

**T.C.**

**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE**

**KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KANDIDA EPİDEMİYOLOJİSİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Barış ÇİÇEK**

**SAMSUN – 2013**

**T.C.**

**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE**

**KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KANDIDA EPİDEMİYOLOJİSİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Barış ÇİÇEK**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Şaban ESEN**

**SAMSUN – 2013**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki deneyim, öneri ve katkılarını benimle paylaşmış olan değerli hocalarım Prof. Dr. Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Prof. Dr. Mustafa SÜNBL, Doç. Dr. Esra TANYEL ve Doç. Dr. Nuriye TAŞDELEN FİŞGIN' a, uzmanlık tezi çalışmamda ve uzmanlık eğitimim süresince desteğini eksik etmeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Şaban ESEN' e, mikoloji ile ilgili deneyim ve tecrübelerini bize aktaran saygıdeğer hocam Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ' ye, başımız her sıkıştığında yanımızda olan sevgili ablamız Yrd. Doç. Dr. Hava YILMAZ' a, istatistiksel analizi yapan sayın Prof. Dr. Tefik SUNTER' e, bu tezin gerçekleşmesinde emeği olan Uzm. Dr. Esmeray MUTLU YILMAZ' a, tezin her aşamasında yanımda olan ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum sevgili devre arkadaşlarım Dr. Hüseyin KÖROĞLU, Dr. Ahmet BÜYÜKYAZGAN ve Dr. Mahmut DÜLGER' e,

Birlikte son derece uyumlu ve saygılı bir şekilde çalışma imkanı bulduğum Enfeksiyon Hastalıkları Kliniğinin hemşire ve personeline, Enfeksiyon Kontrol Komitesi hemşirelerine, verileri toparlamamda bana yardımcı olan Biyolog Kevser EKENEL' e,

Ayrıca hayatımın her döneminde yanımda olan, benden maddi ve manevi anlamda hiçbir zaman desteğini esirgemeyen annem, babam, kardeşim ve eşime teşekkürlerimi sunarım.

## **İÇİNDEKİLER**

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	iv
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1.GİRİŞ VE AMAÇ	5
2.GENEL BİLGİLER	6
2.1 Kandidaların Genel Özellikleri	6
2.2 Epidemiyoloji	7
2.3 Kandida Enfeksiyonlarının Önemi	9
3.MATERYAL VE METOT	12
4.BULGULAR	13
5.TARTIŞMA	19
6.SONUÇ	23
7.KAYNAKLAR	24

## **KISALTMALAR**

**Flu:**Flukonazol

**AmB:**Amfoterisin B

**CLSI:**Clinical and Laboratory Standarts Institute

**MİK:**Minimum İnhibitör Konsantrasyon

**TPN:**Total Parenteral Nutrisyon

**SVK:**Santral Venöz Kateter

**SDA:**Saboraud Dekstroz Agar

**YBÜ:** Yoğun Bakım Ünitesi

**AML:**Akut Myeloid Lösemi

**MDS:**Myelodisplastik Sendrom

## **TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1:** Kandida skoru

**Tablo 2:** Kültürde üreyen kandida türlerinin dağılımı

**Tablo 3:** Vücut sıvılarında üreyen mantarların dağılımı

**Tablo 4:** İzole edilen mantarların klinik örneklerle göre dağılımı

**Tablo 5:** Üreyen kandida türlerinin bölümlere göre dağılımı

**Tablo 6:** İzole edilen mantarların tür düzeyinde yıllara göre dağılımı

**Tablo 7:** Kandidaların yıllara göre dağılımı

**Tablo 8:** Flukonazol için yıllara ait duyarlılık paternleri

**Tablo 9:** Yıllara göre Flukonazol ve Amfoterisin MİK değerleri ortalamaları

## ÖZET

**GİRİŞ:** Mantar enfeksiyonlarının insidansı son yıllarda artış göstermektedir. Bu enfeksiyonlardaki sıklığın artmasıyla birlikte antifungallerin yaygın kullanımı dolayısıyla da antifungal direnç karşımıza önemli bir sorun olarak çıkmaktadır. Direnç için uygun testlerin yapılması, bu sayede kandida türlerinin ve duyarlılık paternlerinin tespit edilerek hızlı tanımlama ve duyarlılık sonuçları sayesinde tedavide kullanılacak ampirik ajanların planlanması önem arz etmektedir.

**AMAÇ:** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi 'nde 1 Ocak 2009 ve 1 Temmuz 2012 tarihleri arasında yatan ve alınan kültürlerde kandida üremesi saptanan çocuk ve erişkin hastalardaki kandidaların epidemiyolojisindeki ve üreyen kandidalardaki Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarındaki ( MIK ) değişikliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**ARAÇLAR VE YÖNTEM:** Çalışmamız retrospektif olarak mikoloji birimindeki kayıtlar esas alınarak ve hastanede kullanılan mevcut otomasyon sistemiyle karşılaştırmalı kontrol edilerek yapıldı. 1 Ocak 2009 ve 1 Temmuz 2012 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatan ve alınan kültürlerde kandida üremesi saptanan çocuk ve erişkin hastalar dahil edildi. Hastalardan alınan üreme sonuçları, yaş, cinsiyet, yattığı servis, flukonazol ve amfoterisin B ( AmB ) minimum inhibitör konsantrasyonları ( MIK ) bilgisayar ortamında kaydedildi. Aynı hastadan olan tekrarlayan üremeler çalışmaya alınmadı. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Windows ortamında IBM SPSS 20.0 istatistiksel paket programı kullanıldı. İstatistiksel hesaplamalar için Ki-kare testi, Friedman varyans analizi, Bonferroni düzeltilmeli Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testleri kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

**BULGULAR:** 1 Ocak 2009 ve 1 Temmuz 2012 tarihleri arasında hastane kayıtlarından 1238 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş ortalamaları  $49.95 \pm 26.71$  olarak hesaplandı. Klinik örneklerden izole edilen kandida suşları arasında en sık saptanan tür % 51.1 (632) ile *Candida albicans* oldu. *Candida albicans*'tan sonra en sık izole edilen tür % 15.8(195) ile *Candida tropicalis*'ti. İdrarda en çok tespit edilen tür *Candida albicans* iken ( 440, % 53 ) bunu sırasıyla *Candida tropicalis* ( 144, % 17 ) ve *Candida parapsilosis* ( 55, % 7 ) izledi. Kan izolatlarında ise *Candida albicans* % 46 ( 146) ile ilk sırada yer alırken sırasıyla *Candida parapsilosis* % 26 ( 81 ) ve *Candida tropicalis* % 13 ( 41 ) diğer türler olarak tespit edildi. En sık mantar izole edilen örnekler idrar ( 829 izolat, % 67 ) ve kan ( 315 izolat, % 25.4 ) örnekleri oldu.

Yıllara göre kandidaların dağılımına bakıldığında son dört yılın toplam verilerinde albikans oranı % 51.1 ( 632 ) , non-albikans oranı ise % 48.9 (606) olarak hesaplanmıştır. Bu veriler ışığında yıllar arası bir karşılaştırma yapılmış olup iki grup arasında belirtilen süre içerisinde mantar dağılımı açısından farklılık saptanmamıştır (  $\chi^2$  : 3.2 , sd: 1, p:0.073 ).

2009 ve 2011 yılları içerisinde Flukonazole dirençli kandida tespit edilmemiştir. 2010-2012 ile 2011-2012 yılları arasında Flukonazol MIK düzeylerinde farklılıklar saptandı. 2012 yılı MIK değerlerinde, 2010 ve 2011 yıllarına göre geometrik ortalama artış tespit edildi (p< 0.01).

Amfoterisin B için yapılan değerlendirmede ise *Candida lusitaniae* ( intrinsik dirençli ) türü dışında ilgili antifungale direncin saptanmadığı tespit edildi. Çalışmamızda yıllar arasında Amfoterisin MIK değeri düzeyinde anlamlı farklılık saptanmadı ( p> 0.05).

**SONUÇ:** Duyarlılık sonuçları dikkate alındığında Flukonazolün halen ilk basamakta kullanılabilir bir seçenek olduğu görülmektedir. Her ne kadar ilk seçenek antifungal olma özelliğini koruyor olsa da tür düzeyinde tanımlanan mantarların mutlaka antifungal duyarlılık testlerinin yapılması klinisyene tedaviyi planlaması ve sürdürmesi açısından yardımcı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Kandida, antifungal duyarlılık, epidemiyoloji

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The incidence of fungal infections has increased in recent years. Antifungal resistance is seen as a major problem due to the widespread use of antifungal agents in infections with increasing frequency. To identify the candida species and susceptibility patterns with performing the appropriate tests for resistance and to select the empirical agents used for treatment are important.

**OBJECTIVE:** The evaluation the changes of epidemiology of candida and Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) in the cultures with growth of candida in pediatric and adult patients in Medicine Faculty of 19 Mayıs University between the dates of 1 January 2009 and 1 July 2012 is aimed.

**MATERIALS AND METHODS:** Our study is made retrospectively based on records in the micology unit and hospital after checking comparatively with automation system. In Medicine Faculty of 19 Mayıs University between the dates of 1 January 2009 and 1 July 2012, the pediatric and adult inpatients and outpatients which had the cultures with growth of candida were included to the study. The reproductive outcomes, age, sex, hospitalized service, the minimum inhibitory concentrations (MIC) of fluconazole and amphotericin B (AmB) were recorded on computer. The recurrent reproductions in the same patient were excluded from the study. IBM SPSS 20.0 statistical package program in Windows was used for statistical analysis. Chi-square test, Friedman variant analysis, Bonferroni-corrected Wilcoxon signed-rank two sample tests were used for statistical calculations. The value of  $p < 0.05$  in the statistical analysis was considered significant.

**RESULTS:** 1238 patients were included to the study between 1 January 2009 and 1 July 2012. The mean age of patients was  $49.95 \pm 26.71$ . The most common type of candida strains isolated from clinical samples was *Candida albicans* with %51.1 (632). The most common isolated species after *Candida albicans* was *Candida tropicalis* with %15.8 (195). The most common species isolated from urine were *Candida albicans* (440, %53), *Candida tropicalis* (144, %17) and *Candida parapsilosis* (55, %7) respectively. In the blood isolates, *Candida albicans* took first place with rate of %46 (146); *Candida parapsilosis* (%26, 81), *Candida tropicalis* (%13, 41) and other species followed respectively. The most fungus isolated samples were urine (829 isolates, %67) and blood (315 isolates, %25.4) respectively.

When the distribution of candida species was analyzed in the records of recent four years according to years, the rate of albicans and non-albicans was found as %51.1 (632) and %48.9 (606) respectively. Based on these data, a comparison which made between the years and between the two groups did not differ in terms of the distribution of fungi within the specified time ( $\chi^2$ : 03.02, df: 1, p: 0.073). Fluconazole-resistant Candida has not been found in the years of 2009 and 2011. The differences of MIC levels in fluconazole were found between the years of 2011-2012. The increase in the geometric average of MIC values of 2012 was determined between 2010 and 2011 ( $p < 0.01$ ). There was no resistance to amphotericin B. There was no significant difference in the level of amphotericin MIC values ( $p > 0.05$ ) between years.

**CONCLUSION:** According to the sensitivity of the results, fluconazole is still seen as an option can be used for the first step. Although it remains as the first choice for antifungal, analysis of identified antifungal susceptibility will help for treatment planning and continuation .

**Keywords:** Candida, antifungal susceptibility, epidemiology

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere paralel olarak son yıllarda mantar enfeksiyonlarının insidansında artış gözlenmektedir. İmmün sistemi baskılanan hastalarda konak savunmasında oluşan önemli değişiklikler enfeksiyonlara duyarlılığı artırırken, hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik invazif tıbbi girişimler, hastane enfeksiyonlarının gelişmesini kolaylaştırmaktadır. Bununla ilişkili olarak fırsatçı mantar enfeksiyonu gelişimi yönünden risk grubuna giren hasta sayısı giderek artmaktadır (Fridkin SK, Jarvis WR , 1996).

Mantar enfeksiyonunun sıklığının ve buna bağlı mortalite ve morbidite oranlarının yükselmesi, ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşmasına, dirençli mantar suşlarının ortaya çıkmasına ve direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle uygun ve etkin antifungal tedavinin seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine gereksinim artmaktadır (Espinel-Ingroff A, White T 2003).

Çalışmamızda, hastanemizde son dört yılda gelişen kandida türlerine bağlı enfeksiyonlarda izole edilen kandida izolatlarının tiplendirilmesi ve üreyen kandida türlerinin hastanemizdeki klinik birimlerle olan ilişkisinin araştırılması amaçlandı. Ayrıca MIK ( Minimum İnhibitör Konsantrasyon) değerinin çalışılabildiği antifungal ajanlar olan flukonazol ve amfoterisine duyarlılıklarındaki değişikliklerin araştırılması; bu sayede kandida türlerinin ve duyarlılık paternlerinin tespit edilerek hızlı tanımlama ve duyarlılık sonuçları sayesinde tedavide kullanılacak ampirik ajanların planlanması ve hastane enfeksiyonlarının kontrolüne yönelik stratejilere veri sağlayarak fungal enfeksiyonlara bağlı mortalite ve morbiditenin azaltılması amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 Kandidaların genel özellikleri

*Candida* ismi aslında 1923 yılında Berkhout tarafından Monilia adından ayrı bir cins olarak tanımlandıysa da bu ismin resmîyet kazanması 1954' teki 8. Botanik Kongresi'nde kabul görmüştür ( De Hoog, 2000 ). *Candida* cinsi yaklaşık 200 tür içermektedir, bu türlerin 20' sinin insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara yol açtığı gösterilmiştir ( Meyer S.A, 1998 ).

*Candida* türleri insan deri ve mukozasının normal flora üyesidir. Mikroskop altında oval ve yuvarlak tomurcuklanan hücreler şeklinde görülürler. Kandidalar yalancı hif ( psödohif ) oluşturma özelliğine sahipken bu grubun üyesi olan *Candida albicans* hem yalancı hif hem de gerçek hif oluşturarak dimorfik özellik göstermektedir ( Fromtling ve ark., 2003 ).

*Candida* cinsi içindeki mayaların mikroskopik ve makroskopik özellikleri farklılık göstermez. Hepsî Saboraaud Dekstroz Agar' da ( SDA ) 37 ° C' de 2 -3 mm çapında, beyaz veya krem renginde düzgün yüzeyle veya göbekli mat ya da parlak koloniler oluştururlar ( Willke A, 2012).

İnsan vücudunda başta gastrointestinal sistem, orofarenks, vajen ve deri olmak üzere çeşitli bölgelerden *Candida* türleri izole edilebilir. Bu izolatların başında ise *Candida albicans* türü gelmektedir ( Shao ve ark., 2007 ). İzole edilen *Candida albicans* oranlarının kişilere göre farklılığında, yemek alışkanlıkları ve yaş gibi kişisel özellikler etkilidir. Odds' un bir araştırmasına göre ağız boşluğundan izole edilen *Candida albicans* oranı % 1.9 – 41.4 arasında değişmektedir. Gastrointestinal sistem için bu oran % 0 – 55 ve vajen için % 2.2 – 68 arasındadır. *Candida albicans*' ı sıklık açısından izleyen *Candida tropicalis* en fazla orofarenksten, *Candida glabrata* ise vajenden izole edilir. Hastanede yatan hastalarda ise kolonizasyonun, sağlıklı insanlara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir ( Willke A, 2012 ).

*Candida* enfeksiyonlarını arttıran sebepler arasında total parenteral nutrisyon ( TPN ) , intravenöz kateterler, invazif girişimler, sitotoksik kemoterapötik kullanımı, transplantasyon ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gösterilmiştir ( Ortega ve ark., 2011 ).

Dünya genelinde, mayalarda artan antifungal ilaç direnci sebebiyle klinisyenlerin uygun tedavi seçeneğini belirlemesi için in vitro laboratuvar testlerinin önemi artmaktadır ( Ingham ve ark., 2012). Ayrıca biyofilm oluşturma yeteneği sayesinde kandidalar, hem ilaçlara direnç

kazanabilmekte hem de konak savunma mekanizmalarına karşı korunabilmektedirler ( Rajendran ve ark., 2010).

## 2.2 Epidemiyoloji

Birçok kandida türü kommensal ve kolonize şekilde insan derisi ve mukozal yüzeylerde bulunmaktadır. Kandidalar doğumdan hemen sonra ağız, boğaz, barsaklar ve genito-üriner bölgeye kolonize olur ( Jarwis W. 1996 ). Endojen floranın değişimi sonucu kandida türleri cilt ve mukozalarda çoğalmaya başlar ( Samonis ve ark., 1994 ). Kolonizasyon kandidiyaz gelişimi için gereklidir ( Fidel, 2006 ).

Kritik hastalar ve immünkompromize kişiler yüzeysel ve hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonların gelişimine daha duyarlıdır. Özellikle Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendrom'lu hastalarda majör fungal etkenleri kandidalar oluşturmaktadır ; bu hastalarda, malnütrisyon ve yutma güçlüğüne yol açan orofarengeal kandidiyaz sık görülmektedir ( Fidel, 2006; Hasan ve ark., 2009 ).

Yapılan çalışmalar non-albicans kandida sıklığının zaman içerisinde arttığını gösterse de *Candida albicans* halen örneklerden izole edilen en sık ajan olma özelliğini korumaktadır (Horn ve ark., 2009 ). *Candida albicans* maya-hif dönüşümü göstermesi ve bazı hidrolitik enzimleri üretmesi nedeniyle virülansı en yüksek türdür. Bu türün, serotip A ve B olmak üzere iki formu bulunmaktadır; çoğalma hızı ortama göre değişmekle birlikte bir saatten daha kısa bir sürede olduğu bilinmektedir. Bu türde flukonazol direnci oldukça nadir görülmektedir (Willke A,2012 ).

*Candida dubliniensis* filogenetik açıdan *Candida albicans* ile yakın akrabadır ve son yıllarda tanımlanmıştır. Ayrımı sağlayan başlıca özellik ise bu türün 45 ° C' de üreyememesi ya da çok zayıf üremesi ve beta-glukosidaz aktivitesinden yoksun olmasıdır ( Tintelnot K ve ark., 2000). Bu tür genellikle in vitro ve in vivo koşullarda flukonazole hızla direnç geliştirdiğinden tanımlanması önemlidir ( Tintelnot K ve ark., 2000 ).

*Candida glabrata* ağız boşluğundan ve takma diş stomatitli olgulardan en fazla izole edilen türdür ve flukonazole karşı direnç eğilimi göstermektedir ( Mario Cruciani & Giovanni Serpelloni , 2008 ).

*Candida guilliermondii* yüzme havuzu, toprak, deniz suyu gibi çeşitli çevrelerden ve kurbağa ile kuşlardan izole edilmiştir. Damar içi madde bağımlılığı olanlarda endokardit etkeni olarak

saptandığı bildirilmiştir ( Willke A, 2012 ). İnvazif kandidiyaz etkenleri arasında nadiren yer alır (M. A. Pfaller ve ark., 2006 ).

*Candida kefyr* prevelans açısından tıbbi öneme sahip mantarlar arasında son sıralarda yer alsa da zaman zaman üriner sistem, akciğer enfeksiyonları ve gastrointestinal enfeksiyonlara yol açabilmektedir ( Willke A, 2012 ).

*Candida krusei* kan ve kemik iliği transplantasyonu yapılacak olan hastalarda önemli enfektif bir patojendir. Çok çeşitli kaynaklardan izole edilebilir, flukonazole intrinsik dirençli olması önemini bir kat daha artırmıştır ( M. A. Pfaller, 2007 ).

*Candida parapsilosis* endoftalmit, endokardit, septik artrit, peritonit ve fungemiye de içeren enfeksiyon tablosuna yol açan önemli bir patojendir. Genellikle invazif girişimler ve prostetik aletler ile ilişkilidir ( Canton ve ark., 2011; J. John Weems Jr, 1992 ). Bu mayanın, yüksek konsantrasyonda glukoz içeren çözeltilerde ve protezlerde kontaminant olarak varlığı dikkat çekmektedir. Kateter uçlarında biyofilm oluşturma özelliği sayesinde parenteral beslenen hastalardan izolasyon sıklığı yüksektir ( Canton ve ark., 2011; Willke A, 2012 ).

*Candida tropicalis*, *Candida albicans*'dan sonra en sık karşılaşılan fırsatçı patojendir. Flukonazol duyarlılığı diğer türlere göre daha yüksek saptanmıştır (Mario Cruciani & Giovanni Serpelloni , 2008 ). Bu türde görülen kandidemilerde risk faktörü olarak hastaların nötropenik ya da kanser olduğu ( özellikle lösemi ) çalışmalarda gösterilmiştir ( Colombo ve ark., 2007 ).

*Candida lusitanae* son yıllarda önem kazanan bir türdür, kandidemilerin % 1-2' sinden sorumlu olan bu tür azollere duyarlı olmakla birlikte Amfoterisin B ( AmB )' ye intrinsik dirençlidir (Mario Cruciani & Giovanni Serpelloni , 2008 ). Bağışıklık sistemi çökmüş hastalarda sistemik kandidiyaza yol açmakta ve vücut sıvılarından izole edilmektedir ( Willke A, 2012 ).

Tıbbi öneme sahip bu türlerin dışında birçok non-albicans kandida türü daha örneklerden izole edilmektedir. Bunlar arasında diabetik hastaların oral kavitesinde saptanan *Candida rugosa* ( Pires - Gonçaves ve ark., 2007 ), virülansı düşük ama yabancı cisim varlığında fungemiye yol açan ve sağlıklı bireylerden de izole edilebilen *Candida lipolytica* ( D'Antonio ve ark., 2002 ), *Candida pulcherrima* ,*Candida famata*, *Candida pelliculosa* ve ilk kez bir

böbrek nakil hastasının periton sıvısından üretilen *Candida norvegensis* ( Sandven ve ark., 1997) yer almaktadır.

### **2.3 Kandida Enfeksiyonlarının Önemi**

Mantarlar son yıllarda önem kazanmaya başlayan mikroorganizmalardır. Doğada çok sayıda mantar türü bulunmasına rağmen insanda çok az bir kısmı hastalık oluşturma yeteneğine sahiptirler ( De Hoog, 2000 ). Bununla birlikte, maligniteli hastalara uygulanan yoğun kemoterapötik yaklaşımlar, yoğun bakım hastalarına uygulanan ileri yaşam destekleri ve organ nakillerindeki başarılar hastaların yaşam sürelerini uzatmakta ve mantar enfeksiyonları açısından risk altında olan bu hastaların örneklerinde, farklı türlerle de karşılaşılabilir. Bu nedenle, hasta örneklerinde üreyen her tür mantarın tanımlanması gerekir. Ancak mantarların tanımlanmasında morfolojik özelliklerin ön planda olması, mikoloji ile uğraşacak kişilerde deneyimi gerektirir ( Fromtling ve ark., 2003 ).

Artan tanı ve tedavi amaçlı invazif girişimlerin, gelişen cerrahi tekniklerin, bağışıklığı baskılanan hasta sayısının artışına paralel olarak hastane kökenli enfeksiyon sorunlarını da arttığı bilinen bir gerçektir. Özellikle büyük cerrahi girişimlerin yapıldığı, organ transplantasyonu ve kanser tedavilerinin yoğun olarak uygulandığı üçüncü basamak hastanelerle, büyük yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'ne sahip hastanelerde bu enfeksiyonlar önemli problemler arasında yer almaktadır. Bu tarz girişimler ve yoğun bakım ihtiyacı uzayan hastalarda özellikle de kemoterapi ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı da olmakta ve bu da mantarların enfeksiyonuna zemin hazırlamaktadır ( Bamçag Mantar Simpozyumu, 2011; Richardson and Lass-Flörl, 2008 ).

Kandidalar mukozal kolonizasyondan çoklu organ tutulumuna kadar çok geniş bir yelpazede yer alan enfeksiyonlara yol açabilir. Bunlar arasında en önemli bölümü kandidemiler oluşturmaktadır( Willke A, 2012 ). Bunun dışında kandidalar tüm sistemlerde enfeksiyon oluşturabilirler. Gastrointestinal sistemde özefajit ve diyare, merkezi sinir sisteminde menenjit ve beyin apsisi; kateter enfeksiyonu, endokardit, osteomyelit, endoftalmit gibi enfeksiyonlardan izole edilebilirler. Kandida türlerinin yabancı cisimlere slime faktörü aracılığı ile tutunması sonucunda hem sürekli bir enfeksiyon odağı gibi rol oynaması hem de vücudun savunma mekanizmalarından ve antifungal tedavinin etkisinden kurtulabilmesi nosokomial mantar enfeksiyonları açısından önemli bir durumdur ( Pittet ve ark., 1997 ; Pascual, 2002 ).

Nosokomiyal mantar enfeksiyonları sıklıkla ağır seyirli, hızlı ilerleyen, tanısı zor ve tedaviye dirençli hastalıklar olduklarından ciddi morbidite ve mortalite nedenidir ( Arslan ve ark., 2006). Özellikle kandidemi başta olmak üzere invazif mantar enfeksiyonları, hastanın hastanede kalış süresini uzatarak yüksek maliyete neden olmaktadır. Ayrıca kandidemiler yüksek mortalite oranlarına da yol açmaktadır ( Ortega ve ark., 2011; Olaechea ve ark., 2004).

Kandida enfeksiyonlarında, santral venöz kateter (SVK) varlığı, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, hastanede uzun süreli yatış ve total parenteral nutrisyon (TPN) genel olarak en sık bildirilen risk faktörleridir ( Toya ve ark., 2007 ). Ayrıca, lipit içerikli TPN ve özellikle anaerobik etkinliği olan antibiyotikler ile vankomisin kullanımının kandidemiye artıran önemli risk faktörleri olduğu ileri sürülmüştür ( Nolla-Salas ve ark., 1997 ).

Geçmiş yıllarda invazif kandida enfeksiyonlarının önemli bir kısmından *Candida albicans* sorumlu iken, son yıllarda albicans dışı türlerde artış olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir ( Clark T.A., 2012 ; Costa SF ve ark., 2000 ). Bu değişikliğe immünkompromize hastaların sayısında, invazif alet kullanımının sıklığında artışın ve özellikle yaygın flukonazol kullanımının neden olduğu ileri sürülmektedir ( Clark T.A., 2012 ). Azol türevi antifungallerin yoğun kullanımı *Candida albicans* türlerinde dirençli suşların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Ayrıca, intrinsik olarak azollere daha az duyarlı (*Candida glabrata*) veya dirençli (*Candida krusei*) suşların seleksiyonu ortaya çıkmaktadır. ( Erturan, 2002 ).

Kolonizasyon dissemine kandidiyaz açısından önemli bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. Birden fazla vücut bölgesinde kolonize olan hastalarda % 32 ' lere varan dissemine kandidiyaz riski saptanırken aynı risk kolonize olmayan hastalarda % 0.5 olarak saptanmıştır (Martino P., 1989 ). Benzer bir çalışma retrospektif olarak yapılmış ve kolonizasyonun hematojen enfeksiyon ile ilgisi araştırılmıştır; buna göre birden fazla vücut bölgesinde kolonizasyon olan hastalarda % 22 oranında hematojen mantar enfeksiyonu tespit edilirken kolonize olmayan hastalarda ise enfeksiyon saptanmamıştır ( Martino P.,Girmenia C., 1994 ). Özellikle yenidoğanda *Candida parapsilosis* ile gastrointestinal sistem kolonizasyonu yüksek oranda olduğundan fungemi riski daha yüksek olmaktadır, bu da kolonizasyonun önemini bir kat daha artırmaktadır ( Dotis J ve ark., 2012) .

Enfeksiyon ve kolonizasyon arasındaki ilişki kolonizasyon indeksi ile belirlenebilir. Kolonizasyon indeksi; kolonize olan vücut bölge sayısının alınan örneklerle olan oranı olarak kabul edilmektedir. Bu indeksi yüksek olan hastalarda kandidiyazis gelişme riski daha yüksek bulunmuştur. Çalışmalarda kandida skoru arttıkça invazif kandidiyazis gelişme riskinin anlamlı olarak arttığı ve negatif ve pozitif prediktif değerinin ise sırasıyla % 100 ve % 23.8 olarak bulunduğu rapor edilmiştir ( Guillaume L., 2011 ). Lojistik regresyon analizinde bağımsız risk faktörleri; Sepsis, multifokal kandida kolonizasyonu, cerrahi öyküsü ve TPN kullanımı olarak belirlenmiş ve sınır değeri 2.5 ( % 81 duyarlı, %74 özgül ) olarak kabul edilmiştir. Buna göre Kandida skoru > 2.5 olan olgularda invazif kandidiyaz riski 7.75 kat daha fazla bulunmuştur (Leon C., 2006 ). Tablo 1 ' de kandida skoru hesaplanırken kullanılan parametreler puan değerleri ile birlikte gösterilmektedir.

**Tablo1** : Kandida skoru

<b>Parametreler</b>	<b>Puan</b>
Sepsis	2
Multifokal Kolonizasyon	1
Cerrahi Öyküsü	1
TPN kullanımı	1

Kandidemide erken tanı ve tedavi önemlidir. Uygun olmayan tanı ve tedavi mortalite ve morbiditeyi artırır, ciddi ekonomik kayıplara yol açar ( Gudlaugsson ve ark., 2003 ). Ancak erken tanı her zaman kolay olmaz. Bu nedenle çoğu kez altta yatan risk faktörleri ve klinik bulgular eşliğinde preemtif ve ampirik tedaviler planlanır. Bu yüzden tedavilerde çalışılan bölgedeki epidemiyolojik verilerin ve yıllar içindeki antifungal duyarlılık paternlerinin izlenmesi, uygun tedavinin başlanması için önem arz etmektedir.

### 3.MATERYAL VE METOD

Çalışmamıza 1 Ocak 2009 ve 1 Temmuz 2012 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatan ve alınan kültürlerde kandida üremesi saptanan çocuk ve erişkin hastalar dahil edildi. Hastalardan alınan üreme sonuçları, yaş, cinsiyet, yattığı servis, flukonazol ve amfoterisin B ( AmB ) minimum inhibitör konsantrasyonları ( MİK ) bilgisayar ortamında kaydedildi. Bu üremeler yıllara göre kendi içerisinde ayrı ayrı da kategorize edildi. Aynı hastadan olan tekrarlayan üremeler çalışmaya alınmadı. Çalışmaya başlamadan önce Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Flukonazol için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M27-A3 (CLSI, 2008; Ref. Method of dilution, Wayne PA) dokümanındaki gibi önerilen direnç sınır değerleri göz önüne alınarak direnç oranları saptandı ( $\leq 8 \mu\text{g/mL}$ :duyarlı, 8-32  $\mu\text{g/mL}$ : doza bağımlı duyarlı,  $\geq 64 \mu\text{g} / \text{mL}$ : dirençli). Amfoterisin B için MİK kırılma noktaları kesinlik kazanmamış olmasına rağmen, daha önceki çalışmalarda önerilen değerler göz önüne alınarak MİK  $\geq 2 \mu\text{g/mL}$  dirençli olarak kabul edildi.

Çalışma retrospektif olarak Mikoloji birimindeki kayıtlar esas alınarak ve hastanede kullanılan mevcut otomasyon sistemiyle karşılaştırmalı kontrol edilerek yapıldı. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Windows ortamında IBM SPSS 20.0 istatistiksel paket programı kullanıldı. İstatistiksel hesaplamalar için Ki-kare testi, Friedman varyans analizi, Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testleri kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

1 Ocak 2009 ve 1 Temmuz 2012 tarihleri arasında hastane kayıtlarından 1238 hasta çalışmaya dahil edildi. 2009 ve 2010 yılları için sırasıyla hasta sayıları 272 ( % 22 ) ve 387 ( % 31 ) iken 2011 ve 2012 için bu sayı 402 ( % 32 ) ve 177 ( % 14 ) olarak tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların 574' ü ( % 46.4 ) erkek hastalardı. Hastaların yaş ortalamaları  $49.95 \pm 26.71$  olarak hesaplandı.

Klinik örneklerden izole edilen kandida suşları arasında en sık saptanan tür % 51.1 (632) ile *Candida albicans* oldu. *Candida albicans*' tan sonra en sık izole edilen tür % 15.8(195) ile *Candida tropicalis*'ti. İzole edilen kandida suşlarının dağılımı Tablo 2'de gösterilmektedir.

**Tablo 2:** Kültürde üreyen kandida türlerinin dağılımı

Kandida Türleri	Sayı (n=1238)	Yüzde ( % )
<i>Candida albicans</i>	632	51,1
<i>Candida tropicalis</i>	195	15,8
<i>Candida parapsilosis</i>	148	12,0
<i>Candida kefyri</i>	113	9,1
<i>Candida glabrata</i>	67	5,3
<i>Candida krusei</i>	54	4,3
<i>Candida famata</i>	7	0,6
<i>Candida dubliniensis</i>	6	0,5
<i>Candida lusitanae</i>	6	0,5
<i>Candida sphaerica</i>	4	0,3
<i>Candida guilliermondii</i>	4	0,3
<i>Candida socki</i>	2	0,2

İdrarda en çok tespit edilen tür *Candida albicans* iken ( 440, % 53 ) bunu sırasıyla *Candida tropicalis* ( 144, % 17 ) ve *Candida parapsilosis* ( 55, % 7 ) izledi. Kan izolatlarında ise *Candida albicans* % 46 ( 146) ile ilk sırada yer alırken sırasıyla *Candida parapsilosis* % 26 ( 81 ) ve *Candida tropicalis* % 13 ( 41 ) diğer türler olarak tespit edildi. Tablo 3' te bu izolatların üredikleri vücut sıvılarına göre dağılımları gösterilmektedir.

**Tablo 3:** Vücut sıvılarında üreyen mantarların dağılımı

Örnek	Candida türleri											
	C. albicans	C. parapsilosis	C. tropicalis	C. glabrata	C. krusei	C. dubliniensis	C. kefir	C. famata	C. sake	C. lusitaniae	C. sphaerica	C. guilliermondii
Kan	146	81	41	18	12	1	10	1	0	3	0	2
İdrar	440	55	144	43	34	5	97	4	0	3	2	2
BOS	7	3	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Apse materyali	6	2	2	3	2	0	1	1	0	0	0	0
Asit mayi	11	2	3	1	2	0	3	0	1	0	0	0
Ameliyat materyali	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Eksuda	15	1	3	0	2	0	1	0	0	0	0	0
Diyalizat sıvısı	0	2	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0
Torasentez mayii	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
Kemik iliği	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ponksiyon	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Toplam</b>	<b>632</b>	<b>148</b>	<b>195</b>	<b>67</b>	<b>54</b>	<b>6</b>	<b>113</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

En sık mantar izole edilen örnekler idrar ( 829 izolat, % 67 ) ve kan ( 315 izolat, % 25.4 ) örnekleri oldu. Tablo 4' te klinik örneklerle göre izole edilen mantarların dağılımı gösterilmektedir.

**Tablo 4:** İzole edilen mantarların klinik örneklerle göre dağılımı

Örnek	Sayı ( n=1238 )	Yüzde ( % )
İdrar	829	67,0
Kan	315	25,4
Asit Mayi	23	1,9
Eksuda	22	1,7
Apse	17	1,3
Beyin Omurilik Sıvısı	12	1,0
Ameliyat Materyali	6	0,5
Diyalizat	6	0,5
Torasentez Mayi	4	0,3
Kemik İliği	2	0,2
Ponksiyon	2	0,2

Kandidaların en sık izole edildiği klinik % 18 (224) ile Genel Dahiliye olurken bunu sırasıyla Genel Pediatri % 11,6 (144) ve Üroloji % 9,6 (119) takip etti. Üreyen kandidaların bölümlere göre dağılımı Tablo 5’te gösterilmektedir.

**Tablo 5:** Üreyen kandida türlerinin bölümlere göre dağılımı

Bölüm	Sayı ( n = 1238 )	Yüzde ( % )
Genel Dahiliye	224	18,1
Genel Pediatri	144	11,6
Üroloji	119	9,6
Beyin Cerrahisi	107	8,6
Acil Servis	94	7,6
Göğüs Hastalıkları	91	7,4
Genel Cerrahi	76	6,1
Enfeksiyon Hastalıkları	60	4,8
Kardiyoloji	52	4,2
Onkoloji	45	3,6
Pediatri Yoğun Bakım	40	3,2
Erişkin Yoğun Bakım Ünitesi	38	3,1
Pediyatrik Cerrahi	26	2,1
Kadın Hastalıkları ve Doğum	23	1,9
Nöroloji	21	1,7
Hematoloji	16	1,3
Pediatri Acil Gözlem	13	1,1
Kulak Burun Boğaz	12	1,0
Göğüs Cerrahi	10	0,8
Dermatoloji	6	0,5
Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	6	0,5
Kardiyovasküler Cerrahi	5	0,4
Ortopedi ve Travmatoloji	5	0,4
Plastik Cerrahi	4	0,3
Psikiyatri	1	0,1

Hastanemizde izole edilen kandida türlerinin yıllara göre dağılımı incelendiğinde *Candida albicans* ‘ın tüm dönemlerde ilk sırada izole edilen mantar türü olduğu görülmektedir. *Candida tropicalis* ve *Candida parapsilosis* ise non-albicans kandidalar içerisinde en sık üreyen mantar türleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Tablo 6 ‘da her yıl için, üreyen mantarların tür düzeyinde dağılımı gösterilmektedir.

**Tablo 6:** İzole edilen mantarların tür düzeyinde yıllara göre dağılımı

Tipi	2009		2010		2011		2012*	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>C.albicans</i>	132	48.5	182	47.0	226	56.2	92	52.0
<i>C.parapsilosis</i>	31	11.4	45	11.6	46	11.4	26	14.7
<i>C.tropicalis</i>	47	17.3	71	18.3	44	10.9	33	18.6
<i>C.glabrata</i>	17	6.3	28	7.2	18	4.5	4	2.3
<i>C.krusei</i>	11	4.0	15	3.9	21	5.2	7	4.0
<i>C.dublinensis</i>	3	1.1	2	0.5	0	0.0	1	0.6
<i>C.kefyr</i>	24	8.8	36	9.3	39	9.7	14	7.8
<i>C.famata</i>	2	0.7	3	0.9	2	0.5	0	0.0
<i>C.soke</i>	2	0.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>C.lusitaniae</i>	1	0.5	2	0.5	3	0.8	0	0.0
<i>C.sphaerica</i>	2	0.7	1	0.3	1	0.3	0	0.0
<i>C.guillermoidii</i>	0	0.0	2	0.5	2	0.5	0	0.0
<b>Toplam</b>	<b>272</b>	<b>100</b>	<b>387</b>	<b>100</b>	<b>402</b>	<b>100</b>	<b>177</b>	<b>100</b>

\*2012 ilk altı aylık dönem

Yıllara göre kandidaların dağılımına bakıldığında son dört yılın toplam verilerinde albicans oranı % 51.1 ( 632 ) , non-albicans oranı ise % 48.9 (606) olarak hesaplanmıştır. Bu veriler ışığında yıllar arası bir karşılaştırma yapılmış olup iki grup arasında belirtilen süre içerisinde mantar dağılımı açısından farklılık saptanmamıştır (  $\chi^2 : 3.2$  , sd: 1, p:0.073 ). Albicans türü halen tüm mantarlar içerisinde ilk sırada olma özelliğini korumaktadır. Tablo 7 ‘ de albicans-non-albicans türlerinin yıllara göre dağılımı gösterilmektedir.

**Tablo 7:** Kandidaların yıllara göre dağılımı

Dağılım		C. albicans	Non-albicans	
Yıl	2009	Sayı	132	140
		%	48,5	51,5
	2010	Sayı	182	205
		%	47,0	53,0
	2011	Sayı	226	176
		%	56,2	43,8
	2012	Sayı	92	85
		%	52,0	48,0
Toplam	Sayı	<b>632</b>	<b>606</b>	
	%	51,1	48,9	

Veriler göz önüne alındığında özellikle pediatri yoğun bakımda *Candida parapsilosis*' in % 42(17) ile ilk sırada yer aldığı görülmektedir, toplamda en fazla görülen *Candida albicans* ise % 32 (13) ile ikinci sırada karşımıza çıkmaktadır. Erişkin yoğun bakımda ise bu iki tür yine ilk iki sırayı almakta; ancak *Candida albicans* % 34 (13) ile ilk sırada iken *Candida parapsilosis* % 31 (12) ile ikinci sırada yer almaktadır.

2009 ve 2011 yılları içerisinde Flukonazole dirençli kandida tespit edilmedi. *Candida krusei* türüne direnç testi çalışılmadı. Tablo 8 ' de Flukonazol için yıllara ait duyarlılık patenleri gösterilmektedir.

**Tablo 8:** Flukonazol için yıllara göre duyarlılık verileri

Duyarlılık Paterni	2009		2010		2011		2012*	
	n	Yüzde (%)	n	Yüzde (%)	n	Yüzde (%)	n	Yüzde (%)
Dirençli	0	0	1	0,1	0	0	1	0,1
Duyarlı	264	21,3	362	29,2	375	30,3	165	13,3
Orta duyarlı	8	0,6	24	1,9	27	2,2	11	0,9
<b>Toplam</b>	<b>272</b>	<b>22</b>	<b>387</b>	<b>31,3</b>	<b>402</b>	<b>32,5</b>	<b>177</b>	<b>14,3</b>

\*2012 ilk altı aylık dönem

Flukonazol ve Amfoterisin B ' nin MIK değerleri irdelenerek 4 yıllık zaman zarfında yıllar arasındaki farklılık olup olmadığı araştırıldı. Flukonazol için MIK50 değeri 0.19, MIK90 değeri 2 ; Amfoterisin için MIK50 değeri 0.09, MIK90 ise 0.38 olarak hesaplandı. Tablo 9 ' da bu değerler verilmiştir.

**Tablo 9:** Yıllara göre Flukonazol ve Amfoterisin MIK değerleri

Yıllar	2009	2010	2011	2012*
<b>Flukonazol</b>	0.33	0.29	0.28	0.44
<b>MIK değeri</b>				
<b>Amfoterisin</b>	0.01	0.01	0.10	0.11
<b>MIK değeri</b>				

\*2012 ilk altı aylık dönem

Buna göre 2010-2012 ile 2011-2012 yılları arasında Flukonazol MIK düzeylerinde farklılıklar saptandı. 2012 yılı MIK değerlerinde, 2010 ve 2011 yıllarına göre geometrik ortalama da artış tespit edildi ( $p < 0.01$ ).

Amfoterisin B için yapılan değerlendirmede ise *Candida lusitaniae* ( intrinsik dirençli ) türü dışında ilgili antifungale direncin saptanmadığı tespit edildi. Çalışmamızda yıllar arasında Amfoterisin MIK değeri düzeyinde anlamlı farklılık saptanmadı (  $p > 0.05$ ).

## 5.TARTIŞMA

Mantar türleri canlıların gastrointestinal sistem ve deri florasında bulunmakta ve uygun koşullar oluştuğunda patojenik özellik kazanarak enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Son yıllarda kandida türlerinin neden oldukları enfeksiyonlarda artış görülmekle birlikte, bu enfeksiyonlara neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlanmıştır. Tür çeşitliliğinin artması hem antifungal direncin önemini arttırmakta hem de sürveyans çalışmalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Günümüzde, fırsatçı mantar enfeksiyonlarının artması ve bunun yanısıra özellikle azol türevlerinin profilaktik olarak yaygın bir şekilde kullanılması, duyarlı olan *Candida albicans* türlerinin baskılanması ve *Candida krusei* ve *Candida glabrata* gibi albicans dışı türlerin enfeksiyon etkeni olması sorununun da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle, özellikle riskli hastalardaki kandida enfeksiyonlarının tedavisi planlanırken, tür tanımlaması ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılması giderek daha gerekli hale gelmektedir.

Çalışmamızda 2012 yılında 2010 ve 2011 yıllarına göre Flukonazol MİK değeri açısından yükselme tespit edilmiştir. Her ne kadar dirençli suş sayısında artış tespit edilmese de Flukonazolün sık kullanımı bu değer artışında majör bir etken olarak düşünülmektedir. Ayrıca ampirik olarak kanser hastalarında kullanılan antifungallerin de (Posakonazol, Vorikonazol ve İtrakonazol) direnç gelişiminde rol oynayabileceği akılda tutulmalıdır. Son yıllarda kanser hastalarında özellikle Akut Myeloid Lösemi (AML) ve Myelodisplastik Sendrom (MDS)‘ da ampirik antifungal kullanımının rehberlere bağlı olarak (ECIL: European Conference on Infections Leukemia; IDSA: Infectious Diseases Society of America) yaygınlaşması araştırmamızdaki Flukonazol MİK artışına katkıda bulunmuş olabilir. Hastanemizde özellikle Posakonazol 2010 yılından beri AML ve MDS hastalarında ampirik antifungal tedavide kullanılmaktadır. 2000 yılında yapılan bir çalışmada azollerde çapraz rezistansin kandidalarda direnç gelişiminde önemli rol oynadığı ortaya konulmuştur. Bu çalışmaya göre Sitokrom P-450 bağımlı 14 alfa sterol demetilaz enziminin inhibisyonu mantarlarda bu rezistansin oluşmasında majör etken olarak gösterilmiştir ( Müller ve ark., 2000 ). Benzer bir çalışma 1995 ‘ de Almanya’ da yapılmış olup kandidalarda çapraz direnç olduğu 504 kandida izolatının % 9.9’ unda (50) tespit edilmiştir ( Odds ve ark., 1995 ). 1996 ‘ da yapılan bir diğer araştırmada ise kandida türlerinde fenotipik olarak çapraz direncin saptandığı bildirilmiştir ( Stevens ve ark., 1996 ). Çalışmalara dayanarak azol direncinin

akılda tutulması gerektiği ve kullanılan diğer azollerin bu dirence yol açarak hasta tedavisinde klinisyene yol gösterici olması gerekliliği bir kez daha önem kazanmaktadır.

Çalışmamızda Amfoterisin B için yıllar arasında MİK değeri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Değerlendirilen suşlarda sadece intrinsik dirençli bir *Candida lusitanae* türü dışında bu ajana karşı direncin olmadığı görüldü. Türkiye’de yapılan bir çalışmada kandida üreyen materyallerdeki tüm suşlar amfoterisin B’ye duyarlı bulunurken, tüm izolatlar için flukonazol duyarlılığı %92.8 olarak bulunmuştur ( Atalay M ve ark., 2012 ). Bir başka duyarlılık çalışmasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen kandida türlerinde, E-test yöntemiyle çalışılmış ve flukonazole duyarlılık %71, direnç ise % 22 bulunmuştur (Madhavan P ve ark., 2010). Ancak bu çalışmada aslında albicans türüne duyarlılık % 99 olarak tespit edilmişken dirençli olarak tanımlanan türlerin hepsinin non-albicans kandida olması (*C.krusei* ve *C.glabrata*) göze çarpmaktadır. Türkiye’ de yapılan bir başka araştırmada neonatal kandida enfeksiyonlarında izole edilen mantarlardan amfoterisin B’ye dirençli suş saptanmazken, flukonazol direnç oranı % 5.5 olarak tespit edilmiştir. Bu direncin türlere göre dağılımını ise *Candida albicans* için % 2.8, albicans-dışı suşlar için ise % 11 olarak bildirilmiştir (Altuncu ve ark.,2010). Bizim çalışmamızda da Amfoterisin için benzer duyarlılık sonucu elde edilmiş olup direnç saptanmamıştır.

Araştırmamızda tür düzeyinde *Candida albicans* ‘ın ilk sırada yer aldığı görülmektedir (% 51). Non albicans türlerinden en çok izole edilenler ise *Candida tropicalis* ve *Candida parapsilosis* olmuştur. 2005 yılında yapılan Artemis Global Antifungal Sürveyans çalışmasında, 1997 - 2003 tarihleri arasında *Candida albicans* görülme sıklığında %11 gibi bir gerileme saptanmış, ancak buna rağmen en sık karşılaşılan kandida türü olarak belirtilmiştir (% 66.2). Aynı çalışmada, *Candida tropicalis* ve *Candida parapsilosis* görülme sıklığının ise sırasıyla % 2.9 ve %3.1 oranında arttığı saptanmıştır. *Candida albicans*’dan sonra en sık görülen türler *Candida glabrata* (%10.2), *Candida tropicalis* (%6.3) ve *Candida parapsilosis* (%5.6) olmuştur (Pfaller ve ark., 2005 ).

Çalışmamızda idrarda *Candida albicans* % 53 ile en çok tespit edilen tür olurken, bunu sırasıyla *Candida tropicalis* (% 17) ve *Candida parapsilosis* (% 7) izlemektedir. Kan izolatlarında ise *Candida albicans* % 46 ile ilk sırada yer alırken sırasıyla *Candida parapsilosis* % 26 ve *Candida tropicalis* % 13 diğer türler olarak tespit edilmiştir. Klinik

örnekler içerisinde de albicans ilk sırada yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda mantar enfeksiyonlarında ilk sırayı *C. albicans* almakla birlikte, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* gibi non- albicans türlerle de karşılaşma oranı hızla artmaktadır (Fridkin SK ve ark., 1996 , Horn ve ark., 2009, Clark T.A., 2012). Kandida epidemiyolojisindeki değişikliğin başlıca nedeni flukonazol kullanımındaki artış olarak bildirilmektedir (Clark T.A., 2012). Bir diğer çalışmada, Erişkin yoğun bakım ünitesinden gelen %54'ü idrar, %11'i kan ve %28'i trakeal aspirat olan örneklerden izole edilen kandida suşlarının tür dağılımı; %56 *Candida albicans*, %11 *Candida tropicalis* ve % 10 *Candida parapsilosis* olarak saptanmıştır (Yen ve ark.,2002). Yine bir başka çalışmada tür dağılımı; %53.3 *Candida albicans*, %14.5 *Candida tropicalis*, %12.2 *Candida glabrata*, %6.5 *Candida parapsilosis* olarak bulunmuştur (Ergon M ve ark., 2005).

Çok merkezli bir başka süveyans çalışmasında, hastane enfeksiyonu olduğu bilinen olgulara ait çoğunluğunu kan ve steril vücut sıvılarının oluşturduğu klinik örneklerden izole edilen kandida türleri sıklık sırasına göre %54 *Candida albicans*, %15 *Candida glabrata*, %12 *Candida parapsilosis*, %9 *Candida tropicalis*, %3 *Candida lusitaniae*, %3 *Candida krusei* ve %3 diğer kandida türleri şeklinde bir dağılım göstermiştir (St- Germain G ve ark., 2001). Bu çalışmalarda tespit edilen kandida oranları bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. *Candida albicans* majör etken olma özelliğini sürdürmektedir.

2010' da Uludağ Üniversitesi' nde yapılan 12 yıllık bir çalışmada ise en sık izole edilen mantarın *Candida albicans* (% 45) olduğu, bunu sırasıyla *Candida parapsilosis* (% 26) ve *Candida tropicalis*' in (% 7) izlediği bildirilmiştir. Bu çalışmada kandida türlerinde flukonazol duyarlılığı % 90 olarak bulunmuş ve dirençli olan suş *Candida glabrata* olarak rapor edilmiştir (Gürcüoğlu ve ark.,201 ). Çalışmamızda da literatür verilerine benzer şekilde *Candida albicans* ilk sırada yer almaktadır. Flukonazol direnç oranlarında da ülkemizdeki diğer çalışmalara benzer sonuçlar tespit edilmiştir.

Fungal kan yayımı enfeksiyonlarından en sık izole edilen tür *Candida albicans*' tır. Kandida epidemiyolojisinde son zamanlardaki değişiklikler non-albicans kandidemi oranlarının, özellikle *Candida parapsilosis* insidansının arttığını göstermektedir (Miranda ve ark.,2012; Dotis ve ark.,2012). *Candida parapsilosis*'e bağlı enfeksiyonların artışından sorumlu olan faktörler olarak; mayanın büyüme kapasitesi, organizmanın intravasküler araçlara ve protez materyallerine afinitesi, gastrointestinal kolonizasyon ve sağlık çalışanlarının ellerinde

kolonize olması sayılabilir. Her ne kadar çalışmamızda risk faktörleri araştırılmasa da yoğun bakımlardaki kateter ve benzeri girişimlerin biyofilm özelliği olan *Candida parapsilosis* sıklığını artırdığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda pediatri yoğun bakımda *Candida parapsilosis* oranında artma görülmektedir; bu artış yenidoğan kolonizasyonunun fazla olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca sağlık çalışanlarında da el kolonizasyonunun olduğunun gösterilmesi bu enfeksiyonun yayılımında el hijyeninin önemini bir kez daha vurgulamak açısından önem teşkil etmektedir.

2004 yılında erişkinlerde *Candida parapsilosis* salgınını araştıran bir çalışmada, sağlık çalışanlarının %26'sında *Candida parapsilosis*'le el kolonizasyonu gösterilmiştir. Özellikle yoğun bakım ünitesinde yatan, mekanik ventilasyon, Santral Venöz Kateter (SVK) ve Total Parenteral Nutrisyon (TPN) kullanan ve bu nedenlerle sağlık çalışanları ile sık ve direkt teması gerektiren durumlarda riskin artmakta olduğu gösterilmiştir. El hijyenine uyulmaması kolonizasyona zemin hazırlamakta, bu da mayaların hastalara geçişini dolaylı yoldan artırmaktadır ( Clark ve ark., 2004 ).

Erişkin, yenidoğan ve çocuklarda yapılan retrospektif bir çalışmada *Candida albicans*' in tüm yaş gruplarında olguların % 48 inden sorumlu olduğu ortaya konulmuş, *Candida parapsilosis* sıklığının ise özellikle çocuklarda artma eğiliminde olduğu saptanmıştır (Blyth ve ark.,2009). *Candida albicans* kan dolaşımı enfeksiyonlarında mantarlar arasında ilk sırada yer almasına rağmen *Candida parapsilosis* açısından dikkatli olunması gerektiği aşikardır.

Kandida enfeksiyonlarındaki tür dağılımı ve antifungal duyarlılık, coğrafik bölgeye, sağlık kurumuna ve hasta popülasyonuna göre değişebilir. Bu yüzden her birimin kandida türlerinin epidemiyolojisindeki değişikliği izlemek ve antifungal duyarlılıklarını saptayabilmek adına sürveyans çalışmalarını yapması gerekmektedir. Bu nedenle her sağlık kurumu kandida enfeksiyonlarında sürveyansını düzenli olarak yapmalı ve ampirik tedavi yaklaşımında bu verilerden yararlanarak tedaviye başlamalıdır.

## 6. SONUÇLAR

Yaptığımız bu çalışma ile hastane enfeksiyon etkenleri içerisinde gittikçe artan mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olan kandidaların, tür tayini ve antifungal duyarlılık paternleri ortaya koyularak epidemiyolojik verileri araştırıldı.

Çalışmamızda tür düzeyinde *Candida albicans*'ın ilk sıradaki yerini koruduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte üreyen mayaların yaklaşık yarısını da albicans dışı mayalar oluşturmaktadır. Bu mayalar içerisinde *Candida tropicalis* ve *Candida parapsilosis* diğerlerinden daha yüksek oranlarda klinik örneklerde üremiştir. Özellikle *Candida parapsilosis*' in yoğun bakım ünitelerindeki yüksek oranları dikkat çekicidir.

Duyarlılık sonuçları dikkate alındığında Flukonazolün halen ilk basamakta kullanılabilen bir seçenek olduğu görülmektedir. Her ne kadar ilk seçenek antifungal olma özelliğini koruyor olsa da tür düzeyinde tanımlanan mantarların mutlaka antifungal duyarlılık testlerinin yapılması klinisyene tedaviyi planlaması ve sürdürmesi açısından yardımcı olacaktır.

Sonuç olarak, kandida kontrolü için tür tayini ve antifungal duyarlılık test sonuçlarının bilinmesi hastanın tedavisi ve klinisyenin hastaya yaklaşımı açısından çok önemlidir. Bu çalışmada, kandidalara bağlı gelişen enfeksiyonlarda tedavi planlamasında lokal verilerin önemi bir kez daha vurgulanmıştır. Bu sonuçlar, ampirik tedavi yaklaşımımızı yönlendirecektir. Kandida enfeksiyonları için risk teşkil eden hasta popülasyonunun artmasına paralel olarak, türlerin tanımlanması için epidemiyolojik çalışmaların ve yeni antifungal ajanları da içeren antifungal duyarlılık testlerinin yapılması gerekliliği önem arz etmektedir.



Mitchel TG, Brooks GF, Butel JS, Mors SA. *Medi Microb* Stamford: Appleton and Lange, 1998:583-616

Colin J Ingham, Sjoukje B, Suzanne L, Marit de L, Jacques F M, Peter M S. Rapid Susceptibility Testing and Microcolony Analysis of *Candida* spp. Cultured and Imaged on Porous Aluminum Oxide. *PLoS One* 2012; 7(3): e33818

Rajendran R, Robertson DP, Hodge PJ, Lappin DF, Ramage G. Hydrolytic enzyme production is associated with *Candida albicans* biofilm formation from patients with type 1 diabetes. *Mycopathologia* 2010;170(4):229-35

Fahmi H, Immaculata X, Xiabo W, Neena J, Bettina F. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. *Microb Infect* 2009; 11(8-9): 753–761

Samonis G, Gikas A, Toloudis P, Maraki S, Vrentzos G, Tselentis Y, Tsaparas N, Bodey G. Prospective study of the impact of broad-spectrum antibiotics on the yeast flora of the human gut. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994;13(8):665-7.

Fidel PL Jr. *Candida*-host interactions in HIV disease: relationships in oropharyngeal candidiasis. *Adv Dent Res* 2006; 19(1):80-4

Pittet D, Monod M, Suter P, Frenk E, Auckenthaler R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 1994; 220(6): 751–758

David L H, Dionissios N, Elias JA, Jay F, William JS, Ali O, Kieren M, Pfaller M, Chi-Hsing C, Karen M. Webster. Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1695–703

Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, Mensa J, Sanchez F, Ayats J, Gimenez M, Saballs P, Fridkin SK, Morgan J, Rodríguez-Tudela JL, Warnock DW, Pahissa A; Barcelona Candidemia Project Study Group. 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. 2005;43(4):1829-35

Tintelnot K, Gerhard H, Michael S, Frank B, Maren S, Tatjana F, Dieter N. Evaluation of Phenotypic Markers for Selection and Identification of *Candida dubliniensis* J Clin Microbiol. 2000; 38(4): 1599–1608

Mario Cruciani & Giovanni Serpelloni Management of *Candida* infections in the adult intensive care unit. Expert Opin. Pharmacother. 2008; 9(2):175-191

Pfaller MA, Diekema D J, Mendez M, Kibbler P, Erzsebet, S C. Chang, D. L. Gibbs. Newell and the Global Antifungal Surveillance Group *Candida guilliermondii*, an Opportunistic Fungal Pathogen with Decreased Susceptibility to Fluconazole: Geographic and Temporal Trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program J. Clin. Microbiol. 2006; 44:3551-3556

Weems J John Jr. *Candida parapsilosis*: Epidemiology, Pathogenicity, Clinical Manifestations, and Antimicrobial Susceptibility. Clin Infect Dis 1992;14(3):756-766.

Emilia C, Javier P, Elena E. Prospective Multicenter Study of the Epidemiology, Molecular Identification, and Antifungal Susceptibility of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* isolated from patients with Candidemia. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:125590-5596

Colombo Arnaldo L, Ligia R, Leila P, Anna B, Patricia R, Thelma A, Robert R, Prospective Observational Study of Candidemia in Sao Paulo, Brazil: Incidence Rate, Epidemiology, and Predictors of Mortality. Infect Cont Hosp Epidem 2007; 28:570-576

Erturan Z. Baslica hastane enfeksiyonu etkeni mantarlar. Aktuel Tıp Derg. 2002; 7: 14-8.

Pires-Goncalves H, Elaine M, Lilian B, Marcelo M, Jose Z, Maria MG. Genetic relatedness of commensal strains of *Candida albicans* carried in the oral cavity of patients' dental prosthesis users in Brazil. Mycopath 2007; 164:255–263

D'Antonio D, Ferdinando R, Eugenio P, Giuseppe F, Claudia C, Stefano B, Paola O, Tommaso S, Roberta S, Stefania B, Antonella V, Giovanni F, Eugenio G, Giuseppe C. Catheter-Related Candidemia caused by *Candida lipolytica* in a Patient Receiving Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *J Clin Microbiol* 2002; 40(4): 1381–1386

Sandven P, Nilsen K, Digrantes A, Tjåde T, Lassen J. *Candida norvegensis*: a Fluconazole-Resistant Species. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41(6): 1375–1376

Richardson M, Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microb Infect*. 2008;14 Suppl 4:5-24

Pfaller M. A, Diekema D. J. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clin. Microb Rev* 2007;20:1133-163

Arslan U, Uysal E B, Işık F, Tuncer İ, Fındık D. 2002-2005 Yılları arasında kan örneklerinden soyutlanan *Candida* türleri. *Enf Derg* 2006; 20 (3): 177-181

Ortega M, Marco, F, Soriano A, Almela M, Martínez JA, López J, Pitart C, Mensa J. *Candida* species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. *J Hosp Infect* 2011; 77; 157-161

Toya S.P, Schraufnagel D.E, Tzelepis G.E. Candiduria in intensive care units: association with heavy colonization and candidaemia. *J Hosp Infect* 2007;66:201- 206

Nolla-Salas J, Sitges-Serra A, León C, Martínez-González J, León-Regidor A, Ibáñez-Lucía, J. M. Torres-Rodríguez. Candidemia in non-neutropenic critically ill patients: analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy. *Intens Care Med* 1997;23: 23-30

Clark TA, Hajjeh R. Recent trends in the epidemiology of invasive mycoses. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15:569-74

Costa SF, Marinho I, Araujo EA, Manrique AE, Medeiros EA, Levin AS. Nosocomial fungaemia: a 2-year prospective study. *J Hosp Infect* 2000; 45: 69-72

Olaechea P. M, Palomar M, León-Gil C, Álvarez-Lerma R, Jordá J, Nolla-Salas M. A, León-Regidor. The EPCAN Study Group Economic Impact of Candida Colonization and Candida Infection in the Critically Patient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23, 323–330

Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Berg V, Hu J, Messer S, Herwaldt L, Pfaller M, Diekema D. Attributable Mortality of Nosocomial Candidemia, Revisited *Clin Inf Dis*. 2003; 37:1172–7

Pittet D, Li N, Woolson R. F, Wenzel P. Microbiological Factors Influencing the Outcome of Nosocomial Bloodstream Infections: A 6-Year Validated, Population-Based Model, *Clin Inf Dis*. 1997;24:1068–78

Pascual A. Pathogenesis of catheter-related infections: Lessons for new designs. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 256–264

Zer Y, Balcı I, Meriç G. Identification and antifungal susceptibility of Candida isolated from intensive care unit patients. *New Microbiol*. 2002;25(4):489-94

Ergon MC, Yücesoy M. Evaluation of species distribution of yeasts isolated from intensive care units during the four years period. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2005;39:309- 318

Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6,5 year analysis of susceptibilities of Candida and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol*. 2005;43: 5848- 5859

St- Germain G, Laverdie M, Pelletier R, Bourgault M, Libman M, Lemieux C, Noel G. Prevalence and antifungal susceptibility of 442 Candida isolates from blood and 68 other normally sterile sites: Results of a 2- year (1996 to 1998 ) multicenter surveillance study in Quebec, Canada. *J Clin Microbiol*. 2001;39 (3): 949- 953

Atalay M. A, Sav H, Demir G, Koç N. Distribution of Candida Species Isolated From Blood Cultures and in-Vitro Susceptibilities to Amphotericin B and Fluconazole. *Selçuk Tıp Derg* 2012;28(3):149-151

Madhavan P, Jamal F, Chong PP. In vitro activity of fluconazole and voriconazole against clinical isolates of *Candida* spp. by E-test method. *Trop Biomed* 2010; 27: 200-7

Pfaller MA, Diekema DJ. The International Fungal Surveillance Participant Group. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 11-23

Altuncu E, Bilgen H, Çerikçioğlu N. Neonatal kandida enfeksiyonları ve etkenlerinin antifungal duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2010; 44: 593-603

Gurcuoglu E, Ener B, Akalin H. Epidemiology of nosocomial candidaemia in a university hospital: a 12-year study. *Epidem Infect* 2010; 138(9): 1328-35

Sardi J C O, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida M, Mendes G. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J of Med Microb* 2013; 62, 10–24

Dotis J, Prasad PA, Zaoutis T, Roilides E. Epidemiology, risk factors and outcome of *Candida parapsilosis* bloodstream infection in children. *Pediatr Infec Dis J* 2012; 31: 557-560

Miranda L, Eliete R, Silvia F C. Neonatal unit over 7 years: a case series *Candida parapsilosis* candidaemia in a study. *BMJ* 2012; 33, 9-14

Clark TA, Slavinski SA, Morgan J, Lott T, Arthington-Skaggs BA, Brandt ME, Webb RM, Currier M, Flowers RH, Fridkin SK, Hajjeh RA. Epidemiologic and molecular characterization of an outbreak of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in a community hospital. *J Clin Microb* 2004; 42: 4468-4472

Blyth CC, Chen SC, Slavin MA. Not just little adults: candidemia epidemiology, molecular characterization, and antifungal susceptibility in neonatal and pediatric patients *Pediatrics* 2009; 123: 1360-1368

Martino P, Girmenia C, Venditti M, Micozzi A, Santilli S, Burgio VL, Mandelli F. Candida colonization and systemic infection in neutropenic patients. A retrospective study. *Cancer*. 1989;15;64(10):2030-4

Martino P, Girmenia C, Micozzi A, De Bernardis F, Boccanera M, Cassone A. Prospective study of Candida colonization, use of empiric amphotericin B and development of invasive mycosis in neutropenic patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994;13(10):797-804.

Dotis J, Prasad PA, Zaoutis T, Roilides E. Epidemiology, risk factors and outcome of *Candida parapsilosis* bloodstream infection in children. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 557-560

Guillaume L, Fabien L, Didier T, Christian L, Erika P, Evaluation of “Candida score” in critically ill patients: a prospective, multicenter, observational, cohort study. *Ann Inten Care* 2011, 1:50

León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Alvarez-Lerma F, Garnacho-Montero J, León MA, EPCAN Study Group: A bedside scoring system (Candida score) for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. *Crit Care Med* 2006;34:730-737

Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2008

Odds FC, Dams G, Just G, Lewi P, Susceptibilities of *Candida* spp. to Antifungal Agents Visualized by Two-Dimensional Scatterplots of Relative Growth Antimicrob Agents *Chemother*, 1996; 40 (3) p. 588–594

Müller C, WeigM, PeteraJ, J. WalshT, Azole cross-resistance to ketoconazole, fluconazole, itraconazole and voriconazole in clinical *Candida albicans* isolates from HIV-infected children with oropharyngeal candidosis J. Antimicrob. Chemother 2000; 46 (2): 338-341.

Stevens, D. A , Stevens J. A, Cross-resistance phenotypes of fluconazole-resistant *Candida* species: results with 655 clinical isolates with different methods Diagn Microbiol Infect Dis 1996; 26, 145–8.