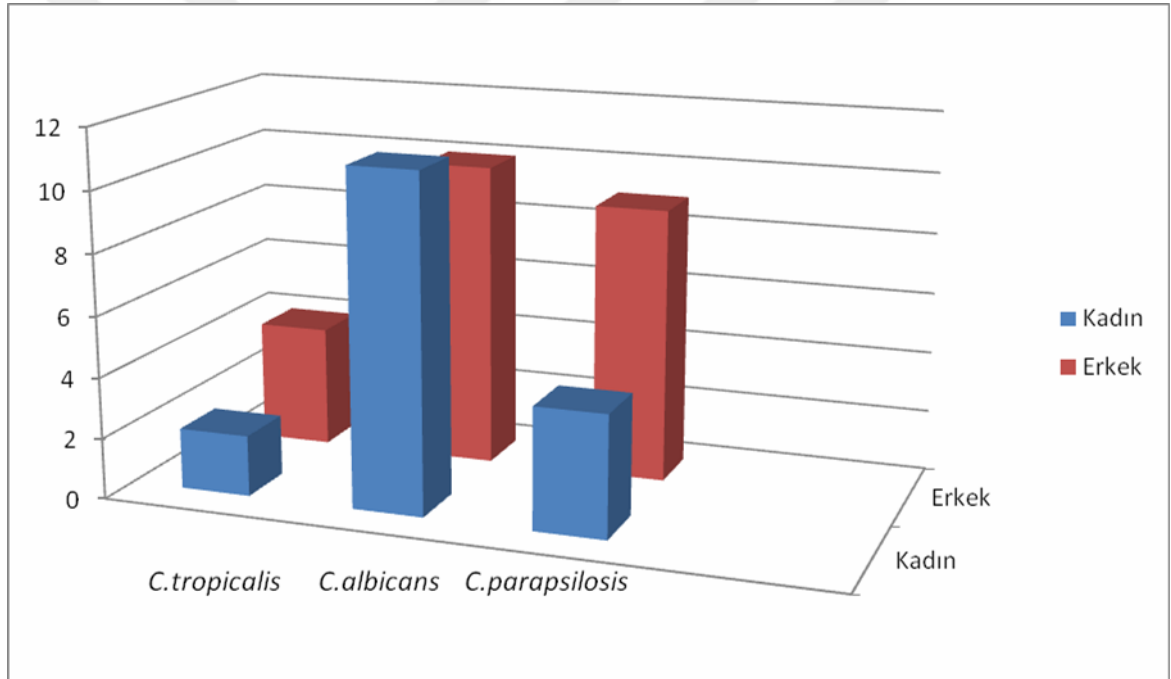
Çalışmaya dahiliye YBÜ'sinden gelen kan kültürü örneklerinde tanımlanan 40 *Candida* izolatu dahil edildi. Hastaların 24'ü erkek (% 60) ve 16'sı kadın (% 40) olup, 18-87 yaş aralığında idi.

Çalışmada 44 suş toplanmasına rağmen 40 izolatta moleküler fenotipleme yapılabildi, 4 örnekle çalışma için gerekli kalitede DNA elde edilemedi. Proje kapsamında, bütçe kadar test alındığından bu hastalar tekrar çalışılmadı. İzolatların 21'i (% 52.5) *C. albicans*, 12'si (% 30) *C. parapsilosis*, 7'si (% 17.5) *C. tropicalis*, olarak tanımlandı (Tablo 4.1, Grafik 4.1)

Tablo 4.1. Hastaların cinsiyetleri, yaşları ve tanımlanan türler

Hasta numuneleri	Cinsiyetleri	Yaşları	Tanımlanan türler
1	Erkek	43	<i>C. parapsilosis</i>
2	Kadın	87	<i>C. albicans</i>
3	Erkek	74	<i>C. albicans</i>
4	Kadın	58	<i>C. albicans</i>
5	Erkek	74	<i>C. albicans</i>
6	Erkek	23	<i>C. parapsilosis</i>
7	Erkek	18	<i>C. albicans</i>
8	Kadın	19	<i>C. parapsilosis</i>
9	Kadın	75	<i>C. albicans</i>
10	Erkek	61	<i>C. parapsilosis</i>
11	Erkek	21	<i>C. tropicalis</i>
12	Kadın	23	<i>C. parapsilosis</i>
13	Erkek	64	<i>C. parapsilosis</i>
14	Erkek	49	<i>C. parapsilosis</i>
15	Erkek	72	<i>C. albicans</i>
16	Erkek	69	<i>C. albicans</i>
17	Kadın	30	<i>C. albicans</i>
18	Erkek	31	<i>C. parapsilosis</i>
19	Kadın	59	<i>C. albicans</i>
20	Kadın	85	<i>C. tropicalis</i>
21	Erkek	78	<i>C. albicans</i>
22	Erkek	24	<i>C. albicans</i>
23	Kadın	75	<i>C. albicans</i>
24	Kadın	41	<i>C. albicans</i>

25	Erkek	78	<i>C. tropicalis</i>
26	Kadın	64	<i>C. albicans</i>
27	Kadın	64	<i>C. albicans</i>
28	Erkek	24	<i>C. parapsilosis</i>
29	Kadın	54	<i>C. tropicalis</i>
30	Kadın	19	<i>C. albicans</i>
31	Erkek	67	<i>C. tropicalis</i>
32	Erkek	21	<i>C. parapsilosis</i>
33	Kadın	69	<i>C. albicans</i>
34	Erkek	18	<i>C. parapsilosis</i>
35	Erkek	84	<i>C. tropicalis</i>
36	Erkek	22	<i>C. albicans</i>
37	Erkek	44	<i>C. albicans</i>
38	Erkek	50	<i>C. tropicalis</i>
39	Kadın	26	<i>C. parapsilosis</i>
40	Erkek	76	<i>C. albicans</i>



Grafik 4.1. Hastaların türler arasında dağılım grafiği

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları 18-87 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 50.825 ± 23.470 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. hastaların yaş ortalaması

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Ss (\pm)
Yaş	40	18.00	87.00	50.825	23.470

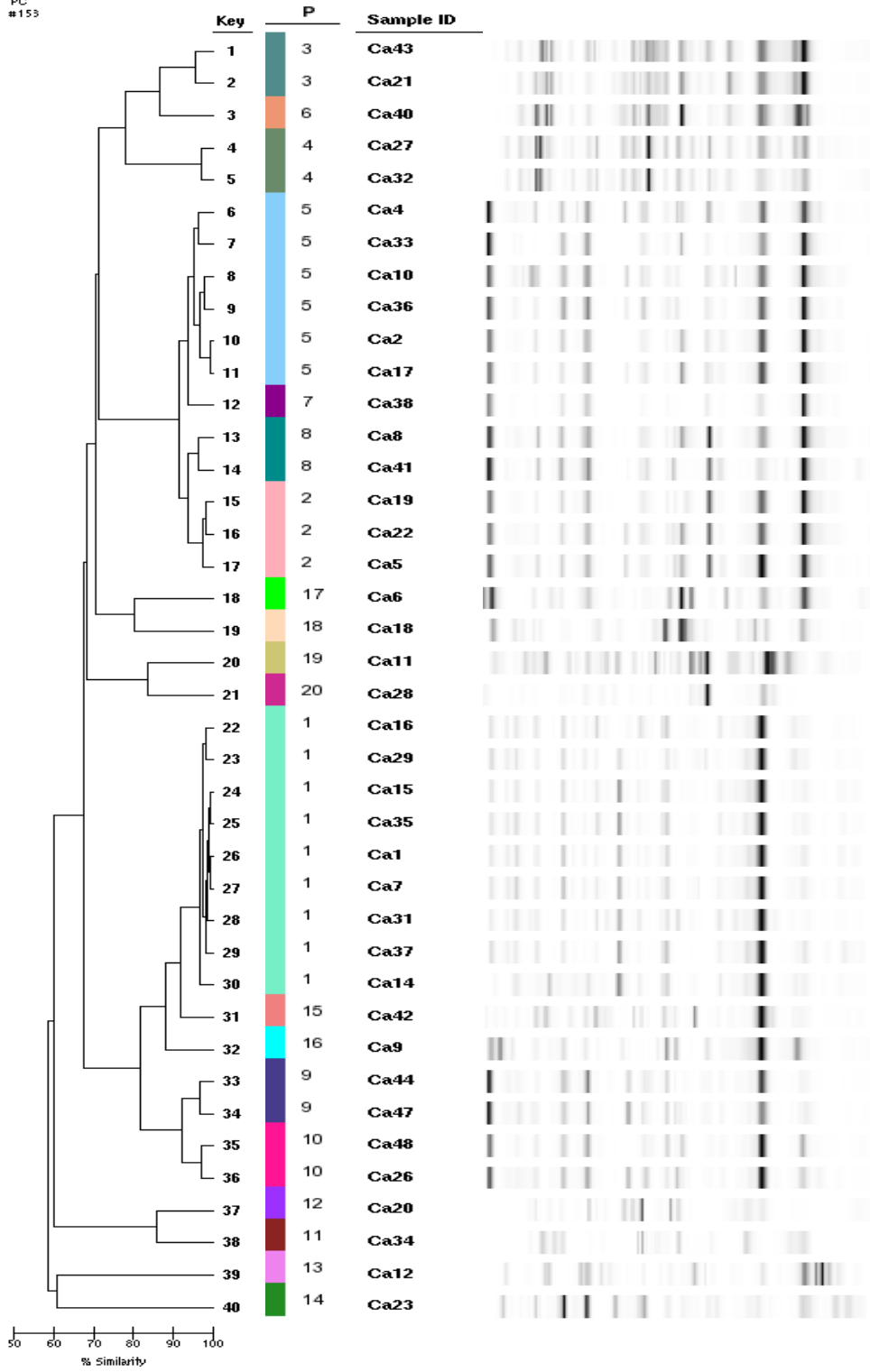
Genotipik Değerlendirme Sonuçları

DiversiLab veri analizinde bulunan dendogram, benzer DNA dizilerinin renklerle ayrılarak gösterilen benzerlik matrisi ve suşların benzerliklerine göre grafik üzerinde noktalama yapan noktalama grafiğine göre yorumlama yapıldı.

Toplam 40 hastadan izole edilen *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* türlerinin DNA parmak izi sonuçlarının dendogram, benzerlik matrisi ve noktalama grafiği sırasıyla Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Grafik 4.2’de gösterilmiştir.

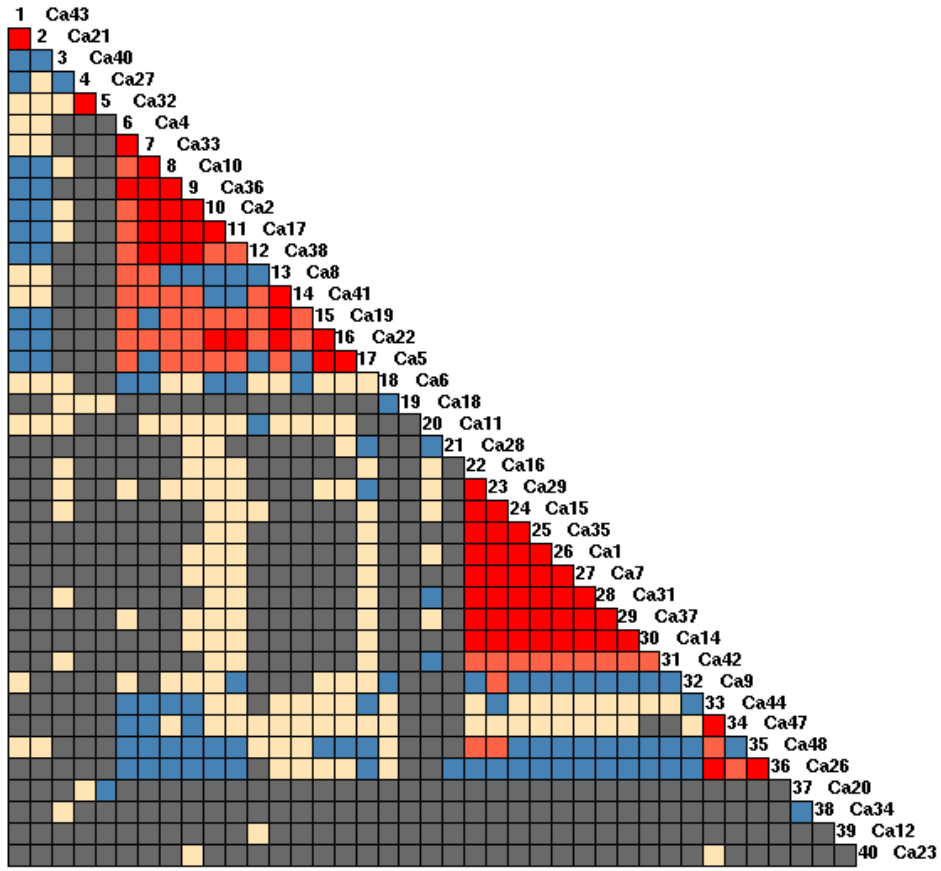
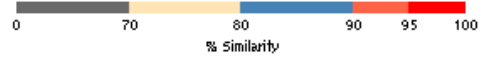


Diversilab v3.6
PC
#153

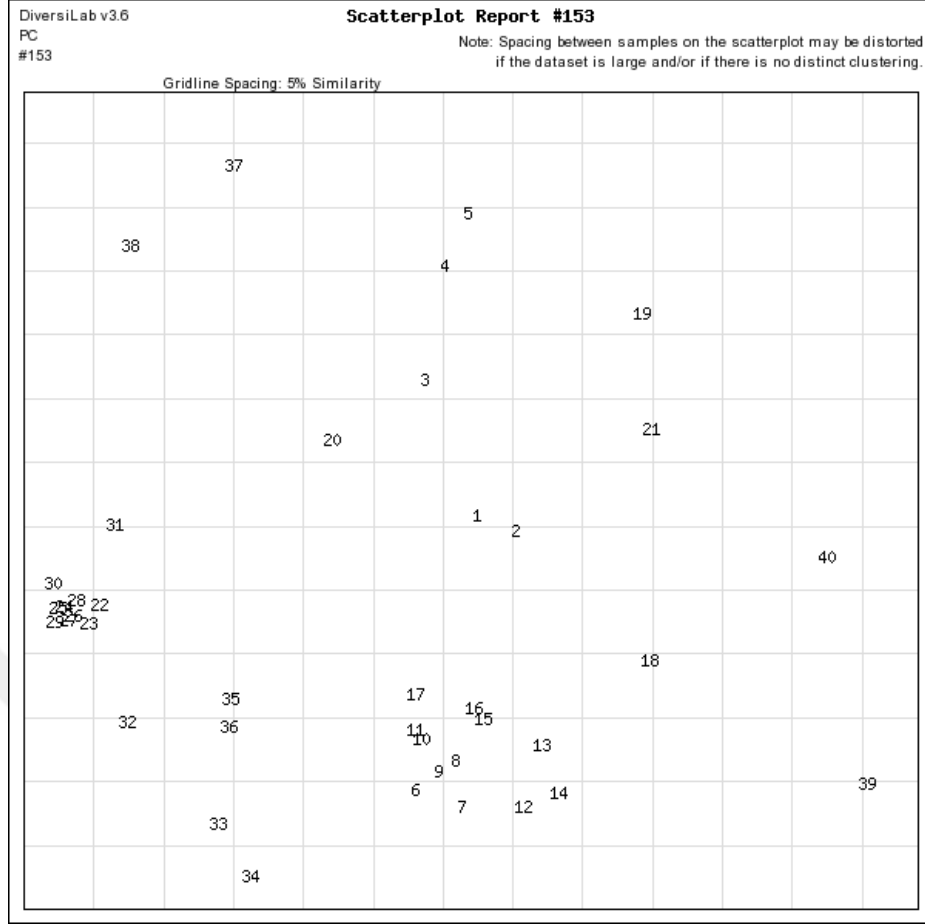


Şekil 4.1. *C. albicans*, *C. Parapsilosis*, *C. tropicalis* ilişkisini gösteren dendrogram

Diversilab v3.6
PC
#153



Şekil 4.2. *C. albicans*, *C. Parapsilosis*, *C. tropicalis* ilişkisini gösteren benzerlik matrisi



Grafik 4.2. *C.albicans*, *C. parapsilosis*, *C.tropicalis* ilişkisini gösteren noktalama grafiği

DNA parmak izi analizi sonrasında 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ve 30 numaralı örnekler olan 9 *C. parapsilosis* izolatının aynı klon olduğu saptandı. Bu 9 izolatın noktalama grafiğinde bir arada bulunduğu ve dendogramda da aynı koldan çıkış yaptıkları görülmüştür. Ayrıca *C. albicans* izolatları arasında 3 farklı benzerlik (her birinde iki izolat bulunan) (15,16;10,11;8,9) saptanmıştır.

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Hastane enfeksiyonları, hastaların hastanede kalış zamanlarını arttırarak, mortalite ve morbidite oranlarında ve tedavi giderlerinde artmaya neden olan önemli enfeksiyonlardır (85). Amerika'da her yıl yaklaşık 88.000 hastanın ölümü ile sonuçlanan 2 milyon hastane kaynaklı enfeksiyonun olduğu ve 4.5 milyar dolarlık ekonomik kaybın olduğu bildirilmiştir (86). Ülkemizde hasta başına düşen ortalama maliyet artışının 1.800 dolar olduğu düşünülmektedir (87).

Khan ve ark. (88) yaptıkları çalışmada hastane enfeksiyonlarının Türkiye'ye maliyetinin 48 milyon dolar olduğu bildirilmiştir. Bunun en önemli sebeplerinden bir tanesinin hastane enfeksiyonlarının hastanede kalış zamanlarını 4-34 gün arasında uzatması olarak bildirilmiştir. Hastanede kalış zamanlarının artması hematolojik, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve radyolojik testlerle cerrahi işlemlerin artmasına yol açmaktadır (87).

Hastane enfeksiyonlarının görülme oranları % 5-10 arasında değişiklik göstermektedir ve yoğun bakım üniteleri diğer bölümlere göre daha yüksek oranda hastane enfeksiyonları görülmektedir (89).

İnvazif mikozların % 70-90'ına *Candida* türleri neden olmaktadır (90). *Candida* türleri genellikle canlılarda gastrointestinal sistemde ve diğer mukokutanöz membranlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Sağlıklı olan kişilerde gastrointestinal sistemde olan kolonizasyonlarına kolonda daha çok rastlanmaktadır. Ağızda kolondan daha az oranda bulunmaktadırlar. *Candida* kolonizasyonu ayrıca vajinada da yoğun şekilde görülmektedir. Sağlıklı kadınların yaklaşık 1/3'ünün vajinasında *Candida* kolonizasyonuna rastlanmaktadır. *Candida*'ların hastalığa neden olma potansiyelleri ve antifungal duyarlılıkları türlere göre değişkenlik göstermektedir. Bu yüzden hastalığa neden olan *Candida* türlerinin tanımlanması büyük önem taşımaktadır.

Candida türlerinden en çok *C. albicans* izole edilmektedir. Sağlıklı derilerde *Candida* türlerine çok sık rastlanmamaktadır. Toprakta, havada ve bitkilerde genellikle *C. albicans* dışındaki türlere (non-albikan kandida) rastlanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda mantar patojenlerinin neden olduğu hastane kaynaklı enfeksiyonlarda rastlanma sıklığında artığı ve son derece ciddi enfeksiyonlara neden olduğu görülmektedir. Kanser tedavileri, bazı kemoterapi uygulamaları, kateter ve diyaliz gibi invazif girişimler, bazı

viral enfeksiyonlar, travmalar, yanıklar, bağ doku hastalıklarının immün sistemi güçsüz duruma düşürmesi ile birlikte fırsatçı mikozların görülme sıklığı da artış göstermektedir. Bununla birlikte yoğun bakım üniteleri hizmetinde gelişmelerle beraber destek tedavisinde bulunan hastaların artış göstermesi mantar enfeksiyonlarına hassas kişilerin artmasına neden olmuştur. Bu hasta gruplarının karşılaştığı en önemli risk faktörleri arasında geniş spektrumlu antibiyotikleri uzun zaman kullanmaları ve kalıcı kateter kullanmaları yer almaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda hastane enfeksiyonları arasında *Candida* türleri kan kültürlerinden izole edilen diğer türler arasında dördüncü sırada yer almaktadır (91).

Yüz elliden fazla *Candida* türünün bulunduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bulunan bu türlerin çok azının insanlarda kandidiazise neden olmaktadır. Çoğu *Candida* türünün 37 °C'de üreyemediği ve çoğu *Candida* türünün insanlarda patojeniteye neden olmadığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (61).

Kan dolaşımı enfeksiyonları görülmesinin sebepleri olan *Candida*'lar ABD'de dördüncü, Avrupa'da yedinci sırada yer almaktadır (92). Kandidemi insidansının 10000 hastanın olduğu bir hastanede % 0.5-1.4 arasında değişiklik gösterdiği ve yoğun bakım ünitelerinde bu oranın daha yüksek olduğu bildirilmiştir (93,94). Yaklaşık 1000 hastadan ikisinin yoğun bakım hastası olduğu düşünülmektedir (95,96).

Günümüzde invazif *Candida* enfeksiyonlarının yoğun bakım ünitelerinde yüksek ölüm oranlarına neden olduğu bildirilmiştir (97).

İnvazif *Candida* enfeksiyonlarının kontrol altına alınması için tür tayinleri yapılmalıdır. Ayrıca uygun antifungal tedavi yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir. Tüm bu tekniklerden sonra mortalitenin azalma göstereceği bildirilmiştir (98,99).

Mantar enfeksiyonlarındaki artışa paralel olarak bu enfeksiyonlara yol açan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmüştür. Endojen kökenli olması sebebiyle hastane enfeksiyonlarında *C. albicans* ilk sırada yer almaktadır. Bu türün dışında *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* gibi *Candida* türlerine de rastlanılmaktadır. Bu türlere son yıllarda daha sıklıkla rastlanması, profilaktik ve ampirik olarak antifungallerin yaygın olarak kullanımı ile azol türevlerinin kullanılmasının (ki non-albikan kandida izolatlarının bir kısmında intrensik azol direnci vardır) nedenlerine

bağlanabilir (91).

Candida enfeksiyonlarının minimuma indirilmesinde etkenin identifikasyonu ve duyarlılığa göre antifungal seçimi büyük önem taşımaktadır. Fakat günümüzde antifungal duyarlılık testleri her merkezde yapılmamaktadır. Antifungallara doğal direnci bulunan veya yüksek direnç paternleri olan non-albicans türlerinin identifikasyonlarının gerçekleştirilmesi empirik tedavide önemli yer taşımaktadır. Non-albicans türlerinin *C. albicans*'la karşılaştırılmasıyla doğal olarak antifungal ilaçlara karşı yüksek dirence sahip olmaları ve son zamanlarda enfeksiyon etkeni olarak daha fazla izole edilmesiyle alakalı olabileceği bildirilmiştir (100).

Malani ve ark. (101) yaptıkları ve 1988-1999 yılları arasında kandidemi etkenlerini inceleyen çalışmalarda, *C.albicans* en sık rastlanan tür olmuştur. Fakat rastlanma sıklığı % 63'ten % 43'e gerileme göstermiştir. Ayrıca, *C. glabrata* ve *C. parapsilosis*'in görülme oranlarında artışın olduğu bildirilmiştir. *C.glabrata*'nın görülme oranı % 10'dan % 20'ye; *C. parapsilosis*'in, % 5'ten % 18'e artış göstermiştir. *C. krusei*'ye, çalışmanın ilk yıllarında rastlanmazken daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ortalama % 3 civarında saptandığı bildirilmiştir.

Kandidüri hospitalize hastalarda yaygın şekilde görülür. Fakat son zamanlarda artış gösteren risk faktörlerine bağlı olarak daha sık izole rastlanmaktadır (102). Kandidürinin oluşmasında etkili faktörler arasında, uzun süre kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler, üriner kateterizasyon, hastanede yatış süresinin uzun olması ve metabolik rahatsızlıklar yer almaktadır (102,103). Kandidüri hastaların yaklaşık yarısında *C. albicans* ile oluşurken *C. glabrata* da yaygın rastlanan diğer türdür (104,105).

Kandidüri etkenlerinin fenotipik ve genotipik analizlerle araştırılması ve kateterize hastalarda kandidüri görülme oranının belirtilmesi için gerçekleştirilen, üriner kateteri olan 250 hastanın dahil edildiği bir çalışmada; mayaların identifikasyonunda sırasıyla germ tüp tekniği, hif ya da psödohiplerin ve ya klamidosporeların, CMA+TW80 ve CHROMagar *Candida* besiyerlerinde üremesini kapsayan fenotipik tanımlama, bütün türlerin genomik DNA'sı, PCR ve RFLP yöntemleri ile de moleküler tanımlama yöntemleri kullanılmıştır. Araştırma kapsamındaki 95 kadın ve 155 erkeğin idrar örneklerinin 40'ında *Candida* türleri bulunmuştur. Kadınlarda enfeksiyon oranı % 55,

erkeklerde enfeksiyon oranı % 45 olarak bulunmuştur. Tür dağılımına bakıldığı zaman *C. albicans*'ların % 45, *C. glabrata*'nın % 32.5, *C. tropicalis*'in %15, *C. parapsilosis*'in % 5 ve *C. krusei*'nin % 2.5 oranında bulunduğu bildirilmiştir. Kandidüri görülme oranının da % 16 olarak bulunmuştur (106).

Çalışmalar non-albikan candida türlerinin artışını göstermektedir. Bizim çalışmamızda, değerlendirmeye dahil edilen 40 izolata, 21'i (% 52.5) *C. albicans*, 12'si (% 30) *C. parapsilosis*, 7'si (% 17.5) *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır. Çalışmada izolatların yarısında albikans türü mayalar, diğer yarısında da non-albikan mayalar saptanmıştır. Bununla birlikte non-albikan türlerden sadece *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis* saptanmıştır. Bu örnek sayısına ve çalışmanın yapılmış olduğu zaman periyoduna bağlı olabilir.

Cömert ve ark. (107) yaptıkları çalışmalarda yoğun bakımda yatan hastalardan izole edilen 320 *Candida* suşunu tanımlamışlardır. Tanımlanan bu suşlar arasında en çok % 65.6 oranında *C. albicans* türüne rastlanmıştır, bunun dışında % 11.3 oranında *C. parapsilosis*, % 8.8 oranında *C. glabrata* ve % 7.8 oranında *C. tropicalis* türlerine rastlamışlardır.

Cuenca-Estrella ve ark. (108) yaptıkları çalışmalarda kan örneklerinden 351 *Candida* suşunu izole etmişlerdir. İzole edilen bu suşlardan % 51' i *C. albicans*, % 23' ü *C. parapsilosis* için, % 10' u *C. tropicalis*, % 9'u *C. glabrata*, % 4'ü *C. krusei* olarak tanımlanmıştır.

Messer ve ark. (109) Kuzey Amerika, Avrupa ve Latin Amerika'dan, çoğu kan kültüründen izole edilmiş olan 1397 *Candida* suşunu araştırmışlardır. İzole edilen bu suşlardan % 48.7'si *C. albicans*, % 17.3'ü *C. parapsilosis*, % 17.2'si *C. glabrata*, % 10.9'u *C. tropicalis*, % 1.9'u *C. krusei* ve % 4'ü diğer *Candida* türleri olarak bildirilmiştir. Otağ ve ark. (109) 872 maya suşunu araştırdıkları bir çalışmada izole edilen bu suşların % 45.6'sını *C. albicans*, % 18.6'sını *C. tropicalis*, % 14.9'unu *C. parapsilosis*, % 10.6'sını *C. glabrata*, % 3.8'ini *C. kefir* ve % 2.4' ünü *C.krusei* olarak tanımlanmışlardır. Şahin ve ark. (90) 88 maya suşu ile çalışmışlar ve bu suşlardan % 44.3' ünü *C. albicans*, % 19.3'ünü *C. tropicalis*, % 13.7'sini *C. parapsilosis*, % 11.4'ünü *C. glabrata*, % 6.8' ini *C. kefir* ve % 4.5' ini *C. krusei* olarak tanımlanmışlardır.

Epidemiyolojide görülen değişimler ve oluşan antifungal dirençler yoğun bakım ünitelerinin pratiğinde büyük önem taşımaktadır. Son zamanlarda lokal epidemiyolojik çalışmalarla ilgili bilgiler ve antifungal duyarlılık paternlerinin öğrenilmesi büyük öneme sahip olmaktadır. Günümüzde geniş sürveyans çalışmalarıyla kandidemi epidemiyolojisini içeren farklı bilgiler bulunmaktadır, fakat yoğun bakım ünitelerinden öğrenilen bilgilerin yetersiz olduğu bildirilmiştir.

Yoğun bakım ünitelerinde invazif *Candida* enfeksiyonlarının epidemiyolojileri ve risk etmenlerinin incelendiği, *Candida* enfeksiyonu tanısı konmuş olan ve sistemik antifungal tedavi gören 300 yetişkinin dahil edildiği bir çalışmada hastaların % 39.5' ine kandidemi, % 32.1'ine invazif kandidiazis tanısı konmuştur. Ayrıca hastaların % 28.4'ünde kandidemi ve invazif kandidiazisin birlikte bulunduğu belirtilmiştir. Hastaların % 37'sinin yoğun bakımında kalışın ilk 5 gününde kandidemi gelişmiştir. Türler; % 57'sinde *C. albicans*, % 16.7'sinde *C. glabrata*, % 7.5'inde *C. parapsilosis*, % 5.2'sinde *C. krusei* ve % 4.9'unda *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır (111).

Candida'ların normal florada bulunmasından dolayı enfeksiyona neden olan *Candida* suşlarının bulunması önemlidir. Çünkü *Candida* izolatlarının enfeksiyon oluşturma becerileri ve antifungal ajanlara karşı direnç göstermeleri arasında farklılıklar vardır. Morfolojik kültür testlerinin, ayırt edici besiyeri kullanımlarının ya da biyokimyasal asimilasyon yöntemleriyle izole edilen *Candida* suşlarının farklı fenotipik tekniklerle identifikasyonu, epidemiyolojik araştırmalar bakımından geniş kullanım alanına sahip olmaktadır.

Sonuç olarak, *Candida* türlerinin hastane enfeksiyonu içerisindeki payında artış yanı sıra azol türevlerinin profilaktik amaç ile sıklıkla kullanılması *C. albicans* türlerinin baskılanmasına ve *C. krusei* ile *C. glabrata* gibi diğer *Candida* türlerinin daha sık rastlanmasına neden olmaktadır (112). Hastaların kritik durumu ve mortalitenin özellikle kandidemi gibi invaziv enfeksiyonlarda yüksek olmasından dolayı hızlı ve güvenilir tanı yöntemlerinin kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu çalışmada, invaziv kandida enfeksiyonlarında saptanan türler arasında DNA homolojisi açısından benzerlik olup olmadığı araştırılmıştır. Aslında kandidemide bulaş kaynağının endojen olduğu klasik bilgiler arasında yer alırken burada farklı bir bakış açısı ile ortak klonların var olup olmadığı irdelenmeye çalışılmıştır.

Çalışma için aynı ünite ve aynı örnek türünde izole edilen kandida türleri araştırılarak yayılımında etkili faktörler tanımlanmıştır.

Ülkemizde 2004 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından yataklı tedavi veren kuruluşlarda enfeksiyon kontrol komitelerinin oluşturulması zorunlu kılınmıştır. Böylece, yoğun bakım üniteleri gibi bazı kritik birimlerde aktif, bazı birimlerde pasif sürveyans uygulamaları yaygın hale getirilmiştir. Sürveyans sonucu bulunan antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre etkenlerin birbirine olan benzerlikleri fenotipik olarak belirlenmekle birlikte bu testlerin duyarlılığı düşüktür.

Epidemiyolojik sürveyans çalışmaları başarılı enfeksiyon kontrol programlarının temel ögesidir. Bu amaçla kullanılan çok sayıda fenotipik ve genotipik yöntem vardır (113). Kuşkusuz fenotipik yöntemler ile karşılaştırdığında moleküler tekniklerin ayırım gücü daha yüksek olup, çok sayıda türe uygulanabilmektedir (114).

RFLP tekniğinde mikroorganizmaların yoğun kültürlerinden alınan ya da moleküler tekniklerle çoğaltılan kromozomal DNA, uygun restriksiyon enzimleriyle (RE) kesildikten sonra agaroz elektroforezi ile DNA parçalarının ayrıştırılması sağlamaktadır. Yöntem, tekrarlanma sayısı yüksek, kolay, hızlı ve ucuz bir tekniktir. Ancak RE kromozomal DNA'da birçok kesim yapması sonucunda oluşan fazla sayıdaki bantlarının değerlendirilmesinde bazı sorunlara neden olmaktadır (115).

rep-PCR tiplendirme tekniğinde; birçok bakterinin genomu boyunca dağılımı olan tekrarlanabilen DNA dizilimlerine komplementer olan primerlerin kullanılmasıyla tekrarlar arasında kalan DNA dizilimlerinin amplifikasyonu yapılabilmektedir. Suşlar arasında bulunan tekrar elementlerinin sayıları ve lokalizasyon farklılıkları moleküler tiplendirme de tipe özgü bant profilini oluşmasını sağlamaktadır. rep-PCR; kültürden ve direkt klinik örneklerden yapılan DNA ekstraksiyon ürünleri ile çalışılabilmektedir. Genellikle tek bir primer seti kullanılarak Gram-negatif ve Gram-pozitif birçok bakteride tiplendirmeyi yapabilecek yeter sayıda bant profilini oluşturabilmektedir (116).

Bou ve ark. (117) yaptıkları çalışmada rep-PCR ile PFGE arasında korelasyon bulunmuştur. rep-PCR'ın AP-PCR'dan daha yüksek ayırt edici olduğu bildirilmiştir. rep-PCR; hızlı, kolay, yararlı ve sonuçları PFGE ile karşılaştırılması yapılabilecek bir

tekniktir. rep-PCR ve AP-PCR için bakteriler katı besiyerlerinde üretildikten sonra 10 saatten az bir zaman yeterli olmaktadır, PFGE için bu sürenin en az 90 saate kadar artış gösterdiği bildirilmektedir.

Yeni çalışmalarda; rep-PCR’da yapılan modifikasyonlar ile üretkenliğin ve ayırım gücünün artış gösterdiği bildirilmiştir. Otomatik rep-PCR’a uygulanan kombine modifikasyonlar ile rep-PCR’ın üretkenliğinde artış olmuştur. Döngü süresi, maliyet ve şablon ihtiyaçlarında azalmanın olduğu belirtilmiştir.

Yapılan başka bir araştırmada; rep-PCR ampliconlarının agaroz jelle ayrılması ile lobaratuvarlar arası yetersiz sonuçların oluştuğu ve klinik açıdan hantal olduğunu bildirilmiştir. Mikroakışkan platformunun adaptasyonu ile profil çeşitliliğinde azalmaların görüldüğü, üretkenliğin arttığı, sürtünmenin azalmasıyla 6 saatten 1 saate indiği ve çalışan maliyetlerinde azalmaların olduğu not edilmiştir. Agaroz jeldeki DNA profillerinin görsel yorumlanmasının zaman alıcı ve kişiden kişiye değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Bilgisayar yazılımı görüntülerinin analiz edildiği bildirilmiştir, fakat görüntülerin ilk başta yakalanması gerektiği ve sisteme yüklenmesi gerektiği bildirilmiştir. Böylece kişiye olan bağımlılığının devam ettiği belirtilmektedir. DiversiLab yazılımı standart bir algoritmayı kullanmaktadır ve otomasyonun örnek analizi raporla birlikte 13 örnek için 4 saat olmaktadır. Bu durumun moleküler çalışmalara uygun bir süre olduğu bildirilmiştir. Genotipleri belirleme teknikleri epidemiyolojik çalışmalarda ve parmak izleri kalıplarının karşılaştırılması en kritik noktayı oluşturmaktadır. DNA konsantrasyonundaki değişimler özel işlemleri ve laboratuvar imkanlarının test sonuçlarını etkilememelidir.

DiversiLab sistemi döngü süresinin ve teknik personel süresinin önemli olduğu klinik laboratuvarlarda gözde bir sistemi oluşturmaktadır. rep-PCR çalışmasının en fazla emek harcanan yerini DNA ekstraksiyonu oluşturmaktadır. Manuel DNA saflaştırma yöntemlerinin otomatik sistemler ile yapılması yönünde bazı araştırmaların olduğu bildirilmiştir. DiversiLab sisteminde bazı potansiyel sınırlamalar bulunmaktadır. DiversiLab’ın maliyet bakımından mantıklı olması için 12 örnek ve 1 pozitif kontrol ve ya kontrolün olmadığı durumlarda 13 örnek test edilmelidir. Çünkü mikroakışkan Chipde 13 kuyucuk bulunmaktadır. Bunun nedeni örnek konulmayan kuyucukların Jel matriksi bozulacağından tekrar çalışmayacağıdır (118).

Bu çalışmada duyarlılığı yüksek ve diğer sekanslama yöntemlerine göre uygulama kolaylığı göz önüne alınarak rep-PCR yöntemi seçilmiştir. Çalışmada rep-PCR ile DNA parmak izi analizi otomatize bir sistemle yapılmıştır. Sonuçlarda 9 *C. parapsilosis* izolatının aynı DNA homolojisine sahip olması son derece ilginç bir bulgu olmuştur. Bu özellikle hastane izolatu *C. parapsilosis*'in çevresel kaynaklardan çapraz bulaşına, hastalarda hastanede kalış süresinde aynı izolatla kolonizasyonuna bağlı olabileceği düşünülmüştür. *C. parapsilosis* izole edilen ve aynı DNA hemolojisine sahip izolatların farklı zaman dilimlerinde saptanması (hastalardan sadece ikisinin aynı zaman periyodunda yatan hastalar olduğu, diğerinin izolatlarının saptanma zamanlarının birbiri ile bağımsız zaman dilimleri olduğu görülmüştür) ilginç bir bulgudur.

C. albicans' da benzer olan (2'li grup olarak) 3 klon saptanmıştır (toplamda 6 hasta). Bu izolatlardan I. Klonda (15,16) saptanan ve III. Klonda (10,11) saptanan hastaların aynı zaman diliminde YBÜ' sinde olduğu görülmüştür. İzole edilen 12 *C. parapsilosis* izolatının 9' unun (% 75) benzer olması ; *C. parapsilosis* izolatlarının daha sıklıkla hastane izolatu olabileceğini, dış ortam koşullarına daha dayanıklı olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada ekzojen kaynakların araştırılması planlanmamış olmakla birlikte verilen kaynak araştırılmasında ekzojen alanların da kandida için taranmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. YBÜ gibi birçok risk faktörü taşıyan hastaların yattığı alanlarda enfeksiyon kontrol önlemlerinin doğru uygulanmasının invaziv kandida enfeksiyonlarının önlenmesi açısından da en önemli yaklaşım olacağı düşünülmektedir.

Yoğun bakım ünitelerinde hastane enfeksiyonlarının azaltılmasında uygulanacak yöntemlerden başlıcaları kuşkusuz aktif sürveyans ve özellikle salgın düşünülen zamanlarda epidemiyolojik sürveyanstır. Moleküler yöntemlerin sürekli kullanımı ne pratik ne de ekonomiktir. Doğru kullanılmasıyla enfeksiyon kontrol programlarına yön vereceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bilgehan, H. (1986). *Candida*'ların tarihçesi, ekolojisi ve dağılımı. Ed: Tümbay E. *Candida* ve infeksiyonları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No 6. İzmir, Bilgehan Basımevi:1-8.
2. Edwards, J. E. (2000). *Candida* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases (5th ed). Philadelphia, Churchill Livingstone: 2656-2671.
3. Poyraz, Ö. (2006). Fırsatçı enfeksiyon oluşturan mantarlar. Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji. Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, No. 101. Sivas:129-152.
4. İnci, R. (1999). Mantarların Yapıları, Üreme Özellikleri ve Sınıflanması. Ustaçelebi Ş. (ed.): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi. Güneş Kitabevi, Ankara:1015-1021.
5. Tümbay, E. (1999). *Kandida* Türleri. Ed: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi. Güneş Kitabevi, Ankara:1081-1085.
6. Fox, C. R. ve Sande, M. A. (2004). *Candida* Türleri (Çev. S. Arıkan). In: WilsonWR, Sande MA (eds). Current Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi. Dündar İH (Çev. Ed). Nobel Tıp Kitabevleri: 734-744.
7. Willke, T. A. ve Çerikçioğlu, N. (2002). *Candida* türleri. Ed: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. Nobel Tıp Kitabevleri:1797-1809.
8. Yücel, A. (1986). Tıp bakımından önemli *Candida* türlerinin mikolojisi. Ed: Tümbay E. *Candida* ve infeksiyonları. Türk Mikrobiyol Cem Yay. No 6. Bornova, Bilgehan Basımevi:9-22.
9. Winn, Jr. W.C., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., Woods, G. L. (eds) (2006). The laboratory identification of yeasts. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (6th ed). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins,1216-1232.
10. Forbes, B. A., Sahm, D. F., Weissfeld, A. S. (eds) (2007). The yeasts. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology (12th ed.). Missouri, Mosby Elsevier:696-702.

11. Martinez, J. P., Gil, M. L., López-Ribot, J. L., Chaffin, W. L. (1998). Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. Clin Microbiol Rev.; 11(1):121-141.
12. Marcilla, A., Valentin, E., Sentandreu, R. (1998). The cell wall structure: developments in diagnosis and treatment of candidiasis. Int Microbiol.; 1:107-116.
13. Chaffin, W. L., López-Ribot, J. L., Casanova, M., Gozalbo, D., Martinez, J. P. (1998). Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. Microbiol Mol Biol Rev.;62 (1):130-180.
14. Kantarcıoğlu, A. S, Yücel, A. (2004). *Candida albicans*'ta mannan: çeşitli özellikleri ve önemi. Cerrahpaşa J Med.;35:42-45.
15. Nelson, R. D., Shibata, N., Podzorski, R. P., Herron, M. J. (1991). *Candida* mannan: chemistry, suppression of cell-mediated immunity, and possible mechanisms of action. Clin Microbiol Rev.;4:1-19.
16. Calderone, R. A., Braun, P. C. (1991). Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. Microbiological Reviews;55:1-20.
17. Masuoka, J. (2004). Surface glycans of *Candida albicans* and other pathogenic fungi: physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. Clin Microbiol Rev.;17:281-310.
18. Kwon-hung, K. J. ve Bennet, J. E. (1992). Medical mycology
19. Guarro, J., Gene, J., Stchigel, A. M. (1999). Developments in Fungal Taxonomy. Clin Microbiol Rev; 12: 454-500.
20. Murray, P. R. *et al.* (1995). Manual of Clinical Microbiology, 6th ed.
21. Kurtzman, C. P. ve Fell, J. W. (1998). The yeasts: a taxonomic study, 4th edn. Elsevier Science BV, Amsterdam, The Netherlands.
22. Castellani, A. (1912). Observations on the fungi found in tropical bronchomycosis. Lancet; 1:13-15.
23. Warnock, D. W. (2007). Superficial, subcutaneous and systemic mycoses. In: Greenwood D, Slack R, Peutherer J, Barer M (eds). Medical Microbiology (7th ed). Philadelphia, Churchill-Livingstone,:596-620.
24. Joklik, W. K., Willett, H. P., Amos, D. B., Wilfert, C. M. (eds). (1992). Candidiasis. Zinsser Microbiology (20th ed). Connecticut, Appleton & Lange:1136-1144.

25. Bke, . (2007). Yoğun bakım birimlerinde mantar infeksiyonları epidemiyolojisi ve risk faktörleri. 3. Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Sempozyum Kitabı, Klimik Dergisi.;20:28-29.
26. Marsh, P. D. ve Martin, M. (2009). Oral fungal infections,. In: Oral Microbiology, pp. 166–179, Churchill Livingstone, Edinburgh, UK.
27. Williams, D. W. and Lewis, M. A. O. (2000). Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. Oral Diseases, 6 (1): 3–11.
28. Baveja, C. (2010). Medical Mycology. In: Text Book of Microbiology for Dental Students. Arya Publications, Delhi, India, 3rd edition, pp. 322–323.
29. Harrington, B. J. and Hageage, G. J. (1991). Calcofluor white: tips for improving its use. Clinical Microbiology Newsletter. 13(1): pp. 3–5.
30. Davenport, J. C. and Wilton, J. M. A. (1971). Incidence of immediate and delayed hypersensitivity to *Candida albicans* in denture stomatitis. Journal of Dental Research, 50(4): 892–896.
31. Nassar, A., Zapata, M., Little, J. V., Siddiqui, M. T. (2006). Utility of reflex gomori methenamine silver staining for *Pneumocystis jirovecii* on bronchoalveolar lavage cytologic specimens: a review. Diagnostic Cytopathology, 34 (11): 719–723.
32. zcan, S. K., Budak, F., Ycesoy, G., Susever, S., Willke, A. (2006). Prevalence, susceptibility profile and proteinase production of yeasts causing vulvo vaginitis in Turkish women. APMIS; 114: 139-145.
33. Uzun,  (2001). Kandidemi. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 19-21 Haziran, 2001; Ankara, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39:159-162.
34. Willke, A (2007). Kandidemi: Nasıl değerlendirilmeli ne yapılmalı. İnfeksiyon Dergisi; 21:117-122.
35. Kalkan, A. (2007). Yoğun bakım ünitelerinde mantar etkenleri profilindeki değişim. 3. Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Simpozyumu, Yoğun Bakım Dergisi; 7(1): 103-107.
36. Uzun, . (2003). Yoğun bakım ünitesinde fungal infeksiyonlara yaklaşıım. Yoğun Bakım Dergisi; 3(2): 135-144.
37. Ener, B, Kandidoz, (2003). 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:218-220.

38. Hilmioğlu, S. (2002). *Candida* infeksiyonlarının laboratuvar tanısı: Klasik tanıda izlenecek yol ne olmalı? *Candida* Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Tutanaklar; 21-22 Haziran; Eskişehir, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39:125-131.
39. Arısoy, A. (2007). İdrar yolu kandidozları: tanı sorunları. *İnfeksiyon Dergisi*; 21: 123-125.
40. Akalın, H. (2008). Kandidemilerde risk faktörleri ve risk değerlendirmesi. *Ankem Dergi*, 22(2): 270-274.
41. Aktaş, F. (2001). Kandidüri. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 19-21 Haziran, Ankara, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39, 2001:155-158.
42. Yandımamadım, S. (2004). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen infeksiyon etkeni *Candida* türlerinin virulans faktörlerinin (slime üretimi, hemolitik aktivite, proteinaz, fosfolipaz, esteraz, lipaz enzimleri) araştırılması. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul.
43. Kantarcıoğlu, A. S., Yücel, A. (2000). *Candida*'ların patojenlik belirtenleri. *Cerrahpaşa J Med*, 31:172-186.
44. Yücel, A., Kantarcıoğlu, A. S. (2000). Mantarlarda dimorfizm. *İnfeksiyon Derg*, 14(4): 569-578.
45. Kuştimur, S. (2001). Fungal enfeksiyonlarda virülans faktörleri. X.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Program Kitabı; 15-19 Ekim, 2001; Adana, Türkiye: 197-199.
46. Ünlü, G. V. (1998). Mannoprotein adhesin of *Candida albicans* germ tubes. *Turkish Journal of Medical Sciences*; 28: 469-474.
47. Cengiz, S. A., Us, E., Cengiz, A. T. (2006). Slime faktörünün Klinikteki yeri ve önemi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*; 13(3): 193-197.
48. Özcan, S. K. (2007). Tıbbi gereçlerle ilişkili *Candida* biyofilm ve enfeksiyonları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 27: 589-600.
49. Donlan, R. M., Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 15:167-193.
50. Al-Fattani, M. A., Douglas, L. J. (2006). Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. *J Med Microbiol*; 55: 999-1008.

51. Kojic, E. M., Darouiche, R. O. (2004). *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev*, 17: 255-267.
52. Taşova, Y. (2005). Biyofilm ve yabancı cisim infeksiyonları. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı; 16-20 Kasım, 2005; Antalya, Türkiye. İstanbul, 11-14.
53. Ramage, G., Saville, S. P., Thomas, D. P., López-Ribot, J. L. (2005). *Candida* biofilms: an update. *Eukaryot Cell*, 4(4): 633-638.
54. Chen, Y. C., Eisner, J. D., Kattar, M. M., Rassouljian-Barrett, S. L., LaFe, K., Yarfitz, S. L., Limaye, A. P. & Cookson, B. T. (2000). Identification of medically important yeasts using PCR-based detection of DNA sequence polymorphisms in the internal transcribed spacer 3 region of the rRNA genes. *J Clin Microbiol* 38: 2302–2310.
55. Carvalho, A., Costa-De-Oliveira, S., Martins, M. L., Pina-Vaz, C., Rodrigues, A. G., Ludovico, P., Rodrigues, F. (2007). Multiplex PCR identification of eight clinically relevant *Candida* species. *Med Mycol* 45: 619–627.
56. Orazio, R., Scordino, F., Pernice, I., Passo, C. L., Criseo, G. (2009). A multiplex PCR protocol for rapid identification of *Candida glabrata* and its phylogenetically related species *Candida nivariensis* and *Candida bracarensis*. *J Microbiol Meth* 79: 117–120.
57. Kalkancı, A. (2005). Mikozyların serolojik tanısında yenilikler. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49:21-32.
58. Ostrosky-Zeichner, L. (2007). Invasive Yeast Infections. In: Maertens JA, Marr KA (eds). *Diagnosis of Fungal Infections*. New York, Informa Healthcare, 221-238.
59. Saraçlı, M. A. (2005). Mikozyların moleküler tanısı: Neredeyiz? 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49:33-45.
60. Larone, D. (2002). *Medically Important Fungi; A Guide to Identification*. 4th edn. ASM Press, Washington.
61. Calderone, R. A. (2002). Introduction and historical perspectives. In: *Candida and Candidiasis*. Calderone R., ed. pp. 15–25. ASM Press, Washington, DC.

62. Fidel, P. L., Vazquez, J. A., Sobel, J. D. (1999). *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin Microbiol Rev 12: 80–96.
63. Trofa, D., Gacser, A., Nosanchuk, J. D. (2008). *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. Clin Microbiol Rev 21: 606–625.
64. Yoshio, O., Kouji, G. (2006). Antigenicity of *Candida tropicalis* strain cells cultured at 27 and 37 C. FEMS Immunol Med Mic 46: 438–443.
65. Martin, M. V. (1979). Germ-tube formation by oral strains of *Candida tropicalis*. J Med Microbiol 12: 187–194.
66. Odds, F.C. (1988). Pathogenesis of candidosis. In: *Candida and Candidosis* (2nd edn), pp. 42–59, Baillière Tindall, Oxford.
67. Butler, G., Rasmussen, M. D., Lin, M. F. Butler G, Rasmussen MD, Lin MF, Santos MA, Sakthikumar S, Munro CA, Rheinbay E, Grabherr M, Forche A, Reedy JL, Agrafioti I, Arnaud MB, Bates S, Brown AJ, Brunke S, Costanzo MC, Fitzpatrick DA, de Groot PW, Harris D, Hoyer LL, Hube B, Klis FM, Kodira C, Lennard N, Logue ME, Martin R, Neiman AM, Nikolaou E, Quail MA, Quinn J, Santos MC, Schmitzberger FF, Sherlock G, Shah P, Silverstein KA, Skrzypek MS, Soll D, Staggs R, Stansfield I, Stumpf MP, Sudbery PE, Srikantha T, Zeng Q, Berman J, Berriman M, Heitman J, Gow NA, Lorenz MC, Birren BW, Kellis M, Cuomo CA. (2009). Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. Nature 459: 657–662.
68. Ellepola, A. N. B., Morrison, C. J. (2005). Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. The Journal of Microbiology, 43: 65–84.
69. Alexander, B. D., Ashley, E. D., Reller, L. B. ve Reed, S. D. (2006). Cost savings with implementation of PNA FISH testing for identification of *Candida albicans* in blood cultures. Diagn Micr Infec Dis, 54: 277–282.
70. De Backer, M. D., Magee PT, Pla J. (2000). Recent developments in molecular genetics of *Candida albicans*. Annu. Rev. Microbiol. 54, 463–498.
71. Saporito-Irwin, S. M, Birse CE, Syphend PS (1995). *PHR1*, a pH-regulated gene of *Candida albicans*, is required for morphogenesis. Mol. Cell Biol. 15, 601–613.

72. Ghannoum, M. A., Spelberg B, Saporito-Irwin SM, Fonzi WA. (1995). Reduced virulence of *Candida albicans* *PHR1* mutants. *Infect. Immun.* 63, 4528–4530.
73. Muhlschlegel, F. A., Fonzi, W. A. (1997). *PHR2* of *Candida albicans* encodes a functional homolog of the pH-regulated gene *PHR1* with an inverted pattern of pH-dependent expression. *Mol. Cell Biol.* 17, 5960–5967.
74. Wenzel, R. P. (1995) Nosocomial candidiasis: risk factors and attributable mortality. *Clin. Infect. Dis.* 20 1531–1534.
75. Pfaller, M. A. *et al.* (2000). Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 747–751.
76. Han, Y., Morrison RP, Cutler JE (1998). A vaccine and monoclonal antibodies that enhance mouse resistance to *Candida albicans* vaginal infection. *Infect. Immun.* 66, 5771–5776.
77. Casadevall, A. (1995). Antibody immunity and invasive fungal infections. *Infect Immun*, 63 (11): 4211-4218.
78. Shoham, S., Levitz, S. M. (2005). The immun response to fungal infections. *Br J Haematol*, 129: 569-582.
79. Newman, S. L., Holly, A. (2001). *Candida albicans* is phagocytosed, killed and processed for antigen presentation by human dendritic cells. *Infect Immun*, 69(11): 6813- 6822.
80. Kasımoğlu, Ö. (1986). *Candida* infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. Tümbay E. (ed.) *Candida* ve infeksiyonları. Türk Mikrobiyol Cem Yay. No 6. İzmir, Bilgehan basımevi, 61-64.
81. Ener, B. (2008). *Candida* infeksiyonlarında epidemiyoloji ve laboratuvar tanı. *Ankem Dergisi*; 22(2): 264-269.
82. Arıkan, S. (2003). Mantar enfeksiyonlarında tanı yöntemleri. Ed: Günalp A, Yılmaz YA, Pınar A. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvar eğitim kitabı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 139-164.
83. Hazen, K. C., Howell, S. A. (2007). *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance, In: Murray PR, Baron EJ, Landry ML, Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. ASM Press, Washington DC. pp: 1762–17886.

84. Arslan, U. (2003). Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virülans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. Uzmanlık tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Konya.
85. Rosenthal, V.D., Guzmán, S., Crnich, C. (2004). Device-Associated Nosocomial Infection Rates In Intensive Care Units Of Argentina. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 25:251-255.
86. Andrei, A., Zervos, M.J. (2006). The Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. *Arch Pathol Lab Med*; 130: 662-668.
87. Inan, D., Saba, R., Gunseren, F., Ongut, G., Turhan, O., Yalcin, A. N., Mamikoglu, L. (2005). Daily antibiotic cost of nosocomial infections in a Turkish University hospital. *BMC Infectious Diseases*, 5:5-3.
88. Khan, M. M., Celik, Y. (2001). Cost of Nosocomial İnfection in Turkey: An Estimate Based on the University Hospital Data. *Health Serv Manage Res.*; 14 (1): 49-54.
89. Meriç, M., Wilke, A., Çağlayan, Ç., Toker, K. (2005). İntensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish University Hospital. *Jpn. J. Infect Dis*; 58: 297-302.
90. Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S., Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. (2004). Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*; 39: 309-317.
91. Otağ, F., Aslan, G., Şen, S., Özturhan, H., Emekdaş, G. (2005). 2003-2005 süresinde klinik örneklerden izole edilen maya türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*; 19(4): 435-443.
92. Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S., Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. (2004). Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*; 39: 309-317.
93. Marchetti, O., Bille, J., Fluckiger, U., Eggimann P, Ruef C, Garbino J, Calandra T, Glauser MP, Tauber MG, Pittet D, Fungal infection Network of Switzerland. (2004). Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: Secular trends, 1991–2000. *Clin Infect Dis*; 38: 311-320.

94. Gudlaugsson, O., Gillespie, S., Lee, K., Vande Berg J, Hu J, Messer S, Herwaldt L, Pfaller M, Diekema D. (2003). Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis*; 37: 1172–1177.
95. Charles, P. E., Doise, J. M., Quenot, J. P., Aube H, Dalle F, Chavanet P, Milesi N, Aho LS, Portier H, Blettery B. (2003). Candidemia in critically ill patients: Difference of outcome between medical and surgical patients. *Intensive Care Med*; 29: 2162–2169.
96. Nolla-Salas, J., Sitges-Serra, A., Leon-Gil, C., Martínez-González J, León-Regidor MA, Ibáñez-Lucía P, Torres-Rodríguez JM. (1997). Candidemia in non-neutropenic critically ill patients: Analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy. Study Group of Fungal Infection in the ICU. *Intensive Care Med*; 23:23–30.
97. Leleu, G., Aegerter, P., Guidet, B. (2002). Systemic candidiasis in intensive care units: A multicenter, matched-cohort study. *J Crit Care*; 17: 168–175.
98. Almirante, B., Rodriguez, D., Park, B. J. Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, Mensa J, Sanchez F, Ayats J, Gimenez M, Saballs P, Fridkin SK, Morgan J, Rodriguez-Tudela JL, Warnock DW, Pahissa A; Barcelona Candidemia Project Study Group. et al. (2005). Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: Results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol*; 43: 1829-1835.
99. Parkins, M. D., Sabuda, D. M., Elsayed, S., Laupland KB. (2007). Adequacy of empirical antifungal therapy and effect on outcome among patients with invasive *Candida* species infections. *J Antimicrob Chemother*; 60:613–618.
100. Gonzalez, G. M., Elizondo, M. & Ayala, J. (2008). Trends in species distribution and susceptibility of bloodstream isolates of *Candida* collected in Monterrey, Mexico, to seven antifungal agents: results of a 3-year (2004 to 2007) surveillance study. *J Clin Microbiol* 46: 2902–2905.
101. Malani, P. N., Bradley, S. F., Little, R. S., Kauffman, C. A. (2001). Trends in species causing fungaemia in a tertiary care medical centre over 12 years. *Mycoses*;44:446-449.
102. Bukhary, Z. A. (2008). Candiduria: A Review of Clinical Significance and management. *Saudi Diseases And Transplantation*.19 (3), 350-360.

103. Kobayashi, C. C., de Fernandes, O. F., Miranda, K. C., de Sousa, E. D., Silva Mdo, R. (2004). *Mycopathologia*.158(1): 49-52.
104. Kauffman, C. A., Vazquez, J. A., Sobel, J. D. Gallis HA, McKinsey DS, Karchmer AW, Sugar AM, Sharkey PK, Wise GJ, Mangi R, Mosher A, Lee JY, Dismukes WE. (2000). Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 30: 14–18.
105. Guler, S., Ural, O., Findik, D., Arslan, U. (2006). Risk factors for nosocomial candiduria. *Saudi Med J*. 27 (11), 1706-1710.
106. Ghahri, M., Farasat, A., Mirhendi, H. and Beiraghi, S. (2012). Identification of *Candida* Species Screened from Catheter Using Patients with PCR-RFLP Method. *Euro J Exp Bio.*, 2(3):651-656.
107. Comert, F., Kulah, C., Aktas, E., Eroglu, O., Ozlu, N. (2006). Identification of *Candida* species isolated from patients in intensive care unit and *in vitro* susceptibility to fluconazole for a 3-year period. *Mycoses*; 50:52-57.
108. Cuenca-Estrella, M., Rodriguez, D., Almirante, B., Morgan, J., Planes, A. M., Almela, M., Mensa J, Sanchez F, Ayats J, Gimenez M, Salvado M, Warnock DW, Pahissa A, Rodriguez-Tuleda JL, Fridkin S, Hajjeh R, Park B, Reverter FM, Soler M, Saballs P, Gener A, Fontanals D, Xercavins M, Falgueras L, Ramon M, Torroella MT, Alonso C, Sierra M, Martinez-Montauti J, Morera MA, Otero J. (2005). *In vitro* susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. *J Antimicrob Chemother*; 55: 194-199.
109. Messer, S. A., Jones, R. N., Fritsche, T. R. (2006). International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2003). *J Clin Microbiol*; 44(5): 1782-1787.
110. Şahin, E., Ersöz, G., Otağ, F., Kandemir, Ö., Tiftik, N., Kaya, A., Yalçın A. (2006). Hematolojik maligniteli nötropenik ateşli hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*; 20(2):121-124.
111. Leroy, O., Gangneux, J. P., Montravers, P., Mira, J. P., Gouin, F., Sollet, J. P., Carlet, J., Reynes, J., Rosenheim, M., Regnier, B., Lortholary, O. (2005-2006). AmarCand Study Group., *Epidemiology, management, and risk factors*

for death of invasive *Candida* infections in critical care: A multicenter, prospective, observational study in France.

112. Arslan, U., Uysal, E. B., Işık, F., Tuncer, İ., Fındık, D. (2006). 2002-2005 yılları arasında kan örneklerinden soyutlanan *Candida* türleri. *İnfeksiyon Dergisi*; 20(3): 177-181.
113. Agodil, A., Zarrilli, R., Barchitta, M., Anzaldi, A., Di Popolo, A., Mattaliano, A., Ghiraldi, E., Travali, S. (2006). Alert surveillance of intensive care unit-acquired *Acinetobacter* infections in a Sicilian hospital, *Clin Microbiol Infect*; 12: 241-247.
114. Singh, A., Goering, R. V., Simjee, S., Foley, S. L., Zervos, M. J. (2006). Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3): 512–530.
115. Saraçlı MA. *Candida* İnfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısında Moleküler ve Genetik Tanı Yöntemleri, s: 133-44. Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y (ed), *Candida* Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Kitabı. TMC Yayını No: 43. 21-22 Haziran 2002, Eskişehir.
116. Rademaker, J. L. W., Savelkoul, P. (2004). PCR amplification-based microbial typing. In: Persing DH, Tenover FC, Versalovic J, Tang YW, Unger ER, Relman DA, White TJ (eds). *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*. Washington DC: ASM Press: 197-221.
117. Bou, G., Cervero, G., Dominguez, M. A., Quereda, C., Martinez-Beltran, J. (2000). PCR based DNA finger printing (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*; 6:635-643.
118. Gültekin, A. (2009). Sistemik Kandidoz Şüpheli Hasta Örneklerinden *Candida* türlerinin izolasyonu, Tanımlanması ve Genotiplendirilmesi. 2009, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Gaziantep’te doğdu. 2009 -2013 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesi Fen Bilimleri Öğretmenliği Bölümünde okudu. 2013 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans programına başladı.



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Kan Kültüründen İzole Edilen Candida Türü Mayaların Repetitive-PCR ile Klonal Dağılımlarının Belirlenmesi	
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		396	
KARAR BİLGİLERİ	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DiĞER:	<input type="checkbox"/>	
Karar No: 2014/396		Tarih: 15.12.2014	
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacı/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacı/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ	FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ercan SIVASLI	PEDİATRİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	PEDİATRİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Feridun İŞİK	GÖĞÜS CERRAHI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜROLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Bünyamin KISACIK	İÇ HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Yasemin ZER	MİKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	Ex <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN	DIŞ HEKİMLİĞİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Seval KUL	BIYOİSTATİSTİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Cahide Elif ORHAN	FARMAKOLOJİ	Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Eyüp ÇELİK	AVUKAT	Gaziantep Barosu	Ex <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Baha Günhan GÜNGÖRDÜ	İNŞ. MÜH (sivil Üye)	GASKİ	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	Hx <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.