

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ FARABI
HASTANESİ'NDE
GÖRÜLEN FUNGAL İNFEKSİYONLAR VE
ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

Uzmanlık Tezi

Dr. Uğur KOSTAKOĞLU

Trabzon-2003

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ FARABI
HASTANESİ'NDE
GÖRÜLEN FUNGAL İNFEKSİYONLAR VE
ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

Uzmanlık Tezi

Dr. Uğur KOSTAKOĞLU

Tez Danışmanı: Y. Doç. Dr Kemalettin AYDIN

Trabzon-2003

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER	I
GİRİŞ	1-2
GENEL BİLGİLER	3-35
MATERYAL VE METOD	36-45
BULGULAR	46-51
TARTIŞMA	52-64
SONUÇLAR	65-66
TÜRKÇE ÖZET	67-68
İNGİLİZCE ÖZET	69-70
KAYNAKLAR	71-82

GİRİŞ

Son yıllarda tıbbi teknolojideki gelişmeler, cerrahi ve sağaltım tekniklerinin de gelişmesine neden olmuş ve hastaların daha uzun süre yaşatılabilmelerini sağlamıştır. Yeni geniş etki alanlı antibiyotikler, yeni kemoterapötik ilaçlar, kortikosteroidler, parenteral beslenme tıbbi kullanıma girmiştir. Bu gelişmelere bağlı olarak; kanserli, büyük ameliyat geçiren, damar içi kateter uygulanan, malnütrisyonlu, diyabetli, organ nakli olan hastaların ve AIDS'lilerin sayısı giderek artmaktadır. Ancak çoğu immünoyetersiz olan bu hastaların, tüm fırsatçı enfeksiyonlara olduğu gibi, mantar hastalıklarına da duyarlılığı artmaktadır. Bu hastalarda mantar enfeksiyonları; sıklıkla hızlı ilerleyen, yaşamı tehdit edici, tanınması zor ve bazen varolan mantar ilaçlarına dirençli enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonların sıklığı artarken bilinen etkenlere de yenileri eklenmektedir(1).

Sistemik mantar enfeksiyonları fırsatçı enfeksiyonlar olup immün sistemi baskılanmış hastalarda gelişmektedir. Çeşitli nedenlerle sistemik mantar enfeksiyonlarına neden olan etkenler üç ana gruba ayrılmaktadır. Birinci gruba *Candida* ve *Aspergillus* türleri gibi fırsatçı etkenler girer. Bu mantarlar başta kanserli ve lösemili hastalar olmak üzere immünoyetersiz hastalarda önemlidirler. İkinci grupta normal sağlıklı bireylerde de kendi kendini sınırlayan, immünoyetersiz hastalarda ise yaygın enfeksiyonlara neden olabilen *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* ve *Coccidioides immitis* yer almaktadır. Üçüncü gruba giderek önem kazanan feohifomiçetler, hiyalohifomiçetler ve diğer mayalar gibi yeni alışılmamış etkenler girmektedir(2,3).

Günümüzde bağışıklığı baskılanmış hastalardan ayrılan maya cinsleri geniş bir yelpazeye yayılma eğilimi gösterdiğinden bunların tanımlanması da temel basamak sayılmaktadır. Hekimin tedaviye çabuk geçebilmesi açısından klinik mikoloji laboratuvarlarında mayaların hızlı tanımı önem taşımaktadır. Günümüzde hastalık etkeni olarak ayrılan mantar çeşitlerinin giderek artmasına karşın tanı için sunulan ticari kitler ancak çok sınırlı bir mantar yelpazesinde iş görebilmektedir. Bu nedenle özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda doğru ve hızlı tanı yöntemleri geliştirmeye çalışılmaktadır(4). Mayaların hızlı tanımı için geliştirilmiş API 20C, API ZYM, Vitek ID32C hazır tanı sistemleri ile sonuçlar 24 saatten üç güne kadar kısa bir sürede alınabilmektedir(5).

Mikozların tedavisinde kullanılan antifungal ilaçlarla önemli gelişmeler olmuştur. Amphotericin B ve bunun lipitli formleri yanısıra bunlarla birlikte de kullanılabilen flusitozin, ketokonazol, flukonazol, mikonazol yeni antifungal ilaçlar arasında sayılabilir.

Henüz bir çoğu için in vitro incelemelerin sürdürüldüğü yeni potansiyel antifungaller de geliştirilme aşamasındadır. Üçüncü jenerasyon triazoller arasında vorikonazol, klotrimazol, ekonazol, echinocandin'lerden cilofungin ve LY 303366, pnömokandin'lerden LY 743872 bunlara örnek verilebilir. Klinik çalışmalara ağırlık verilmek suretiyle antifungal ilaçların mantar infeksiyonlarında hayat kurtarmasına, emniyet ve etkinliğine ışık tutacağı düşünülmektedir(6).

Mantarların antifungal maddelere duyarlılığının in vitro denenmesinde bir çok sorun ortaya çıkmaktadır. Mantarlarda yapı değişiklikleri olması, gelişme koşullarında ve hızlarında farklar bulunması antifungal maddeler için invitro duyarlılık deneylerinin yorumlanmasında güçlükler neden olmaktadır. Yöntem standardizasyonu ile ilgili önemli adımlar atılmış olmasına karşın referans metotlarla hasta cevabı arasında ilişki kurulması için daha ileri çalışmaların gerekli olduğu da bir gerçektir.

Bu çalışmada hastanemizde görülen fungal infeksiyonları ve etken dağılımını, elde edilen mikozların direnç durumlarını belirlemenin yanısıra, erken tanı ve antifungal duyarlılık testlerinden en iyi duyarlılığı ve özgüllüğü veren, basit, ucuz ve zaman alıcı olmayan bir yöntemin klinik kullanıma girmesini sağlamayı amaçladık. Hastaların antifungal tedaviye cevabının belirlenmesi bu çalışmanın diğer amacı idi. Tıptaki gelişmelere paralel olarak, risk altında bulunan hasta gruplarındaki artış ve invaziv fungal infeksiyonların görülme sıklığındaki artış son yıllarda tüm dünyada bu konuya bir yönelimin olmasına neden olmuştur. Gelişmiş ülkelerde bu konularda çalışma grupları oluşturularak tüm ülkenin sonuçları tek merkezden değerlendirilerek ülke tıbbına katkı sağlanırken ülkemizde bu konuda çalışma bulunmamaktadır. Planlamış olduğumuz bu çalışma ile kısa vadede kendi hastanemizde ve bölgemizdeki durumu ve tedavi yaklaşımlarını ortaya koymanın yanında ulusal fungal infeksiyonlar çalışma grubunun oluşmasına zemin hazırlanması hedef alınmıştır.

GENEL BİLGİLER

Mikoloji; mayalar, küfler, makromantarlar ve mantara benzer mikroorganizmalarla uğraşan bilim dalıdır. Ökaryotik mikroorganizmalardan olan mantarlar, canlıların beşinci alemini oluştururlar Doğada 250.0000 tür mantar saptanmasına karşılık insanlarda ve hayvanlarda 150 türün olduğu bilinmektedir.

Mantarların tanınmasını altı temel özellik sağlar(Tablo 1)(7). Klinik önemi de olan bu özellikleri ile bitki, hayvan ve bakterilerden kolaylıkla ayrılabilirler. Bu özellikler:

1-Mantarların tanınması için sporların incelenmesi esastır. Doğada sporları bulunan mantarlar solunum veya inokulasyon yolu ile kolaylıkla infeksiyonlara yol açabilirler.

2-Mantarlar klorofil içermemeleri ile yüksek bitkilerden ayrılırlar

3-Mantarların eşeyli ve/veya eşeysiz üreme özellikleri tanınmaları ve sınıflandırılmaları açısından önemlidir.

4-Mantarlar morfolojik yapılarına göre iki grupta incelenir: Küfler ve mayalar. Küf mantarlarının filamantöz yapıları oluşturmaları invivo ve/invitro tanıda da önemlidir. Mayaların çoğu filamantöz yapıları oluşturmazlar.

5-Hücre duvarı olması, mantarları esas olarak gerçek bir hücre duvarı olmayan hayvan hücrelerinden ayırır. Mantar hücre duvarında kitin, mannanlar, glukanlar ve diğer kompleks yapılar vardır. Bakterilere antijenik özellik kazandıran peptidoglikanlar, mantarların serolojik tanısında ve yeni antijenik özellik tanı testlerinin geliştirilmesinde önemlidir.

6-Mantar infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ilaçlar, yapısal benzerlikten dolayı, insan hücresi üzerine de toksik etki yapar.

1.Mantarların yapıları

Mantarlar, morfolojik yapılarına göre küf veya maya olmak üzere iki grupta incelenir. Bazı mantarlar ise doğal ortamlarda küf, insan vücut ısısında(37°C) maya şeklinde dirler. Isıya bağlı olarak yapı değiştiren bu mantarlara **dimorfik mantarlar** denir. Küf ve mantarların bazı özellikleri birbirinden farklıdır(Tablo 1).

Tablo 1: Mantarların önemli özellikleri

Özellik	Mantar hücresi
Hücre yapısı	Ökaryot
Hücre duvarı	Çok katlı(kitin, mannan, glukon). Bazılarında kapsül var. (Ör: <i>Cryptococcus neoformans</i>)
Sitoplazma zarı	Sterol
Sitoplazma içi yapılar	Mitokondri, endoplazmik retikulum, Golgi
Çekirdek	Zar ile çevrili(gerçek çekirdek)
Büyüklik	5-10µm çapında, 100µm'dan uzun olabilir.
Morfolojik yapı	Maya: Yuvarlak, yuvarlağımsı, Küf: Filamentöz. Bölmeli veya bölmesiz hifli. Klorofil içermezler(kemoheterotrof). Sporlar ve konidyumlar oluştururlar.
Üreme biçimi	Eşeyli ve/veya eşeysiz
Boyanma özellikleri	Gram olumlu, aside dirençli boyanmazlar, Histopatolojik boyalarla (PAS, gümüşleme) boyanırlar.

Küfler: Filamentöz yapılı mantarlardır. Küfün temel yapı birimi **hif** olarak adlandırılan tübümsü yapıdır. Hif topluluğuna **miçel** denir. Miçelin besiyerinde görünümüne **koloni** adı verilir. Bazı küflerde hifler enine bölümlerle bölünmüştür. Bunlara **septum** denir. Septumlu hifler **bölmeli hif**, septumsuz hifler ise **bölmesiz(sönotitik) hif** olarak da tanımlanırlar. Mantarların tanımlanmasında hifin çapı, uzunluğu ve septumu önemlidir.

Mayalar: Tomurcuklanan mantardır. Mayalar tek hücreli mantarlardır. **Tomurcuklanma**(blast formasyonu) veya **fision**(ortadan bölünme) ile çoğalırlar. Klinik önemi olan mayaların çoğu yuvarlak veya yuvarlağımsıdır. Bir maya hücresinin bir veya birkaç noktasından tomurcuklanma olur, olgunlaşarak ana hücreden koparak yavru hücre oluşur. Yavru hücreye **blastokonidyum** denir. Bazı mayalarda(Ör: *Candida* türleri) oluşan blastokonidyumlar ana hücreden ayrılmadan uzar gider. Ana hücreden tomurcuklanarak oluşan hücrelerin oluşturduğu uzantıya **yalancı hif(psödohif)** denir. Gerçek maya hifinde hücre duvarları birbirine paraleldir. Yalancı hifte ise tomurcuklanma bölgesine yakın bir yerde içe bükey bir yapı görülür. Bazı mayalar hem tomurcuklanır hem de ikiye bölünerek çoğalırlar. Bu şekilde oluşan hücrelere **artrokonidyum** denir(Ör: *Trichosporon* spp). Bazı maya hücrelerinde aynı zamanda antijenik özellik kazandıran, **kapsül** vardır(Ör: *Cryptococcus neoformans*).

Dimorfik mantarlar: Doğal ortamda ve oda ısısındaki besiyerinde küf, invivo ve 35-37°C'de maya şeklinde üreyen mantarlara **dimorfik** veya **difazik** mantarlar denir. Küf şeklinden maya şekline dönüşümü pek çok faktör etkiler. Bunlar Isının 35-37°C'ye yükselmesi, ortamda basit şekerlerin çokça bulunması, sistein gibi sülfidril gruplarının varlığı, bir organik nitrat kaynağının bulunmasıdır(7).

Mayanın küfe, küfün mayaya dönmesine **termal dimorfizm** denir. Tanımlanmaları için her iki formunun yapısal özelliklerinin gösterilmesi gerekir. Dimorfik mantarlar doğada saprofit küf olarak, insan vücudunda ise maya veya sferül yapısında parazit olarak bulunurlar. Sistemik mikoza yol açan *Blastomyces dermatidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Sporothrix schenckii* ve *Penicillium marneffeii* olmak üzere altı dimorfik mantar vardır. Bunların içinde *C.immitis* dimorfik mantar olmasına karşın maya hücresi oluşturmaz.

1.2.Mantarların Üremeleri

Mantarlar eşeysiz(mitoz) ve/veya eşeyli(miyoz) olmak üzere iki şekilde ürerler. Sporları ile çoğalan mantarlar aynı zamanda hem eşeyli hemde eşeysiz konidyumlar oluşturabilirler.

Eşeysiz üreme: Tek bir ana hücrenin mitoz bölünmesi ile oluşur. Yapıları yönünden eşeysiz hücreler, sporangiyosporlar ve konidyumlar olmak üzere iki tiptedir.

Tıbbi önemi olan mantarlardan *Zygomycetes* sınıfı mantarlarda(*Rhizopus*, *Absidia*) oluşan ve içinde sporlar taşıyan keseciklere **sporangiyum**; kese içindeki sporlara **sporangiyospor** adı verilir.

Aspergillus, *Penicillium* türleri ve dermatofitlerde görülen bir kese içinde bulunmayan eşeysiz üreme yapılarına **konidyum** denir. Bunlar **konidyofor** olarak adlandırılan özelleşmiş bir hifin ucundan doğarlar. Konidyum oluşturan mantarların tümü *Deuteromycota*(*Fungi imperfecti*) sınıfındadırlar. Konidyogenez **tallik** ve **blastik** olmak üzere iki şekilde gerçekleşir.

Tallik konidyumlar bir hiften köken alarak ve sonra enine septumlarla özelleşip tek tek hücreler şekline dönüşmektedir. Şekil yönünden **artrokonidyum** ve **klamidokonidyum (klamidospor)** olarak ikiye ayrılırlar. Artrokonidyum tek hücrelidir. En belirgin konidyum oluşumu *C.immitis* ve *Geotrichum candidum*'da görülür. Klamidokonidyum bir hifin ucunda(terminal) veya arada(interkal) tek hücreli yapılardır. En belirgin olarak *Candida albicans*'da görülür(7).

Blastik konidyumlar mayalarda ve *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Scopulariopsis* gibi küflerde görülen yapılardır. Bir hifin ucundan veya bir ana hücreden köken alırlar. Bunlar dışında makro ve mikrokonidyumlar da eşeysiz yapılardır.

Eşeyli üreme: Mantarların alt sınıflaması yönünden eşeyli sporların yapısının bilinmesi gereklidir. Tıbbi önemi olan mantarlarda **zigospor**, **askospor** ve **bazidiyospor** oluşumu ile sonuçlanan eşeyli üreme görülür. Zigospor *Zygomycetes* sınıfı mantarlarda (*Rhizopus*, *Absidia* türleri), askospor *B.dermatidis*, *H.capsulatum* gibi mantarlarda,

bazidiyospor *C.neoformans*'ın içinde bulunduğu *Basidiomycota* sınıfı mantarlarda görülen eşeyli üreme biçimidir.

Mayalar besiyerinde 24 saatte koloni oluşturacak şekilde hızlı ürerler. Küflerin üreme hızı çok değişkendir. Mantarların in vivo/invitro üreme hızını etkileyen oksijen, ısı, pH ve besiyeri bileşimi gibi başlıca faktörler vardır. Özellikle küf mantarlarının laboratuvarlarda üretilmeleri sırasında miçel formunu baskılayan, spor oluşumunu artıran şartların sağlanması ile tanı kolaylaşır. Mantarlar kemoheterotrofturlar. Organik bir azot ve karbon kaynağına gereksinimleri vardır. Bu nedenle primer besiyerlerinde hep glukoz vardır. Mantarlar aerop mikroorganizmalardır. Mantarlar pH 2-9 sınırında üreyebilirler. Optimal üreme pH'ı 6.8-7'dir. Mantarlar mezofil olup 10-40°C' de üreyebilirler. Optimal üreme ısıları 25-35°C' dir. Bazı mantarlar termotolerandır ve bu nedenle üreme ısıları farklılık gösterir. Bunlara en iyi örnek *Aspergillus fumigatus*'tur. Üreme ısı aralığı geniş olup 12-45°C arasında üreyebilirler. Bazı mantarlar 10°C altında üreyebilirler ve soğuk ortamda saklanan besinler için kontaminandırlar.

Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında mantarlar için zenginleştirilmiş, seçici ve ayırıcı besiyerleri kullanılır. Beyin kalp infüzyon agar, malt ekstreli besiyerleri zenginleştirilmiş besiyerlerine örnektir. Seçici besiyerleri karışık floralı ortamlardan alınan klinik örneklerden mantarların soyutlanması için uygun besiyerleridir. Seçici besiyerleri yapmada en basit ve en yaygın yöntemlerden biri besiyerinin pH'ını değiştirmektir. Bir diğeri ise besiyeri ortamına antibiyotikler eklemektir. Ayırıcı besiyerleri mantarların metabolik özelliklerinden yararlanarak, besiyerlerinde ürediklerinden farklı görünüm veren koloniler şeklinde üremelerini sağlayan indikatör maddelerin eklenmesi ile hazırlanır. En bilinen ayırıcı besiyeri üre agardır.

Klinik örneklerden mantarların soyutlanması sırasında zenginleştirilmiş besiyerlerinin kullanılması, mantarların tanısı için önemli olan sporlanmayı azaltır. Sporlanma için daha az şeker içeren %4 glukozlu Sabouraud agar özellikle hızlı üreyen mantarlar için uygundur. En iyi sporlanma Emmons tarafından değiştirilen %2 glukoz içeren Sabouraud agardır.

1.3.Mantarların Sınıflandırılması

Mantarlar eşeyli üreme biçimleri, yapıları, yaşam döngüleri ve bazı fizyolojik özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Eşeyli üremesi saptanmayan mantarların tümü *Deuteromycota(Fungi imperfecti)* sınıfında, eşeyli üremeleri saptanan mantarlarda *Zygomycota*, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* sınıfında incelenirler(Tablo 2)(7). Filogenetik

sınıflamaya uygun ve klinisyenlere yönelik bir sınıflama da vardır. Bu sınıflama hastalık etkeni olarak en sık soyutlanan mantarları içermektedir.

Tablo 2: Tıbbi önemi olan mantarların sınıflandırılması ve özellikleri

Sınıf	Özellik	İnsan patojenlerine örnek
<i>Zygomycota</i> (<i>Zygomycetes</i>)	a. Sporangiyospor b. Zigospor c. Bölmesiz hifler	<i>Rhizopus</i> ve <i>Absidia</i> türleri
<i>Ascomycota</i> (<i>Ascomycetes</i>)	a. Konidyumlar b. Askospor c. Bölmeli hif	<i>Penicillium</i> türleri <i>H.capsulatum</i> <i>Aspergillus nidulans</i>
<i>Basidiomycota</i> (<i>Basidiomycetes</i>)	a. Bazidiyospor b. Bazidiyum	<i>Filobasidiella neoformans</i> (<i>C.neoformans</i>)
<i>Deuteromycota</i> (<i>Deuteromycetes</i> , <i>Fungi imperfecti</i>)	a. Her cins için tipik çeşitli konidyumlar b. Bölmeli ve bölmesiz hifler Eşeyli üreme biçimi yoktur	<i>Candida</i> türleri <i>B.dermatitidis</i> <i>S.schenckii</i> <i>Microsporum</i> türleri

1.4.Mantarların Virülans Faktörleri

Mantar infeksiyonlarının gelişmesi ve patogenezi, mantarlardaki konak savunma sisteminin etkisini azaltan bir çok faktör ile ilişkilidir. Virülans faktörlerinin önemi en iyi *C.albicans* türünde gösterilmiştir. Virülans faktörleri şunlardır: Adezyon, dimorfizm-fenotip değişimi, proteinaz, fosfolipaz-lizofosfolipaz, mannan, slime faktörü.

Adezyon: Mikroorganizmaların kolonizasyonu ve enfeksiyonun oluşmasında ilk ve çok önemli basamaktır. *C.albicans*'ın kornea, yanak epitel hücreleri, parotid ve tükürük proteinleri, vajinal epitel hücreleri, GİS mukoza hücreleri, endotel hücreleri gibi hücre ve yapılara adezyonu gösterilmiştir. *Candida* türlerinin yüzeylere bağlanmasını şekerler, metal iyonları, pH, ısı gibi çevresel faktörlerin yanısıra fibrinojen, fibronektin, laminin, tip I ve tip IV kollojen gibi konak proteinleri ve maya hücrelerinin morfolojileri, üreme fazları, yüzey özellikleri, diğer mikroorganizmalar ile etkileşimleri belirlemektedir. *C.albicans*, *C.tropicalis* epitel hücreleri ve fibrine aynı oranda bağlanırken, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.pseudotropicalis*, *C.guilliermondii* gibi diğer *Candida* türleri daha az bağlanma gösterirler. Son yıllarda birçok *Candida* adezinleri tanımlanmıştır. β 1,2 tetramannoz epitobu, 30 kD antijen, fimbria adezini, Als1-4/Ala 1p, Hwp1, Int 1p, fibronektin, laminin ve vironektin reseptörleri gibi(8).

A.fumigatus hiflerinden C₃b' ye bağı fagositozu inhibe eden bir faktör salgılandığı gösterilmiştir. Bu tür ayrıca ekstrasellüler matriks, laminin, fibronektin, fibrinojen, kollojen gibi serum proteinlerine de bağlanabilmektedir(9).

Dimorfik olan *Paracoccidioides brasiliensis* aktif olarak mukokutanöz, yüzeyle penetre olur. Konakçı savunmasından kaçarak derin dokulara ulaşır. Son yıllarda maya formunun yüzeyinde laminin reseptörü olan glikoprotein 43 saptanmıştır. Epitel hücre vero kültüründe özgül serum olan anti-gp43 kullanılarak adezyon inhibisyonu başarılmıştır(10).

Dimorfizm-Fenotip Değişimi: Mantarların hif oluşturması dokuda yayılma potansiyellerini artırmaktadır. Yapılan çalışmalarda, ana suş hakiki hif oluştururken, mutantların hif oluşturamadığı ve düşük virülans gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca fenotipik değişimin antifungal direnç ile ilişkili olabileceği ve antifungallerin subinhibitör konsantrasyonlarında fenotipik değişim sıklığını artırdığı yapılan çalışmalarda saptanmıştır(11).

C.albicans'ın hif oluşturması konak dokulara penetrasyonu ve makrofaj fagositozundan kaçmayı sağlamaktadır. *C.albicans*'ın virülansı fazla olan beyaz koloni geliştiren suşlarında flukonazol direnci saptanmıştır(12). *C.neoformans* suşları ile yapılan çalışmalarda koloni tipleri arasında fenotip değişimi saptanmıştır. Bu değişiklikler agar yüzeyine adezyonu ve sıvı besiyerinde bulanıklığı arttırmaktadır(8).

Proteinaz: *C.albicans*'ın hücre dışı enzimlerinden olan asit proteinazın adezyon ve invazyonda etkili olduğu, IgG, IgA gibi immünglobulinleri azalttığı, düşük pH' da aktif olması nedeniyle vajen kolonizasyonuna yardımcı olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir(13). *C.albicans* proteinazları ve lipazları en az 10 farklı gen tarafından kodlanmakta bu da enfeksiyonun farklı dönemlerinde özgül virülans faktörlerinin farklı ekspresyonunu sağlamaktadır. İnhibisyon çalışmaları ve mutantların kullanımı ile yapılan çalışmalarda bazı proteinazların deri ve mukoza enfeksiyonlarında, bazılarının ise sistemik enfeksiyonlarda önemli olduğu anlaşılmıştır(13).

A.fumigatus ve *A.flavus*' ın klinik izolatlarda; kollojen, fibrin, fibrinojen ve elastini parçalayan, mantarların adezyonunu ve penetrasyonunu kolaylaştıran, akciğer epitel hücrelerinde yıkıma neden olan IL-8, IL-6 ve monosit kemotaktik protein-1'i doza bağı indükleyen bir serum proteinaz enzimi saptanmıştır(9).

P.brasiliensis, bazal membranlar ile ilişkili çeşitli proteinleri nötral pH' da parçalayan serin-tiol proteinaz enzimi içerirken, *C.immitis* serin proteinaz aktivitesi içermektedir. Ayrıca *S.schenckii* de Proteinaz I ve Proteinaz II olmak üzere iki farklı proteinaz salgılamaktadır(8, 14).

Fosfolipaz–Lizofosfolipaz: Fosfolipazlar parçaladıkları özgül ester bağlarına göre A,B,C,D olmak üzere ayrılırlar. Mayanın blastosporları konak hücre membranına bağlanınca değişim uyarımı başlar ve üreme ucunda fosfolipazlar aktivitesinin yoğunlaşması ile hif gelişir. Hiflerin membran ile direkt teması enzim aktivitesini artırır ve hifler membranda yayılmaya başlar.

C.albicans fosfolipazlar'ında hem hidrolaz hem de lizofosfolipaz–**transaçilaz** aktivitesi vardır. *C.albicans*' in kandan izole edilen suşları yara ve idrardan izole edilenlerle kommensal suşlara göre daha fazla enzim sentezlerler, daha fazla germinasyon ve uzun germ tüp oluştururlar. Yapılan birçok çalışmada vulvovaginal kandidoz etkenlerinde daha fazla olmak üzere %80'lere varan oranlarda fosfolipaz üretimi saptanmıştır(8). Kandidemi etkenleri içinde önemli nosokomiyal patojen olan *C.glabrata* fosfolipazı ile persistan kandidemi arasında kuvvetli bir ilişki belirlenmiştir(15).

C.neoformans suşlarının kapsül kalınlığı ile enzim üretimi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Çok sayıdaki çalışmada *Aspergillus* türlerinde fosfolipaz A, B, C, D salgıladıkları, enzimin pnömosit sitolizini ve konak hücre harabiyeti ile *Aspergillus* türlerinin virulansını artırdığı bildirilmiştir (15).

Klinik önemi olan farklı mantar cinslerinin benzer fosfolipaz türü salgılamaları(başlıcası fosfolipaz B) bu hidrolitik enzimlerin universal virulans faktörü olarak kabul edilmelerini ve mantar enfeksiyonlarından korunmada(aşı çalışmaları), tedavide(sentetik fosfolipaz inhibitörleri) ve tanıda kullanılmalarını gündeme getirmiştir(12).

Mannan: Maya mannanları bir adezin olarak konak hücresinin tanınmasında ve konakta antikor cevabı oluşmasında çok önemlidir. Yakın zamanda Calderone ve arkadaşları *C.albicans*'ın mannan antijeninin hemolitik aktiviteye sahip olduğunu ve eritrositlerde mannan bağlayan protein bulunduğunu açıkladılar. Mannoprotein eritrositlerin erimesi ve demir salınımına neden olarak mikroorganizmanın üremesi için gerekli olan demiri sağlar ve konak biyosavunmasının azalmasında rol oynayabilir. Nitekim Hannula ve arkadaşları *C.albicans* suşlarının %81' inde demiri bağlayan siderofor üretimini göstermişlerdir(11).

Slime Faktör: Kateter enfeksiyonlarında mikroorganizmaların kateterlere adezyonu ve kolonizasyonunda gerekli olduğu bildirilen slime üretimi, *Candida*'lar için bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir. Özellikle de *C.parapsilosis* ile oluşan kateter ilişkili enfeksiyonların patogenezinde önemli olduğu vurgulanmaktadır. Ülkemizde *Candida*'ların klinik izolatları ile yapılan çalışmalarda değişik oranlarda(%11-72) slime üretimi saptanmıştır(16). Çalışmaların sonuçlarına göre slime faktör üretimi non-albicans türler için daha önemli gibi görünmektedir. Genetik ve moleküler yöntemlerin mikoloji alanına

uygulanması ile, virülans faktörlerin mantar infeksiyonlarının patogenezindeki kesin rolleri ve önemleri kısa zamanda daha da aydınlanacağı kesindir.

Ayrıca yukarıdakilerin haricinde bazı mantarlarda patogeneze ve virülansla etkili olduğu düşünülen diğer faktörler de vardır. *C.albicans*'in endotoksin benzeri toksinleri; *Aspergillus* türlerinin konidya inhibitör faktörü, kompleman inhibitör faktörü, gliotoksini, ribotoksini ve üreazı; *C.neoformans*'in kapsülü, üreazı, melanin sentezi ve mannitolü; *B.dermatitidis*'in hücre duvarı α -1,3 glukani, WI-1 adezin antijeni, hücre duvarı α -1,3 glukani, ısı toleransı ve üreazı; *P. brasiliensis*'in hücre duvarı b-glukan α -1,3-glukanı ve östrojen bağlayan proteinleri bu faktörlere verebilecek örneklerdir(17).

2. Mantarların Laboratuvar Tanısı ve Duyarlılık Testleri

2.1. Mantarların Laboratuvar Tanısı

Mantarların tanısında kullanılan yöntemler şunlardır: mikolojik laboratuvar çalışmaları, biyokimyasal testler, moleküler tanı yöntemleri, seroloji ve deri testleri.

2.1.1. Mikolojik laboratuvar çalışmaları: Birçok durumda, materyallerin taze ve boyalı preparatlarının mikroskopik değerlendirilmeleri, kültürde fungal üreme henüz belirgin değilken tanıya ulaşma olanağı verir. Örneğin, kriptokoksik menenjitin ön tanısında, BOS'nda kapsüllü ve tomurcuklanmış hücrelerin çini mürekkebi ile saptanmasının değeri büyüktür. Ayrıca tanı kriteri olarak, klinik bir örnekte mantar hücreleri gözlemlemek, kültürden izole etmekten daha değerli olabilir. Örneğin, dokuda *Aspergillus* türleri için karakteristik olan 45°C' lik açıyla dallanan septalı hipler görülürse, aspergilloz tanısı konulabilir. Buna karşın histolojik bir kanıt olmaksızın *Aspergillus*'un dokuda üretilmesi anlamsızdır. Çünkü *Aspergillus* türleri en sık gözlenen laboratuvar kontaminanları arasındadırlar. Bundan dolayı laboratuvarında en çok karşılaşılan sorunlardan birisi klinik örneklerde üreyen mantarların klinik bir öneminin olup olmadığını belirlemek ve rapor edilip edilmemesine karar vermektir. Laboratuvar verilerinin doğru yorumlanabilmesi için klinik ve laboratuvar işbirliğinin iyi kurulması gerekmektedir(18,19). Mantarların tanımlanmasında klinik örneğin uygun bir şekilde alınıp hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılması ve kültüre edilmesinin yanında diğer laboratuvar işlemlerinin yapılması gerekir(20). Bunlar klinik örneklerin direkt incelenmesi, kültür işlemi, kültürlerin incelenmesi ve mantarların identifikasyonu olarak özetlenebilir.

Klinik örneklerin direkt olarak incelenmesinde; KOH, çini mürekkebi ve kalkoflor beyazı preparasyonlarının yanısıra Giemsa ve PAS gibi birkaç boyama yöntemi de kullanılmaktadır.

Klinik örneklerin kültür işleminde besiyeri seçimi, inokülasyon, inkübasyon koşulları önemlidir. Sıklıkla kullanılan besiyerleri; Sabouraud-dekstroz-agar(SDA), SDA'nın Emmon modifikasyonu olan nötral SDA, kanlı beyin-kalp-infüzyon agar(BHI), sabouraud-BHI(SABHI) agar, inhibitory mold agar, mycosel agar(mikobiyotik agar), yeast extract-phosphate agardır. Klinik örnekler agar yüzeyine "C" şeklinde ekim yapılmalıdır. Böylece "C" şeklindeki ekim hattında bir üremenin varlığı bunun inokulumdan kaynaklandığını gösterecektir. Bu ekim biçimi laboratuarda sıklıkla gözlenen kontaminan olan mantarlardan ayrımı sağlayacaktır. Klinik örneklerden birçok patojen mantarın izole edilebilmesi için gereken optimal ısı 30°C'dir. Bir istisna olarak, *S.schenckii* 27-28°C'de, 30-35°C'den daha hızlı ürer. Tüm klinik örnekler için iki takım kültür hazırlanır ve bunlar hem 25°C'de hem de 37°C'de inkübe edilirler. Amaç, dimorfik mantarların iki ayrı formunda elde etmektir. Yavaş üreyen patojenlerin gelişmesine zaman sağlayabilmek için inkübasyon süresi en az 4-6 hafta olmalıdır. Mantarların üreme hızı büyük ölçüde inokulum miktarına bağlıdır. Mantarların çoğu %40-50 nemli ortamda daha iyi ürerler. Ayrıca burgu kapaklı tüplerin ağızları gevşek bırakılarak yeterli havalanma sağlanmalıdır. Kültürler inkübasyon süresince hergün ya da haftada en az üç defa maya veya küf üremesi açısından kontrol edilmelidir(21).

İlk izolasyonda kültürlerin identifikasyonu için taze bir preparasyon hazırlanır. Daha sonra da hifin ve sporların özellikleri mikroskop altında incelenir. Eğer kültürde oluşan sporlar, o türün karakteristik özelliğini yansıtıyorsa tür identifikasyonu da yapılabilir. İlk izolasyon aşamasında organizmanın tür düzeyinde identifikasyonu sadece birkaç maya türü için olanaklıdır. Örneğin, niger seed agardaki primer BOS kültüründe koyu-kahverengi koloniler oluşmuş ve bunları oluşturan da 37°C'de iyi üreyebilen kapsüllü yuvarlak-oval yapıda maya hücreleri ise, kesin bir kriptokokkoz tanısı yapılabilir(21).

Steril olmayan bölgelerden alınan örneklerden elde edilen izolatların saf görünseler bile kontaminan organizmaları içerebilecekleri unutulmamalıdır. Ayrıca steril bölgelerden alınan materyaller genelde kontaminan değildir. Ancak elde edilen izolatların saflığından emin olunmalıdır. Bundan dolayı kültürlerin saflaştırılması gerekmektedir.

Bakteri ya da küflerle veya başka mayalarla kontamine olmuş maya kültürlerinin saflaştırılması ya seyreltme ekimleri yada saflaştırma yöntemi ile olmaktadır. Seyreltme ekimleri en az iki adet olmak üzere SDA plaklarına yapılır. Maya kolonileri oluştuktan sonra tek bir koloniden bir parça alınır ve bunu bir damla laktofenol ile karıştırılıp immersiyon objektifinde incelenir. Koloni saf görünmüyorsa, izole edilmiş bir koloniden benzer şekilde yöntemin tekrar edilmesi gerekir. Bu yöntem ile saf olarak maya izolasyonuna çalışılır.

Saflaştırma yönteminde ise tek bir koloniden bir parça alınıp serum fizyolojik veya distile sudaki süspansiyonu hazırlandıktan sonra SDA plaklarına ekilmesiyle saf koloniler elde edilmeye çalışılır.

Maya veya bakterilerle kontamine olmuş filamentöz mantarların saflaştırılma yöntemi ise; *Aspergillus* veya *Penicillium* türlerinde olduğu gibi, eğer koloniler dik konidiyoforlar üzerinde baskın şekilde konidyumlar oluşturmuşlarsa, disekan bir mikroskop altında steril iğne uçlu bir özeyele bu konidyum kümelerine dokunup SDA'ya seyreltme ekimi yapılır. Eğer mantar üremesi esas olarak hiflerden oluşmuşsa, bu hiflerin uç kısımları alınarak ekim yapılmalıdır. Kontaminasyon yoğun ise bu işlemlerin birkaç defa yapılması gerekir.

Mantarların identifikasyonunda bir mantar saf bir kültür halinde izole edildikten sonra, üreme hızı, koloni morfolojisi, mikroskopik morfolojisi ve biyokimyasal özellikleri gibi kriterler kullanılmaktadır.

Koloni morfolojisi mayayı filamentöz mantarlardan ayırmada ilk kriterdir. Hamur görünümlü koloniler oluşturan mantarların genellikle mayalar olmasına karşın bunların bazı istisnaları da vardır.

Filamentöz mantarların identifikasyonunda kullanılan kriterler koloni morfolojisi ve rengi, dimorfizm, üreme hızı, üreme ısısı, lam kültürüyle eşeysiz sporların gözlenmesi, biyokimyasal testler, ekzoantijen testleri ve nükleik asit hibridizasyon testleridir.

Mayaların identifikasyonu ise koloni morfolojisi, üreme ısısı, mikroskopik morfoloji gibi kriterlerle birlikte, *C.albicans* için germ tüp testi ve klamidospor oluşumu ile yapılmaktadır(21).

a. Germ tüp testi: *C.albicans*'ın identifikasyonunda kullanılan ilk yöntemlerden biridir. Klinik örneklerden ilk saptanan *C.albicans* izolatlarının % 90'ından fazlası serumda 37°C'de 2-3 saat inkübe edildiklerinde germ tüp oluşturmaktadırlar. Maya hücrelerinden direkt olarak oluşan ve kısa bir hif başlangıcı olan germ tüpler septumlarında boğumlanmanın olmamasıyla yalancı hiflerden ayrılırlar. *Geotrichum* ve *Trichosporon* da jermantasyon gösteren artrokonidyumlarda bazen *C.albicans*'ın yaptığı germ tüpe benzeyen ve elongasyon gösteren tüpler oluşturur. Ancak *C.albicans* jermantasyon gösteren hücrelerin yanısıra aktif olarak tomurcuklanma gösteren hücrelerde oluşturmaktadır.

Bakteri ile kontaminasyon germ tüp oluşumunu bozduğu için bu test saf olmayan kültürlerle yapılmamalıdır. İnokulum miktarı, kullanılan besiyeri ve ısı da sonuçları etkilemektedir. İnsan ve hayvan serumları bu amaç için kullanılabilir. Germ tüp oluşma derecesi inokulumun ml'sinde 10^5 - 10^6 maya hücresi bulunduğu en yüksek düzeyde gerçekleşmekte; hücre konsantrasyonu arttıkça da germ tüp formasyonu azalmaktadır. Germ

tüp oluşturan bir *C.albicans*'ın pozitif, *C.tropicalis*'in de negatif kontrol olarak kullanılması önemlidir(21). Testin yapılışı materyal metotta anlatılmıştır.

b. Klamidospor oluşumu: Klamidosporlar çok sayıdaki mantar türü tarafından oluşturulmaktadır. *C.albicans* izotlarının büyük çoğunluğu(>%90), mısırunu agar ya da pirinçli-Tween 80 agarda kültüre edildikleri zaman karakteristik klamidosporlar oluştururlar. Bu özellik *C.albicans* için germ tüp oluşumu kadar tipiktir. *C.tropicalis* ise 25°C'de birkaç gün inkübe edildikten ve bir haftadan fazla bir süreyle 4°C'de bırakıldıktan sonra klamidospor oluşturabilir. *C.tropicalis*'in oluşturduğu klamidosporlar kalın bir duvarın olmaması ve sitoplazma içerisinde yansıma yapan globüllerin bulunmamasıyla *C.albicans*'ın oluşturduklarından farklılık gösterir. Klamidospor oluşumu için en sık kullanılan yöntem pirinç ekstresi veya mısırunu -Tween 80 lam kültürü ve Dalmau plak tekniğidir(21). Testin yapılışı materyal metotta anlatılmıştır.

2.1.2. Biyokimyasal Testler: Mantarların biyokimyasal özelliklerini belirlemede kullanılan testler şunlardır: Karbonhidrat asimilasyon testi, üreaz testi ve fenoloksidaz testi.

a. Karbonhidrat asimilasyon testi: Karbonhidratları kullanma yetenekleri de dahil olmak üzere biyokimyasal özellikler, *C.albicans* ve *C.neoformans*'ın birçok izolatu dışında tüm mayaların identifikasyonu için gereklidir. *C.neoformans*'ın bir çok izolatu fenoloksidaz ve üreaz içermelerinin yanısıra 37°C'de üreme yeteneğine sahip olma özellikleriyle identifiye edilebilirken fenoloksidaz içermeyen izolatlar(sık değildir) karbonhidrat kullanım özellikleri yönünden test edilmelidirler.

Klasik olarak mayaların karbonhidrat kullanma özellikleri Wickerham'ın asimilasyon ve fermentasyon yöntemleriyle incelenir. Klinik laboratuvarların çoğunda bu testlerin yerini hazır ticari test sistemleri almıştır. Bunların içerisinde en yaygın kullanılanları API sistemleridir. Yine de, nadir durumlarda, sık karşılaşılmayan izolatların kesin tanısında ya da yeni bir türün tanımlanmasında Wickerham yöntemine de gereksinim duyulmaktadır. Wickerham'ın fermentasyon sıvı besiyeri ticari olarak da elde edilebilir Ticari yeast-nitrogen-base agar kullanılarak uygulanan oksanografik yöntem sıvı besiyerinde uygulanan yöntemle göre daha iyidir(21).

b. Üreaz testi: Üreyi hidrolize edebilme yeteneği, *Basidiomycota* sınıfı mayaların ortak biyokimyasal özelliklerinden birisidir. *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ve *Trichosporon* türleri üreaz oluştururlar ve bu enzimin varlığı Christensen'in üre agarı veya Bacto Urea R Broth(Difco) kullanılarak hızla saptanabilir(21). Bu test; klinik önemi olan *Candida* türlerini diğer mayalardan ayırmaktadır. Çünkü *Candida* cinsi içerisinde klinik önemi olan türlerin büyük çoğunluğu üreaz-negatif türleri içermektedir. Testte pozitif ve negatif reaksiyon

kontrollerinin kullanılması önemlidir. *C.neoformans*, *C.laurentii* veya *C.albidus* gibi *Cryptococcus* türleri üreaz-pozitif kontroller olarak kullanılabilir. *C.albicans* veya *C.tropicalis* de negatif kontroller olarak kullanılabilir.

c. Fenoloksidaz testi: Fenoloksidaz enzimi O-difenolik bileşiklerin oksidasyonunu katalize eder. Mayalar bu bileşikleri içeren besiyerinde üretildikleri zaman substrata bağlı olarak beş gün içerisinde koyu kahve-siyah renkli koloniler oluşturur. Kontrol kültürü için tipik özellikler sergileyen *C.neoformans* izolatının kullanılması önerilmektedir. Ekim yapılacak plak ve tüpler 30°C’de inkübe edilmelidir. Çünkü pigment gelişimi yüksek ısılarda daha yavaş olmaktadır.

2.1.3. Moleküler tanı yöntemleri: Nükleik asit prob tekniği kullanılarak *C.neoformans*’ın kültürden sonra identifikasyonunu sağlayan *C.neoformans* AccuProbes(Gen Probe) tekniği, klinik örneklerden *C.albicans*’ın 5S rDNA kromozomal DNA’daki transkripte edilmeyen bölgenin primeri olarak kullanıldığı bir PCR tekniği ve kandan *C.albicans*’ın saptanmasına yönelik olarak hedef DNA’daki türe spesifik 125-bp’ lik bir bölgeyi çoğaltmayı amaçlayan PCR tekniği tanımlanmıştır(21-23).

2.1.4. Serolojik testler: Fungal serolojik testler ise genellikle fikir verici ya da kültür ve histopatolojik bulguları destekleyicidir. Mantar infeksiyonlarında serolojik testlerin kullanımı özellikle *Candida* infeksiyonlarının tanısına yöneliktir. Küfler için bu testlerin kullanımı daha kısıtlıdır. Son zamanlarda rutin laboratuvarlar için ticari ürünler dışında özellikle referans laboratuvarlarında kullanılır(21-23).

2.1.5. Deri Testleri: Deri testleri etken mantara ilişkin antijenlerin deri içine verilmesiyle yapılır. Tanı koymak, epidemiyolojik çalışmalar yapmak ve bazende hastalığın seyrini izlemek amacıyla uygulanırlar. Geç tip aşırı duyarlılığı göstermek amacıyla da deri testlerinden yararlanılabilir. Dimorfik mantar infeksiyonlarında uygulanan deri testlerinde, çapraz reaksiyona bağlı yalancı pozitif sonuçlar alınabilir(21,23).

2.2. Antifungal Duyarlılık Testleri:

Yeni antifungal ilaçlar olan triazolollerin ve amfoterisin B’nin klinik kullanımlarındaki artış nedeniyle, antifungal ilaçların bir ya da daha fazlasına karşı primer ve sekonder direnç gelişmektedir. Bundan dolayı antifungal ilaçların invitro duyarlılıklarını ölçen testlerin önemi artmaktadır.

Antifungal duyarlılık testleri; etken mikroorganizmaya karşı etkili olduğu bilinen antifungal ilaç ile tedaviye yanıt alınmadığı durumlarda, alternatif ilaçların araştırılmasının gerektiği ve özellikle seçilen ilaçlara karşı mantarın direnci olduğu bilinen durumlarda (örneğin *C.lusitaniae* ile amfoterisin B), flusitozin ile tedavi varsa(direnç sıklıkla

görülmektedir), yeni ilaçların kullanıldığı durumlarda, ağır immun sistem yetmezliği bulunan hastalarda sistemik infeksiyon geliştiği zaman invitro ve invivo(klinik) uyumun belirlenmesini amaçlayan durumlarda uygulanmalıdır.

İdeal olarak invitro duyarlılık testleri; iki yada daha fazla ilacın aktivitesinin güvenilir olarak ölçülmesini, İlaçların invivo aktiviteleri ile uyumlu ve tedavi sonuçlarını ölçebilmeyi, normal olarak duyarlı organizma topluluğu içindeki direncin gelişmesinin izlenmesini, yeni geliştirilen deneysel ilaçların tedavi edici güçlerini ölçebilmeyi sağlamalıdır.

İnvitro antifungal duyarlılık testlerinin sonuçları, testte kullanılan teknik, mantar ve antifungal ajanın özellikleri ile yakından ilişkilidir(24).

Mayaların antifungal duyarlılık testlerinin standardizasyonu için NCCLS tarafından 1982 yılında kurulan bir alt komite, antifungal duyarlılık testlerinin standardizasyon çalışmalarını ortak bir görüş olarak M27-P, M27-T, M27-A belgeleri ile yayınlamıştır. Komite, 1986 yılında buyon(sıvı) makrodilüsyon yönteminin standardizasyon çalışmaları ile ilgili bilgileri ve 1992 yılında M-27 belgesini yayınlamıştır(24-26). Ayrıca M27-P belgesiyle *Candida* türleri ve *C.neoformans* için makrodilüsyon yöntemini referans yöntem olarak bildirilmiştir(26). 1995 yılında M27-T belgesiyle antifungal ilaçlar için kalite kontrol suşları ve alternatif mikrodilüsyon yöntemini ve 1996 yılında M27-A belgesiyle antifungal ilaçlar için uyumlu inhibisyon konsantrasyonlarını geliştiren çalışma sonuçları ve referans yöntemi için bazı özel koşullarda uygulanması önerilen değişiklikler bildirilmiştir(27).

a. Referans Buyon Makrodilüsyon Testi: NCCLS standart makrodilüsyon yönteminin ayrıntıları çeşitli yayınlarda açıklanmıştır(25,27-29). Bu yöntem, yalnızca *Candida* türleri, *C.glabrata* ve *C.neoformans* için standardize edilmiştir. Dimorfik mantarların maya şekillerinde ve filamantöz(küf) mantarlarda uygulanmamıştır. Özellikle küflerde çeşitli sorunlar ortaya çıkmaktadır. Buyon makrodilüsyon testi, mantar izolatlarına karşı tüm antifungallerin test edilmesi için yeterli bir yöntemdir. Ancak çalışılacak örnek sayıları az olan küçük laboratuvarlar için uygundur(24).

Besiyeri Hazırlanması: Tamamen sentetik besiyeri önerilmektedir. Glutamin ve pH indikatörü içeren bikarbonatsız RPMI 1640 besiyeri, 0.165M MOPS(3-N-morfolinopropan sulfonik asit) ile tamponlanır. 10.4g toz besiyeri 900ml distile suda eritilir. 34.53g MOPS ilave edilir. Eriyene kadar karıştırılır. PH, 25°C'de 7.0 olmalıdır(1 mol/lit NaOH ile ayarlanır). Son hacim 1lt oluncaya kadar su ilave edilir. Filtre ile steril edilir ve 4°C'de saklanır. Tüm mayalar için testte kullanılan besiyerine 20gr/lt glukoz ilavesi MİK son noktasının saptanmasını kolaylaştırmaktadır. Antibiotic Medium3 Besiyeri *Candida* türlerindeki amfoterisin B direncini saptanmada daha iyi sonuç vermektedir. Ancak bu besiyeri

standardize edilmemiştir. *C.neoformans* için Yeast Nitrogen Base Besiyeri üremeyi artırması ve MİK'in invivo uyumunu sağlaması nedeni ile kullanılabilir(24).

İlaç Solüsyonları: Bazı antifungal ilaçlar suda çözülmeyp dimetil sülfoksit(DMSO), dimetil formamit(DMF), etil alkol, polietilen glikol ve karboksimetilselülozda eriyebilmektedir. İlaçların stok solüsyonları su veya özel çözücülerde teste kullanılacak en yüksek konsantrasyonun en az 10 veya 100 katı konsantrasyonlarda hazırlanmalıdır. Stok solüsyonların steril olması gerekir. Sterilasyon için membran filtreler önerilmektedir. Steril stok solüsyonlar, steril polipropilen veya polietilen şişelerde küçük miktarlarda -20°C ile -60°C arasında saklanabilir. Kalite kontrolü için referans ve kalite kontrol suşları kullanılmalıdır. Stok ilaç solüsyonlarından teste kullanılacak son konsantrasyonlarının 10 katı (suda eriyen flukonozal ve flusitozin için besiyeri) veya 100 katı (suda erimeyen amfoterisin B ve azoller için özel çözücüler ile) olarak iki kat seri sulandırılmalar halinde ara konsantrasyonlar hazırlanır. Suda erimeyen ilaçlar daha sonra test besiyeri ile 1:10 oranında sulandırılır. Tüm konsantrasyonlar test sırasında 1:10 oranında maya inokulumu ile karıştırıldığı zaman son konsantrasyonlar elde edilir.

Maya İnokulumunun Hazırlanması: Sabouraud dekstroz agarda 35°C 'de mayaların 24-48 saatlik kültürleri yapılır. Üreyen $>1\text{mm}$ çapındaki kolonilerden beş koloni alınarak 5 ml steril serum fizyolojik içinde süspansiyonu yapılır. 15 saniye vortekste karıştırılan süspansiyondaki hücre yoğunluğu spektrofotometrede(530 nm) 0.5 Mc Farland standardına göre ayarlanır. Böylece stok maya süspansiyonunda $1-5 \times 10^6$ maya/ml bulunur. RPMI 1640 sıvı besiyeri ile 1:2000 oranında sulandırılarak son konsantrasyon $0.5-2.5 \times 10^3$ maya/ml elde edilir.

Testin Yapılışı: 12x75mm'lik tüplere antifungal ilaçların 10xson konsantrasyonlarından 0.1ml konur. Hazırlanan maya inokulumu 15 dakika içinde ilaç sulandırım serisini içeren tüplere 0.9ml olarak ilave edildikten sonra tüpler karıştırılır. Kalite kontrol ve referans suşlar içinde aynı yöntem uygulanır. Böylece antifungal son konsantrasyonları elde edilmiş olur. Kontrol olarak üreme kontrolü(0.9ml inokulum + 0.1ml ilaçsız besiyeri), kalite kontrolü(kalite kontrol ve referans suşları kullanılır) ve sterilit kontrolü(1 ml ilaç içermeyen besiyeri) yapılır.

Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi: MİK değerleri görsel ölçülür. Üreme olup olmadığı üreme kontrol tüpüne göre değerlendirilir. Amfoterisin B için MİK değeri üremenin %100 önlediği konsantrasyondur(MİK-0). Flusitozin ve flukonozal, ketokonozal gibi azoller için MİK değeri, bu antifungallerde görülen kısmi inhibisyon nedeni ile laboratuvarlar arasında farklı sonuçlar elde edildiğinden, üremenin %80 önlediği en düşük konsantrasyondur(MİK-

2). MİK-2 değeri, üreme kontrol tüpünden 0.2ml alınıp üzerine 0.8ml besiyeri ilavesi ile elde edilen bulanıklık ile karıştırılarak ölçülebilir.

b. Buyon Mikrodilüsyon Testi: Buyon makrodilüsyon testinin aynı ilkelere dayanan, az miktarlarla çalışılan uyarlamasıdır. Çalışmalarda her iki yöntem arasında çok iyi uyum olduğu görülmüştür. Birçok mikoloji laboratuvarlarında yapılması daha kolay, daha az zaman alıcı, daha ucuz ve 24 saatte sonuç alınabilmesi gibi özellikleri nedeni ile makrodilüsyon testine tercih edilmektedir(24). Besiyeri hazırlanması, maya inokulumunun hazırlanması, testin yapılışı, test sonuçlarının değerlendirilmesine materyal-metodda geniş olarak yer verilmiştir.

2.2.1. Filamentöz Mantarların(Küflerin) Antifungal Duyarlılık Testleri:

Filamentöz mantarların antifungal duyarlılık testlerini standardize etmek amacı ile NCCLS'ın M24-P ve M24-T belgesellerine göre buyon makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak çalışmalar yapılmaktadır. Laboratuvarlar arasında makrodilüsyon testi %77-100 ve mikrodilüsyon testi %80-95 oranlarında uyumlu bulunmuştur(24).

İnokulum hazırlanması: Küfler patates-dekstroz-agarda 35°C'de 7 gün üretilir. Agar yüzeyinden alınan mantar 2ml %0.85 serum fizyolojik ile karıştırılır. 3-5 dakika ağır partiküllerin çökmesi için bekletilir. Konidia içeren üst homojen kısım 15 saniye vortekste karıştırılır. İnokulum miktarı spektrofotometrik olarak 530nm'de %68-82 geçirgenliğe göre ayarlanır. Küflerin antifungal duyarlılık testleri için sadece konidial inokulum yaklaşık 0.5-5x10⁴ CFU/ml olarak belirlenmiştir. Referans yöntemde kullanılan kalite kontrol suşlarına *Paecilomyces variotti* ATCC 22319 suşu ilave edilmiştir.

İnkübasyon ve test sonuçlarının değerlendirilmesi: Tüm tüpler ve mikrodilüsyon plakları 35°C'de inkübe edilir. Üreme kontrol tüpü veya çukurunda üreme görülünceye kadar her gün incelenir. Üreme görülünce tüpler 10 saniye vortekste karıştırılır. Üreme kontrol tüpü ile karşılaştırılarak 0-4 arasında skorlanır; 0: üreme yok, 1: %75 üremede azalma, 2: %50 üremede azalma, 3: %25 üremede azalma, 4: üremede azalma yok. Küfler için MİK değerini saptamada makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemlerinde üremenin %75 azaldığı MİK-1 skoru kabul edilmektedir.

2.2.2. Kullanılan Diğer Yöntemler:

a. Agar difüzyon testi: Polietilen bileşiklerinin stabilitelerinin kaybı, azollerin değişik çözünürlükleri, bu testin antifungallere uygulanmasını sınırlamaktadır. Flusitozin bu yöntemde adapte edilebilmiştir. *C.albicans* izolatları için 1µg flusitozin diskleri standardize edilmiştir. Laboratuvarlar arasında disk testi %84 uyumlu bulunmuştur(24).

b. Agar dilüsyon testi: Flusitozin ve imidazollerin bu test ile verdikleri sonuçlar yüksek oranda inokulumun büyüklüğüne, inkübasyon zamanına ve testte kullanılan besiyerine bağlıdır. *C.albicans* suşlarında imidazollere direnci göstermeyebilmektedir. Poliyen grubu ilaçlarda ise buyyon dilüsyon testleri ile uyumlu sonuçlar vermektedir. Agar dilüsyon testi, mayalardan ziyade küfler için uygun bir yöntem olarak önerilmektedir(24).

2.2.3. Geliştirilen Yeni Yöntemler: Makrodilüsyon testi zaman alıcı, fazla malzeme gerektiren, pahalı ve rutin laboratuvarlar için pratik olmayan bir testtir. Mikrodilüsyon testinde MİK değerlerini saptamada sorun çıkabilmektedir. Bundan dolayı E test ve kolorimetrik MİK yöntemi gibi yeni test yöntemleri geliştirilmiştir(24).

a. E test: Plastik strip üzerine çeşitli konsantrasyonları emdirilen antifungal ilacın agarlı besiyerine geçişi ile gerçekleştirilen ve MİK değerini saptayabilen bir difüzyon yöntemidir. *C.albicans* ve diğer bazı *Candida* türlerinin flusitozin ve özellikle azollerle yaygın inhibisyon son noktası vermesi, MİK son noktasının belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu testin referans makrodilüsyon MİK değerleri ile karşılaştırıldığında amfoterisin B, itrakonazol, flukonazol ve flusitozin için %86-100 oranında uyumlu bulunmuştur. Ketokonazolde uyum daha düşük oranlardadır. Besiyeri hazırlanması, maya inokulumunun hazırlanması, testin yapılışı ve test sonuçlarının değerlendirilmesi materyal metotta bahsedilmiştir.

b. Kolorimetrik MİK testleri: Mikrodilüsyon yöntemini esas alan ancak MİK okunması için kolaylık ve daha objektif son nokta elde edilmesini sağlamak amacı ile ortama bir oksidasyon-redüksiyon indikatörü ilave edilen yöntemlerdir. İndikatör olarak Alamar mavisi, tetrazolyum tuzları ve sodyum resazurin kullanılmaktadır. Bu yöntem, üremenin görsel değerlendirildiği yöntemlere göre daha üstün görülmektedir.

2.2.4. Ticari antifungal duyarlılık sistemleri: Son zamanlarda antifungal duyarlılık testlerinin hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılmasını sağlayan kullanıma hazır ticari kitler ve sistemler geliştirilmektedir. Bunlar arasında Mycototal, Mycostandard, ATBfungus ve Candifast mikrodilüsyon yöntemini esas alan ticari sistemlerdir. Diff testi, antifungal ajanlarla doyurulmuş disklerle ve iki ayrı besiyerinde uygulanan bir disk difüzyon testidir. Ayrıca kromojenik agar tarama testlerinin, flow sitometrinin, otomatize kan kültür sistemlerinin kullanıldığı çeşitli yöntemler de geliştirilmiştir(24).

3. Mantarların Klinik Önemi

Doğada yaygın olarak bulunan mantarlar genellikle ciddi enfeksiyonlara yol açmazlar ve dolayısı ile patojen olarak da sık görülmezler.

Son 20 yılda daha önce saprofit olarak düşünülen bir çok mantarın yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara yol açtığı görülmektedir. Başta hematolojik maligniteler olmak üzere diğer kanserler, konjenital ya da akkiz immun yetmezlikler ve bağ dokusu hastalığı olan hastaların prognozlarının düzelmesi, yaşam sürelerinin uzaması, organ transplantasyonlarının daha fazla yapılması, kardiyak cerrahi gibi uzun süren cerrahi girişimlerin artması, yenidoğan ve erişkin yoğun bakım ünitelerinin gelişerek genel durumu bozuk olan hastaların daha fazla izlenmesi, geniş spektrumlu ve birden fazla antibiyotik kullanımının fazlaşması ve yapay aletlerin kullanımının daha fazla yaygınlaşması, hastanede yatan popülasyonu değiştirerek bu hastaların bir çok fırsatçı mikroorganizmaya karşı duyarlı olmasına yol açmıştır. Fırsatçı patojenler arasında ise en önemli yeri mantarlar almıştır. Ayrıca ileri derecede hastalığı olup hastanede izlenmesi gereken grupta da genellikle hastalık oluşturmaları nedeniyle, fırsatçı patojen olma özelliklerine nosokomiyal patojen olma özelliği de eklenmiştir(30).

3.1. Mantarların Hastane Enfeksiyonlarındaki Yeri

Bir flora üyesi olarak başlıca deri, sindirim sistemi ve genitoüriner sistemde yer alan özellikle maya mantarlarından *Candida*'ların ve doğada sporlar halinde bulunan *Zygomycetes* grubundan *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, *Rhizomucorlar*, *Fusarium* türleri ve esmer mantarlar gibi insanda hastalık etkeni pek çok mantarın nosokomiyal enfeksiyona yol açabileceği belirlenmiştir(31). Ayrıca pek çok maya ve küf mantarı da nosokomiyal fungal enfeksiyon etkeni olarak klinik örneklerden soyutlanmaktadır.

Nosokomiyal enfeksiyonlar, ciddi morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. Aynı zamanda aileye, hastane ve ülkeye ekonomik zararlar getiren, sağlık sektörünün önemli sorunlarından biridir. Bu sorun modern tıptaki bir çok yeni gelişmelere karşın giderek büyümektedir. Dünya Sağlık Örgütü' nün verilerine göre hastane enfeksiyonlarının oranı %10 dolayında olup, Türkiye'de %1.5-9.2 arasındadır(32-37). Buna paralel olarak hastane enfeksiyonlarına neden olan etken mikroorganizmalar çeşitli faktörlere bağlı olarak periyodik değişimler gösterebilmektedirler. Son yıllarda gram olumlu ve olumsuz bakteriler dışında genel olarak hastane enfeksiyonlarındaki insidansında ve etken spektrumunda artışlar ile mantarlar önemli nosokomiyal patojenler durumuna gelmişlerdir. ABD'nin Ulusal Nosokomiyal Enfeksiyon Sürveyansı'nın verilerine göre, hastane enfeksiyonlarına neden olan etkenler arasında koagülaz negatif stafilkoklardan sonra en fazla artış başta *Candida* türleri olmak üzere, mantarlarda saptanmıştır. Ayrıca Ulusal Nosokomiyal Enfeksiyon Sürveyansı'nın

raporlarına göre nosokomiyal infeksiyonlara yol açan etkenlerin %10.4'ünü mantarlar oluşturmaktadır. En fazla izole edilen fungal patojen ise *C.albicans*(%59,8) olmuştur. Bunu diğer *Candida* türleri(%18.6), *Aspergillus* türleri(%13), *Torulopsis*(%7.3) ve diğer mantarlar(%13) izlemiştir(30). Türkiye'de bir çok hastanede aktif surveyans yapılmadığından ve bu konuda henüz bir organizasyon olmadığından gerçek sayılar tam olarak bilinmemekle birlikte surveyans yapan az sayıda hastaneden elde edilen verilerle nosokomiyal infeksiyonlara yol açan etkenlerin %5-12'sini *Candida* türleri oluşturmaktadır(30,32-37). Nosokomiyal kandidemi olgularında en fazla izole edilen fungal patojenler ise *C.albicans* >*C.tropicalis*>*C.glabrata*>*C.parapsilosis*>*C.krusei*'dir(38).

Mantarların yaptığı nosokomiyal infeksiyonlar endojen ve ekzojen kaynaklıdır. Endojen kaynaklı etkenler genel olarak maya mantarlarıdır. Endojen infeksiyonların sıklığını alta yatan hastalık, antibiyotik kullanımı ve invaziv girişim gibi bazı faktörler etkilemektedir. Son zamanlarda endojen nosokomiyal fungal infeksiyon etkeni olarak soyutlanan *C.albicans*'ın oranı gittikçe azalmaktadır. Bunun başlıca nedeni profilaktik ve ampirik olarak antifungallerin, özellikle kolay uygulanması nedeni ile azol türevlerinin verilmesi etken dağılımını değiştirmektedir. Ekzojen kaynaklar ise, başta sağlık personelinin elleri, kontamine biyomateryaller ve sıvılar, diğer tıbbi araç ve gereçlerdir. En önemli risk faktörleri, katater ve uzun süreli hiperalbuminasyondur. Kataterle ilişkili infeksiyonlarda etken olarak daha çok *C.parapsilosis* soyutlanmaktadır(39). Hiperalbuminasyon uygulanan hastalarda infeksiyon etkenleri ise lipofilik özelliği olan ve derinin florasında bulunan *Pityrosporum* türleri ile *C.parapsilosis*'dir(31).

Nosokomiyal infeksiyonlardan sorumlu küfler ise sporları doğada yaygın olan *Hyalohyphomycetes* türleri(*Aspergillus*), *Zygomycetes* türleri(*Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*), *Fusarium* türleri ve nadir fırsatçı küflerdir. İnfeksiyon etkeni olarak en sık soyutlanan etken ise *Aspergillus*(*A.flavus*, *A.fumigatus*, *A.niger*, *A.terreus*)'lardır(38).

Mantarların nosokomiyal infeksiyonlarda gittikçe artan insidansı, etken spektrumunun çok çeşitli oluşu, antifungal duyarlılık testlerinin bazı mayalar dışında standardize edilememiş olması, antifungallerin invitro duyarlılığı her zaman in vivo uyumlu olmayışı, uzun süre yatak işgaline neden oluşu, mortalitesinin yüksek oluşu ve tanı ve tedavideki sorunların devam ediyor olması ile önemli mortalite nedeni olarak yerini korumaktadır(31). Bu nedenlerden dolayı mantarların etken olduğu nosokomiyal infeksiyonlar önemli hale gelmiş olup ilgili bilimler ve sağlık elemanlarınca epidemiyolojik surveyans çalışmaları ve takibi yapılması gerekmektedir(38).

4. Mantarların Yaptığı İnfeksiyonlara Genel Bakış

Mantarlar allerjik ve toksik tablolar yanında yerleştikleri bölgeye göre yüzeysel, subkutan ve sistemik infeksiyon(mikoz) tabloları oluştururlar. Bundan başka , modern tıbbın insan hayatını uzatmaya yönelik çalışmaları sonucunda son yıllarda fırsatçı mantarların etken olduğu fırsatçı mikozlar da görülmektedir. Başlıca mikoz ve etkenleri tablo 3'de özetlenmiştir(40).

4.1. Alerjik tablolar: İnsanlar doğadaki mantar sporları ile sürekli karşı karşıyadır. Bazı güçlü allerjen olan sporlar yoğun hipersensivite reaksiyonuna neden olurlar. Klinik bulgular genelde konağın immun yanıtına; mantarların partikül büyüklüğü, antijenitesi ve inokulum miktarı gibi özelliklerine bağlıdır. En sık karşılaşılan mantar allerjenleri *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Micropolyspora*, *Aerobasidium*, *Cryptostroma* türleridir(40).

4.2. Toksik tablolar: Çeşitli mantarların sekonder metabolitleri insanlarda ve hayvanlarda toksik tabloların ortaya çıkmasına neden olabilir. Mantarlarda toksinlerin yapımını; ortamdaki besin maddeleri, sıcaklık, nem, pH, oksijen varlığı, ürünlerin depolama süresi gibi faktörler etkiler. Aflatoksin ve diğer karsinojenik toksinler *Aspergillus* ve *Penicillium*'un değişik türlerince oluşturulmaktadır(40).

4.3. Yüzeysel mikozlar: İnfeksiyonlar deri, saç ve tırnağın dış tabakalarında sınırlıdır. Çok nadiren immun reaksiyona neden olurlar. Yüzeysel mikoz ve etkenleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

4.4. Subkutan mikozlar: Etken olan mantarlar, ayak veya bacaklara olan travmalar sonucunda yaralanmış deriden girerek subkutan bağ dokusuna yerleşerek kronik ve granümatöz infeksiyonlara neden olurlar. Lezyon genellikle derialtı dokusu ile sınırlıdır. Nadiren sistemik yayılım gösterir. Subkutan mikozlar ve etkenleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

4.5. Sistemik mikozlar: Etken mantarların, sporlarının inhalasyonu ile akciğerde birincil akciğer mikozunu yaptıktan sonra kan ve lenf yoluyla yayılarak, diğer organlarda ve deride granümatöz infeksiyon odaklarının oluşumuna yol açarlar. Bunlar histoplazmoz(*H.capsulatum*), blastomikozu(*B.dermatitidis*), koksidiomikoz(*C.immitis*) ve parakoksidiomikoz(*P.brasiliensis*)'dur(Tablo 3). Tüm sistemik mikozlar, endemik olarak yeryüzünün sınırlı bölgelerinde görülürler. Orta Avrupa bu bölgelerin dışındadır.

Tablo 3: Başlıca mikoz ve etkenleri

Mikoz tipi	Etkenleri
Yüzeysel mikozlar	
Pityriasis versicolor	<i>Malassezia furfur</i>
Tinea nigra	<i>Exophiala werneckii</i>
Beyaz piedra	<i>Trichosporon beigeli</i>
Dermatofitoz	<i>Trichopyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>
Kandidoz	<i>Candida türleri</i>
Subkutan mikozlar	
Miçetom	<i>Madurella</i> <i>Pseudoallescheria boydii</i> <i>Exophiala jeansselmei</i> <i>Acremonium falciforme</i>
Kromoblastomikoz	<i>Fonsecaea</i> <i>Cladosporium carrionii</i> <i>Phialophora verrucosa</i> <i>Rhinoctadiella aquaspersa</i>
Feohifomikoz	<i>Exophiala jeansselmei</i> <i>Phialophora richardise</i> <i>Bipolaris spicifera</i> <i>Wangiella dermatitidis</i>
Sporotrikoz	<i>Sporothrix schenkii</i>
Lobomikoz	<i>Loboa lobo</i>
Sistemik mikozlar	
Histoplazmoz	<i>Histoplasma capsulatum</i>
Blastomikoz	<i>Blastomyces dermatitidis</i>
Parakoksidioyidomikoz	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Koksidimikoz	<i>Coccidioides immitis</i>
Fırsatçı mikozlar	
Mukormikoz	<i>Mucor (Zigomikoz, Fikomikoz, Rhizopus, Absidia)</i>
Kriptokokkoz	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Aspergilloz	<i>Aspergillus</i>
Kandidoz	<i>Candida türleri</i>
Feohifomikoz(sistemik)	<i>Exophiala jeansselmei</i> <i>Phialopora richardise</i> <i>Bipolaris spicifera</i> <i>Wangiella dermatitidis</i> <i>Exserohilum rostratum</i> <i>Alternaria türleri</i> <i>Curvularia türleri</i> <i>Xylohypha bantiana</i>
Diğer fırsatçı mikozlar	<i>Fusarium türleri</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Bipolaris</i> <i>Penicillium marneffe</i>

4.6. Fırsatçı Sistemik Mikozlar

Deri, mukozalar ve iç organları tutabilen fırsatçı mikozlar gerek mayalar gerekse küf mantarları tarafından oluşturulurlar. Oluşmalarında ön koşul, konağın savunma mekanizmasının zayıflamasıdır. Bütün sistemik mikozlar doğal yaşam ortamları toprak veya bitkiler olup, ekzojen infeksiyonlar yaparken kandidoz, endojen bir infeksiyondur. Mukormikozlar(Zigomikoz), kriptokokkoz ve aspergilloz gibi eksojen mikozlar kural olarak solunum yoluyla vücuda girerler. Son zamanlarda *Candida*'lar dışında kalan ve şimdiye dek tümüyle apatojen kabul edilen başka mayaların, *Phaeohyphomycetes* ve *Hyalohyphomycetes* üyelerinin de sistemik infeksiyonlara neden oldukları bilinmektedir. Tüm fırsatçı sistemik mikozlarda primer bir infeksiyon odağı vardır. Bu genellikle üst ya da alt solunum sistemidir. Bu odaktan kan ve/veya lenf yoluyla yayılan etkenler, başka organları tutar. Fırsatçı sistemik mikozlar ve etkenleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

a. Mukormikoz(Zigomikoz): *Mucoraceae* sınıfından mantarların yol açtığı değişik klinik tablolardır. Bu mantarlar *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* ve *Absidia*'dır. Hastalık oluşumunu kolaylaştıran durumlar; kontrolsüz diabetes mellitusda görülen ketoasidoz, lösemi, lenfoma, kortikosteroid kullanımı ve kronik renal yetersizliktir. Patolojik olarak büyük kan damarlarını invaze ederek dokuda iskemi ve infarktlara yol açan akut, kötü seyirli bir infeksiyon hastalığıdır. Klinik şekilleri; rhinoserebral mukormikoz ve pulmoner mukormikozdur. Amfoterisin B tek etkili antifungal olup tedavi süresi 2-3 aydır. Mutlaka cerrahi debritleme gerekir.

b. Kriptokokkoz: Genellikle immünsüpresiflerde meningoensefalite yol açan mantar hastalığıdır. Etken saprofitik kapsüllü bir mantar olan *C.neoformans*' dir. Kuşların ve özellikle güvercinlerin dışkılarında bol miktarda olmak üzere doğada yaygın olarak bulunabilmektedir. İnfeksiyonu kolaylaştıran durum, hücresel immun yetersizliktir. Etken inhalasyon ile alınır. İnfeksiyonun major yeri akciğerler olmasına karşın hastalık genellikle beyin ve meninksleri tutar. En sık yakınma ateş ve baş ağrısıdır. Meningoensefalit en sık karşılaşılan tablodur. BOS'nda 1:8 veya düşük titrede pozitiflik tanısaldır. BOS'nda hücre sayısının düşüklüğü(<20/mm³) kötü prognostik kriter olup sıklıkla AIDS hastalarında görülür.. Diğer sık tutulum yerleri deri ve kemiklerdir. Meningoensefalitte sistemik amfoterisin B+ flusitozin, 6 hafta kullanılmalıdır. AIDS'li hastalarda amfoterisin B +flusitozin 2 hafta kullanıldıktan sonra flukonazol 8 hafta yüksek doz ve yaşam boyu düşük doz devam edilir.

c. Aspergilloz: Trakeobronşial ağaçtaki kolonizasyonundan, allerjik ve/veya invaziv seyirli hastalığa kadar uzanan *Aspergillus* cinsi mantarların neden olduğu infeksiyon

hastalığıdır. Daha çok fırsatçı sporadik olgular tarzında seyreder. Ancak zaman zaman yaptığı küçük epidemilerle nosokomiyal karakter kazanarak nosokomiyal aspergilloza yol açar .

İnfeksiyonlara sıklıkla *A.fumigatus* yol açmaktadır. *A.flavus* immun sistemi baskılanmış hastalarda burun ve sinüs infeksiyonlarına yol açar. Fungus topunun en sık etkenleri ise *A.fumigatus* ve *A.niger*'dir. Dünyanın her tarafında toprakta saprofit olarak bulunmaktadır. Bulaşma genellikle inhalasyon yolu ile olmaktadır. Aspergillozun değişik klinik şekilleri mevcuttur; trakeobronşial kolonizasyon, allerjik bronkopulmoner aspergilloz, aspergilloma(fungus topu) ve invaziv aspergillozdur. Allerjik bronkopulmoner aspergillozda tanı kriterleri olarak epizodik astım anamnezi, eozinofili, deri testi, aspergillus antijenlerine karşı serumda presipite eden antikorların varlığı, total serum Ig E seviyesi, akciğer grafisinde anormaliteler(üst loblarda infiltrasyon, konsolidasyon, atelektazi, kaviterin olması) ve balgam kültürlerinde *A.fumigatus*'un üretilmesidir. Orta ve ciddi atağı bulunan allerjik bronkopulmoner aspergillozlarda seçkin tedavi kortikosteroidler ve bronkodilatatörlerdir.

Nosokomiyal Aspergilloz: Küçük epidemilerle nosokomiyal karakter kazanır. İnfeksiyon kaynağı hava yolu olmakla birlikte başta Hickmen tipi intravenöz kateterler olmak üzere invazif işlemler sırasında kontamine materyal ile duyarlı hastalarda sistemik infeksiyonlar gelişebilir. İnhalasyon dışında direkt inokülasyonla özellikle ameliyathane havasında bulunan sporlar, biyomateryal kullanılmış veya katarakt ameliyatı geçirmiş immunkompromize hastalarda insizyon yerine yerleşerek küçük epidemiler şeklinde invazif infeksiyonlar oluşturabilirse de bu yol oldukça nadirdir. Hastanede yatan immukompromize hastalarda genellikle %80'den fazla mortalite riski olan hastalıklar oluşturabilir. Özellikle hastane içinde veya yakınlarında inşaatların sürdüğü koşullarda ve havalandırma sisteminin de bu bölgelere bakması durumunda risk artmaktadır. En fazla suçlanan defektif ya da kontamine havalandırma sistemidir. Özellikle kemik iliği transplantasyon üniteleri, ameliyathaneler, yoğun bakım üniteleri ve onkoloji servisleri gibi riskli bölgelerin havalandırmasında HEPA filtrelerin kullanılması önerilmektedir. Akut invazif pulmoner aspergilloz en sık rastlanan klinik tablodur. Daha seyrek olarak da rinoserebral aspergilloz gelişebilir. Standart tedavi yüksek doz amfoterisin B olup flusitozin eklenmesi yararlı olabilir.

d. Kandidoz

Candida türlerinin yaptığı, yüzeysel deri infeksiyonlarından ciddi seyirli sistemik hastalıklara kadar değişen klinik tablolarıdır. Bu türler, gerek immunkompetan ciddi hastalığı olanlarda gerekse immunkompromize hastalarda lokal ya da sistemik birçok infeksiyona neden olabilen ve insidansları giderek artan önemli nosokomiyal patojenler olup nosokomiyal kandidozlara yol açarlar. Sağlıklı bireylerin % 80'inde oral kavite, vagina, gastrointestinal

traktüs ve rektum mukozasında kolonize olan *Candida* cinsleri; *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.kefyr*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.lusitaniae* ve *C.parapsilosis*'dir. Sağlıklı kişilerin çoğu sistemik infeksiyonlara karşı dirençli olup *Candida*'nın hücre duvarının glikoprotein antijenlerine karşı antikorlar taşırlar. Kandidozu kolaylaştırıcı faktörler; diabetes mellitus, maligniteler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, yanıklar, cerrahi yaralar ve IV ilaç alışkanlığıdır. Doğal engelleri bozulmuş olan kişiler risk altındadırlar. Görülen klinik tablolar deri, mukoza ve kronik mukokutanöz tutulum; kandidemi, sistemik ve mukoza dışı tek bir yerin tutulduğu derin kandidoz şeklindedir(41, 42). Tanıda balgam ve dokuda tomurcuklanan mayalar, psödohifler ve blastosporlar görülmesi ve serumda blastosporlardan hifal büyüme, *C.albicans* için önemli bir kanıttır. Persistan ve yüksek konsantrasyonda kandidemi intravasküler infeksiyonun en önemli ipucudur. Ancak seroloji, sağlıklı kişilerde bulunan antikorlar nedeniyle yardımcı değildir.

Oral kandidiyazda oral nistatin veya oral flukonazol; sistitte komplikasyonsuz ise 5 gün süre oral veya IV flukonazol veya amfoterisin B ile mesane yıkaması önerilir. Perikardit, osteomyelit ve artritte cerrahi drenajla birlikte amfoterisin B'dir(41,43-45). Dissemine kandidoz, menenjit, endokardit ve endoftalmitte amfoterisin B+5-flusitozin kombinasyonudur(46). İnfekte şant varsa çıkarılmalıdır. Tedaviye bulgular tamamen kaybolduktan sonra en az 10-14 gün daha devam edilmesi önerilmektedir(47).

Nosokomiyal Kandidoz:

Hastaneyeye yattıktan 72 saat sonra *Candida* türleri ile gelişen mantar infeksiyonları olarak tanımlanır. *Candida* türleri nosokomiyal mantar infeksiyonlarının %85.7 gibi oldukça büyük bir yüzdesini kapsamakta ve nosokomiyal mantar infeksiyonları denilince nosokomiyal kandidoz şeklinde algılama yanlış olmamaktadır(30).

Hastanede yatan hastalarda fungal infeksiyonların insidansı son 10 yılda belirgin şekilde artmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde *Candida* türleri ile hastanede gelişen dolaşım sistemi infeksiyonları, son on yılda dördüncü sıraya yükselmiştir(48). Türkiye'de ise altıncı sıraya yükselmiştir(49). Wey ve arkadaşları, *Candida* türleriyle gelişen nosokomiyal fungeminin hastanede kalış süresini ortalama 30 gün uzattığını ve tek başına %38 mortaliteye neden olduğunu göstermiştir (50). Ayrıca hastanede kültür için gelen tüm idrar örneklerinin %1-5'inde maya türü mantar üremektedir(51). İdrarda *Candida* türlerinin izolasyonu; başta üretral kateterli hastalar olmak üzere geniş spektrumlu antibiyotik kullananlarda, kortikosteroid tedavisi görenlerde ve uzun süre hastanede yatan yaşlı hastalarda giderek artmaktadır. Nosokomiyal üriner infeksiyonlarının % 13'ünü, yoğun bakım ünitelerinde ise % 25'ini kandidüriler oluşturmaktadır(30).

Nosokomiyal patojen olarak en sık karşılaşılan *Candida* cinsi içinde yaklaşık 100 kadar tür bulunmakla birlikte, en önemlileri *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.lusitaniae* ve *C.glabrata*'dır.

Nosokomiyal kandidemi:

Nosokomiyal *Candida* türlerinin etken olduğu dolaşım sistemi infeksiyonlarıdır. Bu türlerin yaptığı infeksiyonlar arasında artışın en fazla olduğu klinik tablodur. Çeşitli risk faktörleri bu artıştan sorumlu tutulmaktadır(Tablo 4)(52). Gelişen kandidemiler sonucu %50-80 oranında da yaygın sistemik kandidoz gelişebilmektedir.

Tablo 4: Kandidemi riskini artıran çeşitli faktörler

1-Gastrointestinal kolonizasyonun artması
*Antimikrobik kemoterapi
*Antiasit ve/veya simetidin tedavisi
*İleus
*Diyareler
2-Parenteral hiperalbuminasyon
3-Sistemik konak savunmasının bozulması
*Kortikosteroid tedavisi
*Nötropeni
*Diabetes mellitus
*Böbrek yetmezliği
*Malign hastalıklar
*İleri yaş
4-İatrojenik faktörler
*Santral venöz kateterler
*Arteriyal kateterler
*Uzun süren cerrahi girişimler (özellikle abdominal ve kardiyak)
*Üriner kateter

Hematojen kandidiyazisli hastaların ancak bir kısmında kan kültürleri pozitifdir, ayrıca bu infeksiyona özgü belirti ve semptomlar yoktur(52). Hematojen kandidiyazisli hastalar bu infeksiyona bağlı morbidite ve mortalite açısından yüksek riskli ve düşük riskli olarak iki gruba ayrılabilir(53)(Tablo 5). Genel olarak prognoz, predispozan faktörlerin sayısı ve derecesiyle ilişkilidir. Kötü prognostik faktörlerden herhangi birinin olması hastanın yüksek riskli gruba girmesini sağlar(48).

Tablo 5: Hematojen Kandidiyazisli Hastalarda Risk Kategorileri

DEĞİŞKEN	RİSK KATEGORİSİ	
	YÜKSEK	DÜŞÜK
Altta yatan hastalık	Hızla öldürücü	Öldürücü değil
Nötrofil sayısı (hücre / mm ³)	< 1000	> 1000
Kandidemi		
Süresi	>48 saat	< 24 saat
Organ tutulumu	Evet	Hayır
Hastanın fizyolojik durumu		
APACHE II veya III	Yüksek	Düşük

Tedaviye çoğu kez ampirik başlanıldığından infeksiyon gelişme olasılığının yüksek olduğu hasta popülasyonunu belirlemek, mevcut risk faktörlerini değerlendirilerek infekte eden *Candida* türünün bilinen duyarlılık paternine göre antifungal tedavi başlamak gerekir. Kandidemi saptanan hastalarda santral venöz kateterin rolü ve çıkarılması konusunda görüş birliği yoktur. Durumu stabil, düşük konsantrasyonda fungemisi olan ve organ infeksiyonu saptanmayan hastalarda santral venöz kateterin yerinde bırakılması ve bu hastaların yakından izlenmesi, genel durumda bozulma olursa veya antifungal tedaviye başlandıktan sonra 2-3 gün içinde klinik bir düzelme sağlanamazsa kateterin çıkarılması akılcı bir yaklaşımdır(48).

Nosokomiyal Kandidüri: *Candida* türlerinin etken olduğu, basit kazanılmış bulaştan yaygın kandidoza kadar değişen üriner sistem infeksiyonlarıdır(54). Kandidüri insidansı kadınlarda erkeklerden iki kat daha fazladır ve bu artış vaginal kandidozun bir yansıması olabilir(55). Hazırlayıcı faktör olarak diabetes mellitus gibi metabolik hastalık, anormal veya travmatize üriner sistem, üriner katater ve geniş spektrumlu antibakteriyel ilaç alınması sayılabilir. Klinik olarak asemptomatik, semptomatik ve renal kandidoz şeklinde görülebilir.

a. Asemptomatik kandidüri: perineden kontaminasyonu izleyen kolonizasyon şeklindedir. Çoğunlukla mesane kateterli hastalarda gelişmektedir.

b. Semptomatik kandidüri: Kolonizasyonu takiben gelişen alt üriner sistem infeksiyonudur. Olguların çoğunda durum alt üriner sistemle sınırlıdır. Nadiren renal veya yaygın infeksiyon gelişebilir.

c. Renal kandidoz: immünsüpresif alan hastalarda (kortikosteroid, antineoplastik ilaç kullananlarda), diabetes mellitus gibi metabolik hastalığı olanlarda ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde gelişir(56). Etken diğer infeksiyon kaynaklarından veya GİS'de kalıcı kaynaktan sıklıkla hematogen yol ile renal infeksiyona yol açar. Üst üriner sistemin asendan infeksiyonu ise nadirdir. Birçok hastada renal infeksiyonda miçellerin oluşturduğu mantar topunun renal pelvis ve üreteri tıkanması sonucu hidronefroz ve anüri görülebilir. Bebekler ve erişkin renal kandidozunda oligüri ve anüri ender görülür. Radyolojik olarak pelvis ve üreterde mantar topunun saptanması ile ayırdedilebilir. Kandidürili tüm hastalar önce kandidemi veya derin yerleşen doku infeksiyonu açısından değerlendirilmelidir(54).

İdrar örneklerinde piyüri varlığı, kantitatif idrar analizi yol gösterici olabilir. Renal kandidozlu hastalarda radyolojik yöntemlerle böbrek pelvisi ve üreterdeki mantar topunu radolüsent, düzensiz dolma defektleri şeklinde saptanabilir(57). Kolonizasyon ile infeksiyonu ayırmada, piyüri varlığı veya kantitatif idrar analizini değerlendirmenin bir kriteri yoktur.

Ayrıca kantitatif idrar analizi, piyüri varlığı veya semptomlar ile infeksiyon arasındaki korelasyon da tartışmalıdır(58).

Kandidürili hastaya ilk yaklaşım, *Candida* varlığının basit kontaminasyon veya kalıcı olup olmadığını saptamaktır. Kandidüri tesbit edilmiş, ancak asemptomatik olgularda mesane kateteri var ise katater çıkarılmamalı, hasta izleme alınmalıdır. Semptomatik olgularda ise kateter değiştirilmeli, yukarıda bahsedilmiş olan hazırlayıcı nedenler ortadan kaldırılmalı ve antifungal ilaç verilmelidir. Mesane kateteri yoksa, genito-üriner sistem anormallikleri ve tıkanıklıklar araştırılmalıdır. Bir neden varsa ortadan kaldırılmalı ve antifungal ilaç verilmelidir. Aksi halde takipe alınmalıdır. Yaygın kandidozu olan kandidürili hastalarda predispozan durumlar ve tıkanıklıklar ortadan kaldırılmalı ve intravenöz olarak amfoterisin B verilmelidir(54). Antifungal ilaçların seçimi, dozu ve süresi konusunda fikirbirliği yoktur(59).

5. Antifungaller

Yirminci yüzyılın başında mantar infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilecek etkin antifungaller yoktu. 1951'de hem oral hemde topikal etkili bir poliyen antibiyotik olan nistatin bulunduktan sonra 1956'da yine poliyen bir antibiyotik olan amfotersin B nin bulunması sistemik antifungal tedavide dönüm noktası olmuştur. 1957'de esasen potansiyel bir sitostatik madde olarak sentez edilen flusitozinin antifungal etkili olduğu anlaşıldı. Flusitozin yalnız başına kullanıldığında direnç gelişmesi nedeni ile amfoterisin B ile birlikte kullanılmaya başlandı. 1958'de yüzeysel mikozların tedavisinde kullanılacak ilk oral antifungal olan griseofulvin bulundu. Antifungal etkisi olduğu bilinen ilk Azol türevi benzimidazolden sonra 1969'da diğer imidazol türevleri klotrimazol ve mikanozol kullanılmaya başlandı. 1974'de ketokonazol ve 1980'li yıllarda geniş etkili flukonazol ve itrakonazol piyasaya sürüldü. Bunların dışında alilamin ve morfolin türevleri de antifungal tedavide kullanılmaktadır(60).

Mantar hücrelerinin memeli hücreleri gibi ökaryot yapıda olması; protein, DNA veya RNA sentezini inhibe eden antifungal ilaçların seçici toksik etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Sistemik olarak kullanılabilen antifungal ajanlar sınırlı sayıdadır. Amfoterisin B ve Azol türevleri, özellikle flukonazol ve itrakonazol antifungal terapinin başlıca kaynağını oluşturmakla beraber amfoterisin B'nin lipit formulasyonları, azol türevleri ve mantar hücre duvarı biyosentezini hedef alan yeni antifungal ilaçlarda geliştirilmiştir.

5.1.1. Poliyenler:

Hücre membranındaki ergosterolü hedef alan ajanlardır. Bunların hidrofobik ve hidrofilik kısımları vardır(61). Bu grupta amfoterisin B ve nistatin yer almaktadır.

a. Amfoterisin B: Fungusların çoğu amfoterisin B'ye duyarlıdır(61,62). Hücre membranındaki ergosterole bağlanarak etki gösterir. Etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır(63). Hücre membran permeabilitesini bozarak hücreye ait makromoleküllerin ve iyonların kaybına ve oksidatif yıkıma neden olup, fungusit etki göstermektedir. Çok azda olsa kolesterole bağlanabilir ve yan etkiler ortaya çıkabilir(61,63). Amfoterisin B oral yoldan verildiğinde gastrointestinal yoldan emilmez. İntramüsküler verildiğinde de emilimi çok azdır. Bu nedenle intravenöz uygulanır(64). Üriner infeksiyonlarda keseye irrigasyon şeklinde lokal olarak da verilebilir(65). Serum proteinlerine %90 oranında bağlanır. Karaciğer, dalak ve böbreklerde yüksek konsantrasyonlara erişir. BOS'a geçişi zayıf olmasına rağmen kandida ve kriptokok menenjitinin tedavisinde tek başına veya 5-florositozin ile birlikte kullanılmaktadır(53,61,64).

Yan etkiler fazladır. Terapötik ve toksik dozları birbirine çok yakındır(66). Nefrotoksik etki, en ciddi yan etkisidir. İlacı kullananların hemen tümünde böbrek hasarına ait bazı bulgular ortaya çıkmakta iken kalıcı böbrek hasarı total doza bağlı olarak %17-44 arasındadır(53,67). Bilinen en güçlü antifungal ajandır, ancak toksik etkileri kullanımına önemli sınırlamalar getirir(53,67,68).

Son yıllarda özellikle azol grubu antifungal ajanların profilaktik ve ampirik amaçla daha çok kullanılması ve immunsuprese hastaların yaşam sürelerinin uzaması tür dağılımının değişmesine yol açmış ve eskiden patojen olmayan *nonalbicans Candida* türleri hastalık etkeni olarak görülmeye başlamıştır. Amfoterisin B'nin bunlara etkisi kuşkuludur(66). Amfoterisin B' ye karşı *C.lusitaniae*, *C.guilliermondii*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* gibi bazı kandidalarda direnç görülmektedir. Bu direnç genellikle tedavi sırasında ortaya çıkar(63,66,69). Kemoterapi alan kanser hastalarında, azol grubu ajanlarla tedavi edilmeye çalışılan AIDS'lilerde ve immun yetmezlikli sistemik kandida infeksiyonu olanlarda direnç bildirilmektedir (70). Direnç sebebi olarak, sterol sentezini bloke eden azol grubu antifungal ajanların, sitotoksik kemoterapi veya radyoterapinin, amfoterisin B'nin hedef yapısını ortadan kaldırdıkları ileri sürülmektedir(63,66,70,71).

Son yıllarda ilacın toksisitesini azaltmak üzere amfoterisin B'nin lipozomlarla kaplanması ya da çeşitli lipid taşıyıcılarla kompleks oluşturması denenmiş ve toksik etkilerin azaldığı kesinlikle saptanmıştır(61,72). Lipid taşıyıcıların, amfoterisin B'nin doza bağımlı olarak etkisini artırdığı deneysel hayvan çalışmaları ile gösterilmişse de klinik veriler yeterli değildir(72-74). Hali hazırda amfoterisin B lipid kompleksi formülasyonu (lipozomal amfoterisin B-Ambisome, Amfoterisin B'nin üç lipid kompleksi-ABCL veya Abelcet, Amfoterisin B kolloidal dispersiyonu-Amphocil) mevcuttur(72,73). Bunların yapıları ve

farmakokinetikleri oldukça farklıdır. Ancak bu farklılığın tolerans ve etkinlikte nasıl rol oynadığı kesin olarak bilinmemektedir(63,73). Şu an için en fazla klinik veri lipozomal amfoterisin B ile alınmıştır. Derin yerleşimli kandida infeksiyonlarının tedavisinde denenmektedir. Genel durumu kötü, bir çok nefrotoksik ilaç alan ve amfoterisin B'nin toksitesinin olduğu durumlarda kullanımı uygun bulunmaktadır(73,74).

b. Nistatin: Çeşitli mantar türlerinin gelişmesini inhibe etmekle beraber en duyarlı mantarlar maya mantarlarıdır. Özellikle *C.albicans* türlerinin tedavisinde ve profilaksisinde kullanılır(75).

5.1.2. Pirimidin Sentez İnhibitörleri:

a. 5-Florositozin: 5-florositozin RNA sentezini inhibe ederek etki gösterir. Fungus hücre membranındaki sitosin permeaz tarafından hücre içine alınır ve sitozin deaminazla deamine edilerek 5 florourasile dönüşüp RNA yapısına girer ve RNA yapısını bozar. Diğer bir metaboliti olan florodeoksiüridin monofosfat DNA sentezini bloke eder. Memeli hücresinde sitosin deaminaz bulunmadığı veya çok az bulunduğu için, konağa etki etmez(63,68,76).

Amfoterisin B'ye göre etki spektrumu daha dar, toksisitesi daha düşüktür(67,68,76). BOS'da serum konsantrasyonunun %85-95'ine erişir, bu nedenle menenjit tedavisinde kullanılabilir. Kriptokokal menenjitin tedavisinde amfoterisin B ile beraber kullanılır(67,77).

Direnç önemli bir problemdir. Primer direncin en yoğun olarak görüldüğü ilaçtır. *C.albicans* ve *C.glabrata*'a yaklaşık %7-10, diğе *Candida* türlerinde %21 oranında primer dirence rastlanmaktadır(66). Bazı suşlarda çok yavaş bir şekilde parsiyel direnç gelişir ve bu direnç 100mg/L ilaç konsantrasyonu ile ortadan kaldırılır. Bazı suşlarda ise çok çabuk bir şekilde yüksek seviyede direnç gelişir. Duyarlı mikroorganizmalar permeabilite değişikliği, enzim modifikasyonu, purin ve pirimidin gibi yarışmacı metabolitlerin varlığı ile tedavi sırasında direnç geliştirebilirler(30). En önemli direnç gelişim nedeni tek başına kullanılmasıdır(30,34).

5.1.3. Azol Grubu Antifungaller:

Bu grup antifungaller ergosterol biyosentezini çeşitli basamaklarda inhibe ederek etki gösterirler. Azol türevleri imidazol ve triazol olmak üzere iki gruba ayrılır.

5.1.3.1. İmidazoller: İlk olarak genellikle topikal etkili olan imidazol türevleri geliştirilmiş ve kullanıma girmiştir. İnsanlarda kullanıma uygun olduğu bildirilen ilk üç azol bileşiği; klotrimazol(1969), ekonazol(1969) ve mikonazol(1970)'dur. 1977'de oral olarak iyi absorbe edilen ketokonazol geliştirilmiştir(61,63,72). Etkilerini mantar hücre zarındaki ergosterolün sentezinde görev alan sitokrom p-450 enzimlerini inhibe ederek gösterirler.

a. Klotrimazol: Çeşitli dermatofitlere bağlı yüzeysel deri infeksiyonlarında sadece lokal olarak %1'lik deri kremi veya solüsyonu şeklinde uygulanır(75).

b. Mikonazol: Oral emilimi son derece azdır. Sadece i.v yolla kullanılabilir. Bu yolla kullanıldığında toksisitesinin fazla olması ve yüksek rölaps oranı nedeniyle kullanımı sınırlı kalmıştır. Geniş spektrumlu antibiyotik alan ateşli nötropenik hastalarda kullanımının fungemi gelişme riskini azalttığı gösterilmiştir(78).

c. Ketokonazol: Ketokonazol suda çözünmeyen, sentetik imidazol türevi antifungal ajan olup, amfoterisin B ile tedavi edilen bir çok mantar infeksiyonlarına karşı etkili, oral kullanılan, geniş spektrumlu ilk antimikotik ilaçtır(61,79).

5.1.3.2. Triazol: Triazol, imidazollere göre daha geniş etkili, daha az toksik olup, oral absorpsiyonu ve dokulara dağılımı iyi, serum yarı ömrü uzun, BOS'a geçişi zayıf lipofilik bir ilaçtır. Mikonazol ve ketokonazole göre fungal hücre sitokromlarına daha spesifik bağlandığından toksisitesi düşüktür. Lokalize ve sistemik infeksiyonlar, dermatomikozis, oral ve vaginal kandida infeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Bu grupta itraconazol ve flukonazol yer alır(61).

a. Itrakonazol: Sadece oral yoldan kullanılmaktadır. İnvitro ve hayvan deneylerinde *Aspergillus* türlerine etkilidir. Klinik çalışma sonuçları da bu verileri desteklemektedir(78). Itrakonazolün en önemli dezavantajı biyoyararlanımının iyi olmayışı ve intravenöz bir preparatının bulunmayışıdır(80). Ayrıca invitro duyarlılık testlerinde dirençli suşları doğru olarak göstermek mümkün olmamaktadır ve itraconazole dirençli olan *A.fumigatus* suşları saptanmıştır. İlaça karşı direnç primer ve sekonder nitelikte olabilir. Ayrıca in vitro ketakonazol ve flukonazole dirençli mantar kökenleri itraconazole de çapraz direnç gösterirler (81).

b. Flukonazol: Flukonazol diflorafenil bistriazol türevidir. Flukonazol düşük konsantrasyonlarda 14- α sterol demetilaz enzimini ve ergosterol sentezini inhibe edip lanosterol ergosterol oranını yükseltir. Yüksek konsantrasyonlarda lanosterol ergosterol oranına bağlı olmayarak fungal hücre membranında hızlı bir şekilde hasar oluşturarak fungusid etki gösterir. Azoller oksidatif ve peroksidatif enzim sistemlerini inhibe ederek intrasellüler toksik reaktif peroksitlerin artışına neden olur(61,68,79). Ayrıca, lökositler ve makrofajlar için toksik olan mantarların maya formundan yalancı hif oluşumunu inhibe edebilirler.

Flukonazol oral ve parenteral(İV) kullanılabilir. oral ve parenteral(İV) alınmasında farmakodinamik özellikleri benzerlik gösterir. Ağızdan alındığında % 90'ından fazlası emilir. Biyoyararlanımı diğer azol türevlerine göre yüksek olup, %96.7'dir. Yine ketokonazol ve

itrokonazolün aksine plazma proteinlerine bağlanma oranı %11-12 gibi düşüktür(79). Serum yarılanma ömrü uzundur ve günlük tek dozla yüksek plazma seviyelerine ulaşılır. Plazma yarı ömrü 30 saattir(82). BOS'a geçişi iyi olan tek azol türevidir. İlacın balgam, peritoneal sıvı ve vaginal dokudaki seviyeleri plazma seviyelerine benzerdir. Deri ve tırnaklarda yüksek seviyelere erişir. İdrarda plazmanın on katı kadardır. Böbreklerden %80'i değişmeden atılır. Flukonazolün ketokonazole oranla diğer ilaçlarla etkileşimi daha azdır. Fenitoin, diüretikler, rifampisin, warfarin ve tolbutamid ile birlikte kullanıldığında doz ayarlaması gerekir(61,68,79). Yüzeysel mantar infeksiyonlarının tedavisinde kullanımına dair hayli tecrübeler vardır. Vaginal kandida infeksiyonlarında sık kullanılır ve tek doz etkilidir(61,63). Amfoterisin B tedavisi başarısız olmuş kemoterapi alan kanserli hastalardaki kandida sepsisinde flukonazol ile başarılı sonuçlar alınmıştır(83). Amfoterisin B tedavisi başarısız olmuş AIDS'li hastaların kandida infeksiyonlarında kullanılır(77,79). İdrar yolu kandida infeksiyonlarında etkilidir. Flukonazol, fungal 14- α demetilaz enzimini memeli enziminden 10000 kat daha güçlü bir şekilde inhibe eder. Yan etkiler azdır. En sık gastrointestinal sistem bulguları, baş ağrısı ve döküntü görülür. Yan etkilerin görülme insidansı %16 olarak bildirilmiştir(79).

Son yıllarda flukonazol'e karşı artan oranda direnç bildirilmektedir. Sistemik antifungal ajan olarak profilaktik ve ampirik amaçlı yaygın flukonazol kullanımı sonucu hastalık etkeni olan dirençli suşların sıklığı artmıştır. Bu suşlardan *C.krusei*'in vitro ve hayvan deneylerinde flukonazole daima dirençli, itraconazole bazen dirençli, amfoterisin B'ye az duyarlıdır. *C.glabrata* sıklıkla flukonazol ve ketokonazole dirençli, itraconazole duyarlıdır. *C.tropicalis* artan oranda flukonazole karşı dirençli(<%50) ketokonazol ve itraconazol ise çapraz direnç görülebilir(84). Bu direnç uygulamalara da yansımaktadır. Özellikle AIDS'li hastaların orofaringeal kandida infeksiyonlarında *C.albicans* suşlarında klinik olarak direnç görülmüş ve bu in vitro olarak da gösterilmiştir(66). Ayrıca bu *C.albicans* suşları flukonazol'e karşı dirençli olmasına rağmen itraconazol ve ketokonazole karşı duyarlı bulunmuştur. AIDS'li hastalarda *C.tropicalis* suşlarında da flukonazole karşı direnç bildirilmiştir(63,66,85). Vaginal kandida infeksiyonlarında % 10 oranında azollere direnç bildirilmekte ve bu direnç son yıllarda görülme sıklığı artan *C.albicans* dışı *Candida* türlerine bağlanmaktadır(84). Tekrarlayan vaginal kandida infeksiyonu olan kadınlardan izole edilen *C.glabrata* suşlarında flukonazol tedavisine direnç saptanmıştır(85). Seyrek de olsa vaginal kandida infeksiyonlarında *C.albicans* suşlarında da direnç bildirilmeye başlanmıştır(84). Primer ya da sekonder azol direncini açıklayan çeşitli mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalar membran permeabilitesinin azalması, sitokrom P-450 bağımlı 14- α sterol demetilazda mutasyon,

sitokrom P-450'nin hücre içi miktarının artması, azalmış sterol C5-6 saturoz aktivitesi olarak sıralanabilir(63,66).

5.2. Yeni Antifungal Ajanlar

Bugün kullanımda olan antifungal ajanların esas etkileri mantar hücre membranında bulunan ergosterol üzerinden olmaktadır. Ergosterol ile konak hücresindeki kolesterol arasındaki benzerlik tedavide sorunlara yol açmaktadır. Etkin bir antifungal ajan konak hücrede bulunmayan sadece mantar hücresinde bulunan yapıları hedef almalıdır. Mantar hücre duvarı selektif olabilecek yapıdadır, bu nedenle son yıllarda antifungal ajan çalışmaları mantar hücre duvarına etkili olabilecek antifungaller üzerinde yoğunlaşmıştır. Tablo 6'da hücre duvarına etkili, henüz araştırma aşamasında olan antifungaller özetlenmiştir(72).

Tablo 6: Hücre duvarına etkili antifungaller

Yeni Antifungal Ajanlar	Etki mekanizması
Lipopeptitler Ekinokadin (Silofungi,LY303366,WF1189A,B,C) Papulakadin Pnömakadin	Glukan sentez inhibitörleri
Polioksinler	Kitin sentez inhibitörleri
Pradimisinler	Mannan sentez inhibitörleri

5.2.1. Yeni Azoller: Vorikonazol, posakonazol ve ravukanazol yeni geliştirilen triazol türevlerin başında gelen antifungal ilaçlardır. Bunların dışında, henüz deneysel aşamada olan diğer birçok azol türevi vardır(86).

a. Vorikonazol: Kimyasal yapısı flukonazole benzeyen bir triazoldür. Oral ve intravenöz formları geliştirilmiştir. İn vitro etki spektrumu oldukça geniştir. *Candida*, *Aspergillus*, *C.neoformans*, *B.dermatitidis*, *C.immitis*, *H.capsulatum* ve *Fusarium* türlerine karşı in vitro aktivite gösterir. Flukanazola dirençli *C.albicans*, *C.krusei*, *C.glabrata*, *C.guilliermondii* ve *C.dublinsiens* suşlarının bazılarında, Flukonazolün in vitro etkisinin sınırlı olduğu *C.neoformans* suşlarına, itrakonazole dirençli *A.fumigatus* izolatlarına ve amfoterisin B'ye dirençli *C.krusei* ve *A.Terreus*'a karşı etkili olması önemli üstünlükleridir. Öte yandan, *Zygomycetes* sınıfında bulunan *Mucor* ve *Rhizomucor* gibi mantar cinslerine ve *S.schenckii*'ye karşı in vitro aktivitesi, itrakonazol ve terbinafininkinden ise daha yüksektir(87-89).

b. Posakonazol: Kimyasal yapısı itrakonazole benzeyen bir triazoldür. Oral tablet ve süspansiyon formları geliştirilmiştir. *Candida*, *C.neoformans*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *B.dermatitidis*, *C.immitis*, *H.capsulatum*, *S.apiospermum*, dermatofitler ve esmer mantarlara

etkilidir. Çapraz direnç nedeniyle, flukonazol ve itrokonazole dirençli bazı *Candida* suşlarına karşı etkinliği, bu ilaçlara duyarlı olan suşlara karşı olan etkinliğine nazaran daha sınırlı olabilir. Amfoterisin B, itrakonazol ve vorikonazole dirençli *Aspergillus* suşlarında posakonazole çapraz direnç düşük oranlarda gözlenmiştir. *Fusarium*'a karşı in vitro aktivitesi sınırlıdır(90,91).

c. Ravukonazol: Kimyasal yapısı flukonazole benzeyen, bir triazoldür. Oral formu geliştirilmiştir. In vitro etki spektrumu geniştir. *Candida türleri* (flukonazole dirençli suşların bir kısmı da dahil olmak üzere), *C.neoformans* *A.fumigatus*, *S.apiospermum* dermatofitler ve esmer mantarlara etkilidir. In vitro etki olarak *C.tropicalis*, *C.glabrata* ve *C.krusei*'ye etkisi diğer *Candida* türlerine kıyasla biraz daha azdır. Suşların bir kısmında, ravukanazol ile itrakonazol ve flukonazol arasında çapraz direnç gözlenebilir. *A.fumigatus* ravukonazole, *A.flavus* ve *A.terreus*'dan daha duyarlıdır. *S.schenckii*, *Fusarium* türleri ve *Zygomcetes* sınıfında bulunan mantarlara düşük in vitro aktivite gösterir(92).

5.2.2. Yeni Ekinokandiler: Ekinokandiler, mantar hücre duvarında bulunan β -1-3 glukan sentezini inhibe ederek antifungal etki gösteren lipopeptid yapısındaki bileşiklerdir. Silofungin, suda çözünmeyen ilk ekinokandindir. Çözücü olarak kullanılan polietilen glikolün toksik etkileri nedeniyle kullanımdan kaldırılmıştır. 1980'li yıllardan itibaren suda çözünen yeni ekinokandin türevleri geliştirilmeye başlanmıştır. Ekinokandinlerin şimdiye dek kullanılan diğer antifungal ilaçlardan farklı bir hedef üzerinde etki ediyor olması, bu ilaç grubuna iki önemli üstünlük sağlamaktadır. Bu hedefin memeli hücrelerinde bulunmaması, ekinokandinlerin mantar hücre membranı üzerinden etki eden polyenlere ve azollere dirençli suşlara da etkili olmasını mümkün kılar. Yeni geliştirilen başlıca ekinokandiler, kaspofungin, anidulafungin ve mikafungindir (93).

a. Kaspofungin: Intravenöz formu geliştirilmiştir. *Candida* ve *Aspergillus* türlerine karşı in vitro aktivite gösterir. Farklı etki mekanizması nedeniyle, flukonazol ve/veya itrakonazole duyarlı *Candida* suşlarına olduğu kadar, bu ilaçlara dirençli suşlara da etkilidir. Özellikle *C.parapsilosis*'e diğer türlere nazaran daha az etkilidir. *Trichosporon*, *Fusarium*, *Rhizopus arrhizus*, *Paecilomyces lilanicus* ve *S.prolificans*'a etkisi sınırlıdır yada hiç yoktur. *C.neoformans* diğer ekinokandilere olduğu gibi kaspofungine de doğal direnç gösterir. Kaspofunginin esmer mantarlara ve dimorfik mantarlara karşı etkinliği değişkendir(94).

b. Anidulafungin: Oral ve intravenöz formu geliştirilmiştir. *Candida* ve *Aspergillus*'a karşı in vitro aktivite gösterir. Azollere dirençli *Candida* izolatlarına etkilidir. Öte yandan, *Candida* türleri içerisinde *C.parapsilosis* ve *C.guilliermondii*'ye etkinliği, diğer türlere kıyasla daha sınırlıdır. *C.neoformans*, *Trichosporon*, *R.arrhizus*, *Fusarium*, *B.dermatitidis*

H.capsulatum, *S. schenckii*, *Acremonium strictum*, *Phialophora*, *Cladophialophora bantiana*, *S.apiospermum* ve *Bipolaris*'e in vitro aktivitesi yoktur yada çok düşüktür(95).

c. Mikafungin: İntravenöz formu mevcuttur. Azollere dirençli suşlar da dahil olmak üzere *Candida*'ya ve *Aspergillus*'a etkilidir. *C.parapsilosis*'e etkinliği diğer türlere kıyasla daha sınırlıdır. Ayrıca *H.capsulatum* , *B.dermatitidis* ve *C.immitis*'in miçelyal üreme fazlarına karşı da in vitro aktivite gösterir. Esmer mantarlara (*Cladosporium trichoides*, *Exophiala spinifera*, *Fonsecaea*) in vitro aktivitesi düşüktür. *C.neoformans*, *Trichosporon*, *Fusarium*, *S.apiospermum* ve *Zygomycetes* sınıfı mantarlara etkisi yoktur(96).

5.2.3. Yeni Lipidli Polyenler: Parenteral kullanımının toksik reaksiyonlara neden olan nistatinin, lipozomal bileşiğinin geliştirilmesi sistemik bir antifungal ilaç olarak gündeme gelmiştir. Lipozomal nistatinin en önemli avantajları, etki mekanizmalarının farklı olması nedeniyle azollere dirençli bazı mantar izolatlarına da etki gösterebilen ve toksisitesi düşük olan bir bileşik oluşudur. Lipozomal nistatinin in vivo aktivitesi nistaninkinden yüksektir. Bunun olası nedeni, lipozomlar nedeniyle ilacın retikuloendotelial sistem hücrelerine girişinin ve enfeksiyon bölgesine taşınmasının daha kolay olmasıdır(97). Lipozomal nistatinin in vitro etki spektrumu, nistatininkine benzerdir. Azollere ve amfoterisin B'ye dirençli birçok suş dahil olmak üzere *Candida*'ya, *C.neoformans* ve *Aspergillus*'a etkilidir. Ayrıca *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Fonsecaea* ve *Sporothrix*' e karşı da in vitro etki gösterir. Amfoterisin B'ye dirençli bazı *Candida* suşlarına karşı in vitro aktivite göstermesi, polyenler arası çapraz direncin %100 olmamasına bağlıdır. *Candida* türleri içinde *C.glabrata*'ya etkisi diğer türlere göre daha düşüktür(97).

MATERYAL VE METOD

KTU Tıp Fakültesi Farabi Hastanesinde Ocak 2000-Temmuz 2001 döneminde tüm servislere yatırılan nötropenik ve nötropenik olmayan hastalardan Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan ve idrar örneklerinde üreyen fungal etkenlerin tür dağılımı, antifungal ajanlardan olan amfoterisin B ve flukonazole karşı antifungal duyarlılıkları ve günlük maliyetleri araştırıldı. Ayrıca fungal etkenlerin izole edildiği hastaların infeksiyon kliniği, invaziv girişimleri ve verilen antifungal tedavileri incelendi.

Materyallerin çalışmaya dahil edilme kriterleri:

Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen idrar ve kan örneklerinden izole edilen funguslar ve bu fungusların elde edildiği hastalar çalışmaya dahil edildi.

İdrar ve kan dışında kalan ağız, boğaz, genital, anal bölge ve ciltten alınan kültürlerden izole edilen fungal etkenlerin, çoğunun ya normal floranın elemanı olması veya kontaminan olması nedeniyle çalışma dışı bırakıldı.

İzolasyon ve identifikasyon:

Standart yöntemle uyularak alınan kan kültür şişeleri laboratuvara geldikten sonra kan kültür şişelerinin Bactec otomatize sisteme bilgisayar kayıtları yapıldı. Kan kültür şişelerinin üzerindeki barkot vasıtası ile özel kabine yüklendi. Otomatize Bactec sisteminin çalışma prensipi, kan kültür şişelerindeki CO₂ seviyesinin bir indikatör vasıtasıyla takibine dayanmaktadır. Otomatize Bactec sistemi kültür şişelerini aşağı ve yukarı sallamak suretiyle 37°C'de tutar. Saatte bir CO₂ seviyesini ölçerek genel olarak 10 gün boyunca takip eder. Bu sürenin uzatılması mümkündür. Üremesi olan kültür şişelerinde üreyen etkenler oluşturdukları CO₂ ile şişenin CO₂ seviyesini değiştirir. Bu değer standart kritik seviyeye ulaştığında otomatize Bactec kültür sistemi sesli ve görüntüsel sinyal vermeye başlar. Bu şekilde üreme sinyali veren kan kültürü şişelerinden alınan örnekler gram boyama ile incelenip tomurcuklanan ve/veya hif yapısı olan fungus hücresi görüldüğünde alınan materyallerin Sabouraud dekstroza 0.01ml'lik steril özeyle seyreltme ekim yöntemi ile pasajları

yapıldı. Ayrıca bakteriyal etkenleri ekarte etmek için kanlı ve EMB agara aynı şekilde pasajları yapıldı.

Steril olarak alınarak kültür için laboratuara gönderilen idrar materyalleri, kültür ve hücre sayımları için değerlendirildi.

Santrifüj edilmemiş idrar örneğinde Thoma lamı incelemesinde mm³ de 10 ve üzerinde lökosit varsa piyüri olarak değerlendirildi.

Fungüri için 0.01ml santrifüj edilmemiş idrar lam üzerine yaymadan konuldu ve boyalı preparatı hazırlandı. Boyalı preparatın mikroskop altında x100 immersiyon objektifiyle incelenen her alanda en az bir tomurcuklanan ve/veya hif yapısı olan fungus hücresi görülmesi fungüri pozitif olarak değerlendirildi.

İdrar materyallerine thoma lamında lökosit sayımı, direkt mikroskopi ve gram boyama yapıldı. Direkt mikroskopi ve gram boyamada tomucuklanan ve/veya hif yapısı olan fungus hücreleri görüldüğünde steril idrar materyallerinden 0.01ml steril özeyle alınarak seyreltme ekim yöntemiyle sabouraud dekstroz agara ekildi. Ayrıca bakteriyal bir etkeni dışlamak için kanlı ve EMB agara da özeyle seyreltme ekim yöntemiyle ekimleri yapıldı.

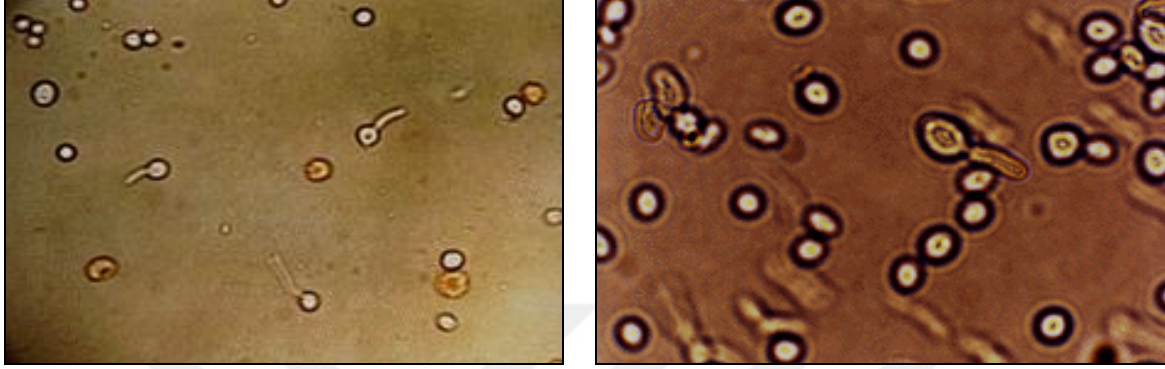
Etüvde 37°C'de 24 ve 48 saatlik inkubasyondan sonra plaklar değerlendirildi. Hamur kıvamında, 0.5-1mm çapında beyaz veya krem renkli, genellikle düzgün sınırlı ve kendine özgü maya kokusu olan kolonilerden direkt ve boyalı preparatlar hazırlanarak mikroskopik incelenmesi yapıldı. Mayalar; mikroskopta genellikle 5-10µm çapında, yuvarlak veya yuvarlağımsı görünümde, çekirdekli, tomucuklanan, hif yada yalancı hif oluşturabilen ve gram olumlu boyanan hücreler olarak görülmektedir. Tek koloni alınarak SDA'ya seyreltme yöntemiyle pasajlandı. 30°C de 24-48 saat inkubasyonlarını takiben gram boyama ile saf oldukları anlaşılan suşların germ tüp testi ile *C.albicans*'ın diğer kandidalardan ayrımı yapıldı. *Nonalbicans* kandida olarak tanımlanan suşların API 20C AUX(Bio Merieux, France) ticari kiti ile tiplendirilmesi yapıldı. Ayrıca tiplendirilen tüm suşlar ve *C.albicans* ATCC-10231 suşu pirinç ekstresi-Tween 80 agarda üretilerek morfolojik görünümüne göre değerlendirildi. Tiplendirmenin ileri aşamalarında ve antifungal duyarlılık çalışmalarında kullanılmak üzere yatkın SDA tüplerine pasaj yapıldı(20). Ayrıca % 15 gliserollü brain heart infusion agar'a pasaj yapıldı ve +4°C'de saklandı.

Germ Tüp Testinin Yapılışı:

0.5ml insan serumu içerisine test edilecek koloniden küçük bir parça eklenip karıştırıldı. 37°C'de 2.5-3 saat inkübe edildikten sonra lam lamel arası preparat hazırlanıp ışık

mikroskopunda x40 büyütmede incelendi. Blastospordan köken alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca belirgin kabarıklık olmayan filament şeklindeki yapılar germ tüpü olarak değerlendirildi. Germ tüpü üreten maya kökenleri *C.albicans* olarak tanımlandı(20,98)(Resim 1).

Resim 1: *C.albicans*'ın germ tüp oluşumu



Api 20 C Aux Maya İdentifikasyon Sistemi:

Hızlı identifikasyon için ticari kitlerden API 20 C AUX (bioMeriux, France) kullanıldı. Api 20 C Aux 19 karbonhidratlar asimilasyon testinin hazırlandığı 20 mikrokuyucuk içerir. Test edilen karbonhidratlar: glukoz, gliserol , 2-keto-D-Glukonat, L-Arabinoz, Adonitol, ksilitol, galaktoz, inozitol, sorbitol, α -Metil-D-Glukosid, asetil-D-Glukozamin, selobiyoz, laktoz, maltoz, sukroz, trehaloz, melebiyoz ve rafinozdur. Mayalar inoküle edildikleri mikrokuyucuktaki karbonhidratı karbon kaynağı olarak kullanıyorsa, o kuyucukta üreme olur. Api 20 C AUX'la mayaların karbonhidrat asimilasyon yetenekleri 24., 48., ve 72. saatte değerlendirilerek sonuç verilir.

Testin uygulanması:

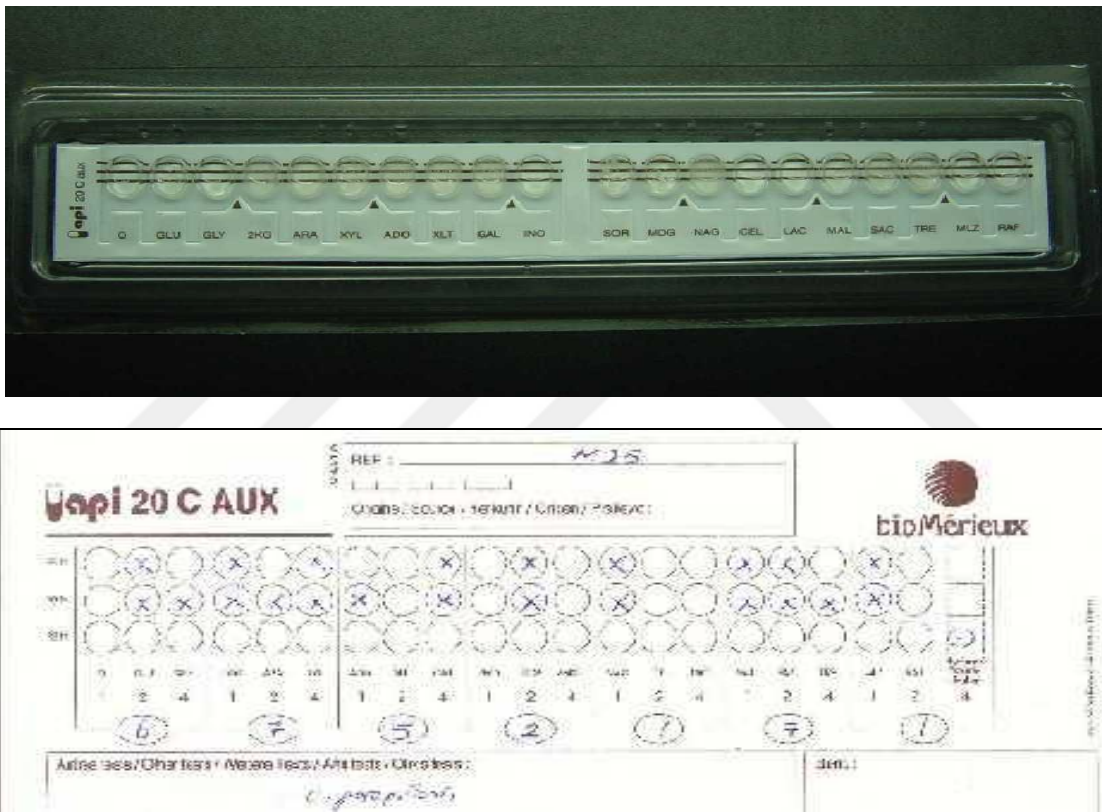
1. Stripin hazırlanması: inkübasyon kabının içindeki kuyucuklar 5 ml distile su ile dolduruldu, strip paketi açılarak kabın içine yerleştirildi.

2. İnokülasyon: SDA'daki 24 saatlik kandida kolonilerinden steril bir öze ile alınarak, 2ml'lik süspansiyon Medium (%0.85 NaCl) içinde karıştırılarak yoğunluğu 2 McFarland'a ayarlandı. Bu süspansiyondan kit içeriğinde olan 100 μ l C medium içine ve 1 damla RAT medium içine aktarıldı. Steril bir pipet kullanılarak , C medium'daki süspansiyondan strip içindeki kuyucuklara dolacak, fakat taşmayacak şekilde dağıtıldı. Strip inkübasyon kabının içine yerleştirilip, kapağı kapatıldı. 30°C'de 24-72 saat inkübasyona bırakıldı. RAT mediumdaki süspansiyon hif oluşumu için, kullanıldı.

3. Stripin okunması: Bulanıklık olan kuyucuklarda üreme pozitif kabul edildi. Negatif kontrolde üremenin olmamasına dikkat edildi. Özellikle glukoz kuyucuğunda belirgin üreme yoksa inkübasyon süresi 24 saatten 72 saate kadar uzatıldı. Üreme olan kuyucuklar not edildi.

4. İdentifikasyon: Bunun için, test prosedürüne göre, pozitif kuyucuklara değerlendirme cetvelinde 1, 2, 4, gibi numaralar verildi. Her bir grup içindeki sayılar toplandı ve sayısal profil elde edildi. Hif oluşumu için de 4 sayı eklendi. Elde edilen sayısal profil, Api 20 C AUX Analytica Profile Index'e göre değerlendirildi(API 20 C AUX, bioMerieux, France kit prosedürü)(Resim 2).

Resim 2: API 20C AUX paneli ve Analitik profil indeksi



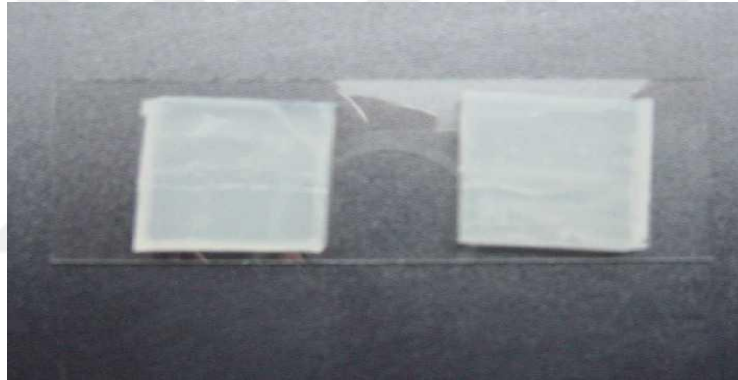
Pirinç Ekstresi-Tween 80 Agar:

%1 Tween 80 eklenmiş pirinç ekstresi agar hazırlandı. 20g pirinç 300ml distile su içinde kaynatılıp bir kaç kat gazlı bezden süzüldü. 20g agar, 20g glukoz, 10ml Tween 80 eklendi. Distile su ile 1 litreye tamamlandı. 121°C' de 1 atmosfer(atm) basınc altında 15 dakika otoklavda bekletilerek steril petri kutularına döküldü.

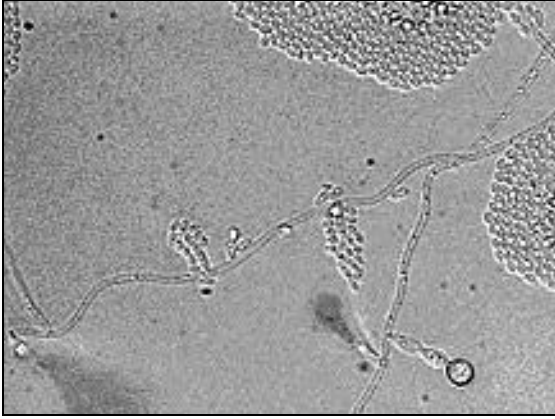
SDA'daki saf maya kolonilerinden iğne uçlu öze yardımıyla bir parça alınıp birbirine paralel üç çizgi şeklinde ekim yapıldı. Ekimlerin, besiyerini yırtmadan ve özeyi dibe kadar

batırmadan yapılmasına dikkat edildi. Her bir mayaya ait ekim işlemleri tamamlandıktan sonra ekim çizgileri üzerine steril lamel kapatıldı. 26°C’de 72 saat inkübe edildi(99)(Resim 3).

Resim 3: Pirinç ekstresi-Tween 80 agarda çizgi ekim kültürü ve lam lamel arası preparatı.



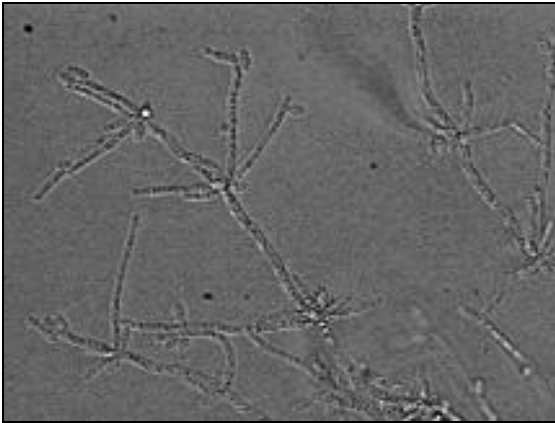
İnkübasyon sonunda klamidospor, blastospor, artrospor, psödohif ve hif oluşturma özellikleri yönünden tüm klinik suşlar ve *C.albicans* ATCC-10231 ışık mikroskopunda x40 büyütme ile incelendi. Değerlendirmeler mayaların bu besiyerindeki mikroskopik görünümüne göre yapıldı. Psödohiflerin uçlarında ve yan dallarında görülen büyük, kalın duvarlı, yuvarlak klamidosporlar ile hif birleşme yerlerindeki blastospor kümeleri *C.albicans*; ağaca benzer şekilde dizilmiş uzun blastosporlar ve psödohif *C.krusei*; psödohif ve hif boyunca tek tek veya ufak kümeler yapacak biçimde dizilim gösteren blastosporlar *C.tropicalis*; psödohif yapısı olmadan ucunda tomurcuklanmalar görülen küçük oval blastosporlar *C.glabrata* lehinde değerlendirildi(Resim 4,5,6,7).



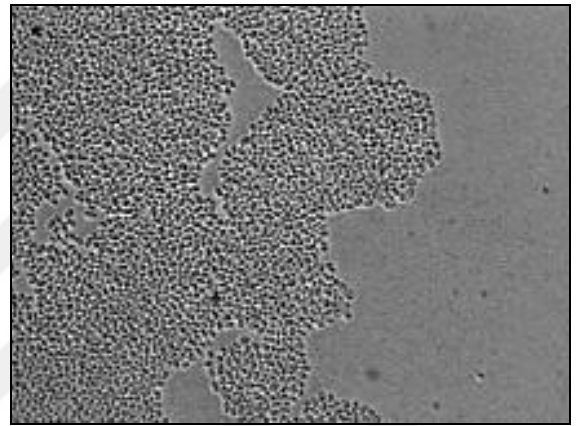
Resim 4: *C.albicans*'in pirinç ekstresi-Tween 80 agarda psödo hif ve klamidospor oluşumu



Resim 5: *C.tropicalis*'in pirinç ekstresi-Tween 80 agarda psödo hif ve blastosporları



Resim 6: *C.krusei*'nin pirinç ekstresi-Tween 80 agarda psödo hif ve uzun blastosporları



Resim 7: *C.glabrata*'nın pirinç ekstresi-Tween 80 agarda küçük oval blastosporları

Antifungal Duyarlılık Testleri

Çalışmaya alınan fungal suşların ve kontrol amaçlı *C.albicans* ATCC-10231 ile birlikte amfoterisin B ve flukonazole için antifungal duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen mikrodilüsyon ve E test yöntemleri ile araştırıldı(25,100).

Mikrodilüsyon yöntemi:

Buyon mikrodilüsyon testi, NCCLS standart makrodilüsyon yöntemi ilkelerine dayanan, az miktarlarla çalışılan uyarlamasıdır. Yöntem NCCLS önerileri doğrultusunda hazırlandı ve uygulandı(25,28).

Antifungal ajanlar: Amfoterisin B(Sigma Chemical Co. St Louis, MO, USA) ve flukonazol(Pfizer ilaçları AŞ, İstanbul, Türkiye)'un saf etken maddeleri kullanıldı. Flukonazol'ün 5120µg/ml'lik stok solüsyonu steril distile su içinde, amfoterisin B'nin

1600µg/ml'lik stok solüsyonları dimetil sülfoksit(DMSO)(sigma Chemical Co, St Louis, MO USA) içinde çözülerek hazırlandı. Por genişliği 0.22µm olan filtrelerden süzülerek teste kullanılacak en yüksek konsantrasyonun 10 ve 100 katı olacak şekilde porsiyonlara bölündü ve -70°C'de kullanılıncaya kadar saklandı. Amfoterisin B solüsyonunun ışıktan korunmasına özen gösterildi(25).

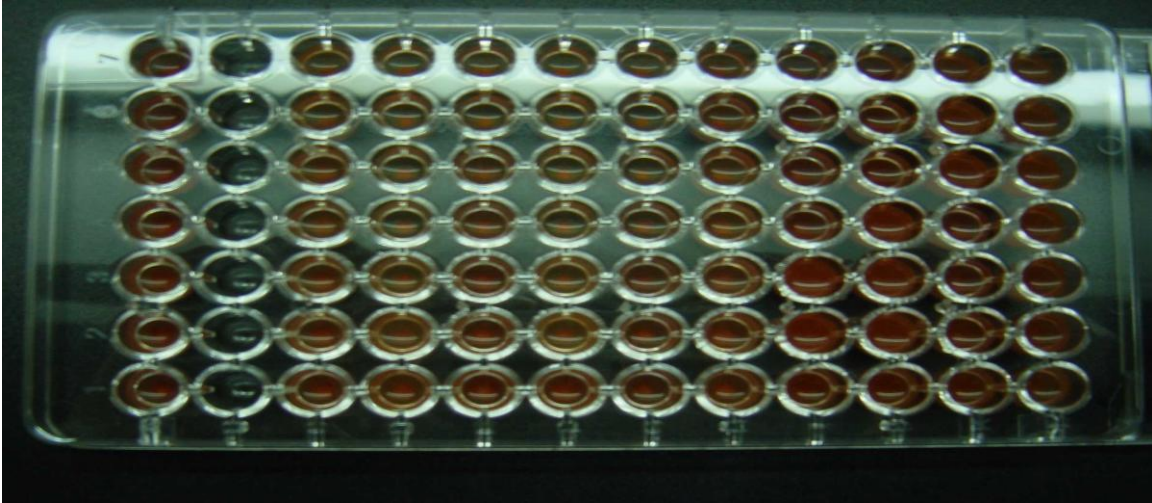
Besiyeri Hazırlanması: Besiyeri olarak RPMI 1640(L glutaminli, fenol kırmızısı indikatörü içermeyen) MOPS ile tamponlanmış, PH:7.0 olan 1 litrelik hazır besiyeri(Sigma Chemical Co, St Louis; MO, USA) kullanıldı. 900ml distile suya hazır besiyeri konuldu. 20g/lt glikoz eklendi. Karışım magnetik çeviricide eritildi. Distile su ile son hacim 1 litreye tamamlandı. Besiyeri 0.42µm olan filtre ile süzülerek steril edildi ve kullanıncaya kadar +4°C'de saklandı(25,28).

İlaç sulandırımı: Suda çözünen flukonazol'un stok solüsyonundan, hazırlanan besiyeri ile dilüe edilerek, son konsantrasyon 64-0.125µg/ml olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı. DMSO'da çözünen amfoterisin B'nin stok solüsyonundan, DMSO ile dilüe edilerek, son konsantrasyon 16-0.0313µg/ml'nin 100 katı olan 1600-3.13µg/ml olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı. Daha sonra DMSO'daki dilüsyonlar test besiyeri ile 1/10 oranında sulandırılarak son konsantrasyonun 10 katı olan ilaç dilüsyonları elde edildi(25). İlaçların 10 katı olan ilaç dilüsyonları test besiyeri ile 1:5 oranında sulandırılarak son konsantrasyonun iki katı olan test ilaç dilüsyonları elde edildi.

Maya inokulumunun hazırlanması: Test edilecek izolatların saf kültür elde etmek ve kolonileri tek tek düşürmek için iki kez SDA'ya pasajları yapıldı. Her izolatın SDA'daki 24 saatlik kültüründen yaklaşık 1mm çaplı kolonilerden 5-7 tane alınarak, 5ml steril serum fizyolojik içinde homojen süspansiyonu hazırlandı. Bu solüsyonun bulanıklığı, spektrofotometrik olarak 530nm'de Mc Farland 0.5 standardının bulanıklığına ayarlandı. Daha sonra maya süspansiyonu vortekste 15 saniye çalkalandı. Test besiyeri ile 1:100 oranında sulandırılarak son konsantrasyonun iki katı olan test maya inokulumu($1-5 \times 10^3$ CFU/ml) elde edildi.

Testin yapılışı: Son konsantrasyonun iki katı olacak şekilde hazırlanan ilaç solüsyonundan 100µl mikrodilüsyon plağındaki(steril bir kere kullanılan çok kuyucuklu) her bir suş ve standart suş için 10 kuyucuğa konarak üzerine 100µl maya süspansiyonu ilave edildi(Resim 8). Kontrol için ilaç içermeyen mikroorganizma süspansiyonundan, maya içermeyen besiyerinden, amfoterisin B içermeyen DMSO'dan 100µl kontrol kuyucuklarına konuldu.

Resim 8: Antifungal duyarlılık testinin yapıldığı mikrodilüsyon plağı



İnkubasyon ve MİK değerlerinin saptanması: Mikrodilüsyon plakları 35°C de 24-48 saat inkübe edildi. Mikroorganizma kontrolünde üreme olduğu ve besiyeri kontrolünde üreme olmadığı tespit edildikten sonra, MİK değerleri NCCLS'in önerdiği kriterlere göre saptandı. Amfoterisin B için üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak tespit edildi(25). Flukonazol için MİK değeri; Azol grubu antifungallerde görülen kısmi inhibisyon nedeni ile laboratuvarlar arasında farklı sonuçlar elde edildiğinden, üremeyi %80 inhibe eden en düşük konsantrasyon MİK-80 olarak belirlendi. MİK-80 değerini belirlerken mikroorganizma kontrol kuyucuğundan 40µl alınarak 160µl besiyeri ile(1/5 oranında) karıştırıldı. Test kuyucuklarının bulanıklığı bu kuyucukla karşılaştırılarak MİK değerleri saptandı(25,28).

E test

Antifungal ajanlar: Bu yöntemde amfoterisin B ve flukonazol E test antifungal şeritleri(AB Biodisk, Solna, Sweden) kullanıldı. Konsantrasyon aralığı amfoterisin B için 0.002-32µg/ml, flukonazol için ise 0.016-256µg/ml idi. E test şeritleri kullanıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Besiyeri: Besiyeri olarak MOPS tamponlu RPMI 1640(L glutaminli, fenol kırmızısı içermeyen) PH: 7.0 olan hazır besiyeri(Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) kullanıldı. E test şeritlerini sağlayan firmanın prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve kullanıldı(E test technical guide 4, E test technical guide 4b; AB Biodisk, Solna, Sweden).

Besiyerinin hazırlanması: MOPS tamponlu RPMI 1640(L glutaminli, fenol kırmızısı içermeyen) PH: 7.0 olan hazır besiyeri(Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) 20gr glikoz

ve 450ml distile su ilave edilip magnetik çevirici yardımıyla eritildi. Hazırlanan solüsyon distile su ile 500ml'e tamamlandı. Por genişliği 0.22µm filtreden geçirilerek sterilize edildi. Kullanıncaya kadar +4°C'de saklandı. Karışım agar solusyonun katılaşmasını önlemek için hazırlanmadan 1 saat önce 37°C'de 1 saat tutuldu. Bacto agar 15g 450 ml distile suda çözüldü. Distile su ile 500ml'e tamamlandı. Otoklavda 121°C'de 1 atm basınc altında 15 dakika sterilize edildi. 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra besiyeri solusyonu karıştırılıp, 90mm'lik petrilere döküldü. Her iki antifungal ajan için kullanıldı.

Demografik parametreleri:

Çalışmaya dahil edilen fungusların izole edildiği hastaların yattığı servisler, yaşı, cinsiyeti, altta yatan hastalığı ve yapılan uygulamaları değerlendirildi.

İnfeksiyon parametreleri:

- 1- Mikotik infeksiyon dışında bir nedenle izah edilemeyen, 38°C ve üzerinde ya da 36°C' nin altında ateş,
- 2-Beyaz kürenin 4000/mm³'den düşük veya 12000/mm³'den yüksek olması,
- 3-CRP'nin 0.5mg/dL' den yüksek olması,
- 4-İdrar mikroskopisinde(Thoma kamerasında) lökosit varlığı ve fungal etken varlığı,
- 5-Kan ve/veya idrar kültürlerinde fungal etken üremesi.

Klinik tanımlamalar ve tanı kriterleri:

Fungemi: Klinik olarak infeksiyonla uyumlu olup hastaneye yattıktan en erken 72 saat sonra alınan iki ve daha fazla kan kültüründe fungal etken üremesi,

Geçici fungemi: Klinik olarak infeksiyonla uyumlu olmayıp kan kültürlerinde bir kez fungal etken üremesi ve 10 günlük takipte diğer kan kültürlerinde üreme olmaması

Fungüri: İdrar kültürlerinde fungal etken üremesi,

Ayrıca fungürinin klinik olarak infeksiyon kabul edilmesi için, 24 saat aralıklarla alınan ardışık iki idrar kültüründe fungal etken üremesi, idrarların direkt mikroskopi ve boyalı preparatlarında fungal etken görülmesi ve kültür pozitifliği öncesi 7 günlük süre içinde sistemik veya lokal antifungal tedavi almaması, idrar sondası olan hastalarda ise katater değişimi ve/veya çekilmesinden 24 saat sonra kültür pozitifliğinin devam etmesi şartı arandı.

Antifungal tedavi alan hastaların infeksiyon parametrelerinin düzelmesi ve tedavi sırasında alınan materyallerinde üreme olmaması **klirik cevap** olarak tanımlandı.

Verilen antifungal tedavinin kesilmesi **tedavi süresi** olarak belirlendi.

İnfeksiyon kabul edilen hastalara verilen antifungal tedavi incelendi. Tedavide kullanılan antifungal ilaçlar, klinik cevap, tedavi süresi ve gözlenen yan etkiler tesbit edildi. Mortalite değerlendirildi.

Antifungallerin Duyarlılık sınırları:

Amfoterisin B(RPMI-glukoz agar) MİK değeri:

Duyarlı (S): $\leq 1 \mu\text{g/ml}$; **Dirençli(R):** $1 \mu\text{g/ml} <$

Flukonazol MİK değeri:

Duyarlı(S): $\leq 8 \mu\text{g/ml}$; **Doza bağlı duyarlı(SDD):** $16-32 \mu\text{g/ml}$; **Dirençli(R):** $\geq 64 \mu\text{g/ml}$

İstatiksel analizde niteliksel ifadelerde yüzde sayı alındı. Sayısal değerlerde χ^2 testi kullanıldı.

BULGULAR

Ocak 2000-Temmuz 2001 döneminde tüm servislerden Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen kan materyallerinden 27 ve idrar materyallerinden 98 olmak üzere toplam 125 fungal suş izole edildi. İzole edilen suşların *Candida* ve *Trichosporon* türü fungal etkenler olduğu saptandı.

Her iki klinik örnekten izole edilen suşların dağılımı; %59.2(74/125)'si *C. albicans*, %15.2(19/125)'si *C.tropicalis*, %12.8(16/125)'i *C.parapsilosis*, %4.8(6/125)'i *C.krusei*, %4(5/125)'ü *T.asahii*, %1.6(2/125)'sı *C.kefyr*'i iken %2.4(3/125)'ü ise birer izolatla *C.glabrata*, *C.lipolytica* ve *C.lusitaniae* idi (Tablo 7).

Kan kültürlerinden izole edilen suşların %40.7(11/27)'si *C.albicans* iken %59.3(16/27)'ü *C.albicans* dışı *Candida* suşları idi. Kan kültüründen ise en sık izole edilen suş *C.albicans*(%40.7) iken ikinci sıklıkta *C.parapsilosis*(%29.6) ve üçüncü sıklıkta *C.krusei*(%11.1) izole edildi. *C.kefyr* ve *C.lipolytica* suşları ise sadece kan kültürlerinden izole edildi. Buna karşın; idrar kültürlerinden izole edilen suşların %64.3(63/98)'ü *C.albicans* iken %35.7(35/98)'si *C.albicans* dışı *Candida* suşları idi. İdrar kültürlerinden en sık izole edilen suşun *C.albicans*(%64.3) ikinci sıklıkta *C.tropicalis*(%17.3) ve üçüncü sıklıkta *C.parapsilosis*(%8.2) olduğu saptandı. Bundan başka *T.asahii*, *C.lusitaniae* ve *C.glabrata* suşları sadece idrar kültürlerinden izole edildi(Tablo 7).

Ayrıca *C.parapsilosis* ve *C.krusei* sırasıyla %6.4 ve %2.4 oranında hem kan hem de idrar kültürden izole edildi.

Tablo 7: İzole edilen suşların alınan kültürlerle göre dağılımı

Suşlar	İdrar		Kan		Toplam		Pdeğeri
	n	%	n	%	n	%	
<i>C.albicans</i>	63	50.4	11	8.8	74	59.2	0.00
<i>C.albicans</i> dışı diğer <i>Candida</i> türleri	35	28.0	16	12.8	51	40.8	0.00
<i>C.tropicalis</i>	17	13.6	2	1.6	19	15.2	0.16
<i>C.parapsilosis</i>	8	6.4	8	6.4	16	12.8	0.00
<i>C.krusei</i>	3	2.4	3	2.4	6	4.8	0.11
<i>T.asahii</i>	5	4	-	-	5	4	0.28
<i>C.lusitaniae</i> (1), <i>C.glabrata</i> (1)	2	1.6	-	-	2	1.6	0.61
<i>C.kefyr</i> (2), <i>C.lipolytica</i> (1)	-	-	3	2.4	3	2.4	0.00
Toplam	98	78.4	27	21.6	125	100.0	

Suşların amfoterisin B ve flukonazole E test ve standart mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılan duyarlılıklarında ise MİK değeri 16µg/ml olan bir *C.krusei* suşunun flukonazole doza bağımlı duyarlılığı dışında dirençli suş saptanmadı(Tablo 8). Standart mikrodilüsyon ve E test yöntemleri karşılaştırıldığında +2 dilüsyona göre %100 uyumlu olduğu saptandı.

Tablo 8: İzole edilen suşların antifungal duyarlılıkları

Suşlar	n	Flukonazol		Amfotericin B	
		E-test (µg/ml)	MD* (µg/ml)	E-test (µg/ml)	MD* (µg/ml)
<i>C.albicans</i>	74	0.125-4	0.125-2	0.004-0.125	0.003-0.5
<i>C.tropicalis</i>	19	0.75-4	0.125-2	0.032-0.064	0.03125-0.5
<i>C.parapsilosis</i>	16	0.5-4	1-4	0.003-0.094	0.0625-0.5
<i>C.krusei</i>	6	6-16	8-16	0.064-1	0.125-1
<i>T.asahii</i>	5	4-6	4-8	0.002-1	0.125-1
<i>C.kefyr</i>	2	4	4	0.19-0.5	0.0625-0.125
<i>C.glabrata</i>	1	6	8	0.38	0.125
<i>C.lipolytica</i>	1	4	4	0.094	0.0625
<i>C.lusitaniae</i>	1	6	8	1	1
<i>C.albicans</i> (ATCC 10231)	-	1	0.5	0.5	0.5

*: Mikrodilüsyon yöntemi

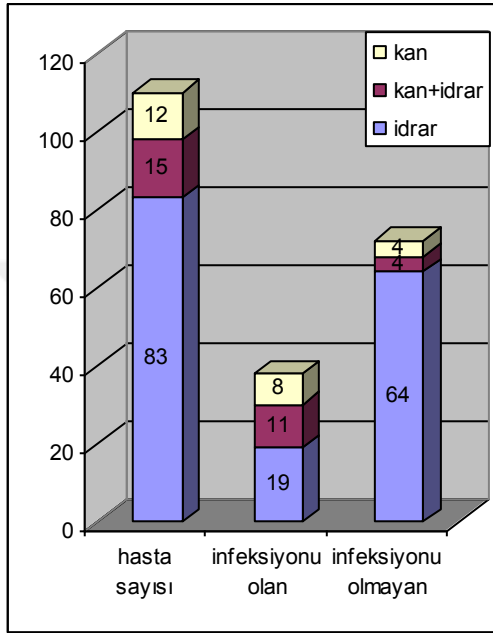
Çalışmamızda elde edilen fungusların 61'i kadın, 49'u erkek hastalardan izole edildi. İki cinsiyet arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0.05$). Yaş ortalaması 36.3 ± 26.1 (0-87 yaş) olup, kadınların yaş ortalaması 41.9 ± 25.4 (0-87 yaş) iken, erkeklerin yaş ortalaması 29.4 ± 25.5 (0-76 yaş) idi. Çalışmaya alınan hastaların %37.3(41/110)'ü Cerrahi yoğunbakım ünitesinde, %18.2(20/110)'si Dahiliye servisinde ve %44.5(49/110)'i diğer servislerde yatmaktaydı (Tablo 9).

Tablo 9: Hastaların demografik özellikleri

Hasta sayısı	110
Cinsiyet K/E	61/49:1.2
Yaş ortalaması	36.3 ± 26.1
Servis dağılımı	
Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	%37.3(41)
Dahiliye	%18.2(20)
Diğer Servisler	%44.5(49)
Altta yatan hastalığı olan	%44.5(49)
KBY	%13.6(15/110)
Immunsupresif hastalık	%8.2(9/110)
Prematurite	%7.3(8/110)
Diabetes mellitus	%3.6(4/110)
Mental Motor Retardasyon	%3.6(4/110)
Konjestif Kalp Yetmezliği	%3.6(4/110)
Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı	%2.7(3/110)
Bening Prostat Hipertrofisi	%1.8(2/110)
Altta yatan hastalığı olmayan	%55.5(61)
Uygulanan invaziv girişim	
İdrar sondası	%90.0(99/110)
Periferik vasküler kateter	%64.5(71/110)
Santral venöz kateter	%40.9(45/110)
Operasyon	%35.5(39/110)
Dren	%32.7(36/110)
Trakeostomi	%20.9(23/110)
Ventrikülo-Peritoneal şant	%0.9 (1/110)

İzole edilen toplam 125 suşun 83'ü idrar kültüründen, 12'si kan kültüründen ve 15'i ise hem idrar hem de kan kültüründen izole edildi.

Sadece kan kültüründe üremesi olan %10(11/110) hastanın %72.7(8/11)'sinin, sadece idrar kültüründe üremesi olan %75.4(83/110) hastanın %22.9(19/83)'ünün ve hem idrar hem de kan kültüründe üremesi olan %13.6(15/110) hastanın %73.3(11/15)'ünün klinik olarak infeksiyon ile uyumlu olduğu saptandı. Sadece kan kültüründe üremesi olan %3.6(4/110) hasta ve hem kan hem de idrar kültüründe üremesi olan %3.6(4/110) hastanın klinik olarak infeksiyonla uyumlu olmadığı saptandı(Grafik 1).



Grafik 1: Suşların izole edildikleri materyaller

Hastaların kliniklerinin %24.5(27/110)'inin kandidemi, %75.5(83/110)'inin kandidüri ile uyumlu olduğu saptandı. Kandidemili hastaların %70.4(19/27)'ü infeksiyonla uyumlu olarak değerlendirildi. Kandidemilerin %44.4(12/27)'ünde sadece kan kültüründe üreme varken, %55.5(15/27)'inde aynı zamanda idrar kültüründe de üreme mevcuttu. Kandidürili hastaların %22.9(19/83)'i infeksiyonla uyumlu iken, %77.1(64/83)'sı infeksiyonla uyumlu değildi. Çalışmamızdaki 8 olguda tek kan kültür pozitifliği saptandı ve geçici kandidemi olarak değerlendirildi. Bu olguların sadece dördünde kan kültüründe üreme varken dördünde hem kan hem de idrar materyalinde üremesi mevcuttu. Ayrıca geçici kandidemi oranımız takip edilen tüm olgularımız arasında %7.3(8/110) idi. Kandidemili olgularımızın %29.6(8/27)'si de geçici kandidemi ile uyumlu idi. Olguların beşinden *C.albicans*, ikisinden *C.parapsilosis* ve birinden *C.kefyr* izole edildi. Tedavisiz izlemlerinde olguların hiç birinde mortalite gözlenmedi.

Fungal infeksiyonla uyumlu olduğu saptanan toplam 38 hastanın tedavisinde, 24'ünde kullanılan amfoterisin B preparatının 14'ü lipozomal amfoterisin B, 6'sı klasik amfoterisin B

ve 4'ü Amfoterisin B lipit kompleks, 14'ünde kullanılan flukonazol preparatı ise triflukonazoldü(Tablo 10). Verilen antifungal tedavilerin üçünde lipozomal amfoterisin B den triflukonazole, ikisinde triflukonazolden lipozomal amfoterisin B'ye değişiklik yapılırken birinde ise ateş, döküntü ve nefrotoksik yan etki nedeni ile klasik amfoterisinden lipozomal formuna geçildiği saptandı. Klinik cevap bir hasta dışında 3-10 günde alınmış olup tedavi ise 3 hasta dışında 7-21 günde sonlandırılmıştır. Tedaviyi tamamlayamayan 4 hastanın üçü klinik cevap oluşmasına rağmen primer yatış sebebine bağlı klinik kötüleşme nedeniyle, birine tanı konulup uygun tedavi başlanmasına karşın tedavinin 2. gününde kaybedilmiştir. Tedaviye cevap oranı ise % 89.5(34/38) olarak saptanmıştır. Tedavi alan kandidemili olgularda tedavi başarı oranı %84.2(16/19) iken tedavi alan kandidürili olgularda tedavi başarı oranı %94.7(18/19)'dir.

Tablo 10: Kullanılan antifungallerin dağılımı

Antifungal	n	%
Lipozomal amfoterisin B	14	36.8
<i>Lipozomal amfoterisin B →Triflukonazol</i>	3	7.9
Triflukonazol	14	36.8
<i>Triflukonazol →Lipozomal amfoterisin B</i>	2	5.3
Klasik amfoterisin B	6	15.8
<i>Klasik amfoterisin B →Lipozomal amfoterisin B</i>	1	2.6
Amfoterisin B lipit kompleks	4	10.5
Toplam	38	100.0

Antifungallerin günlük maliyeti değerlendirildiğinde en ucuz olanın klasik amfoterisin B, en pahalı olanın ise lipozomal amfoterisin B olduğu görülmüştür. Triazol grubunda ise en ucuz Lumen idi(Tablo 11).

Tablo 11: Antifungallerin günlük maliyeti

İlaç	Günlük doz	Maliyet(TL/gün)
Amfoterisin B		
Klasik amfoterisin B ^R (Bristol Myers)	50 mg	14.383.000
Amphotericin B kolloidal dispersiyon ^R (Zeneca)	100mg	392.500.000
Amfoterisin B lipit kompleks ^R (Onko)	100 mg	401.002.000
Lipozomal amfoterisin B ^R (Er-Kim)	50 mg	568.484.000
Flukonazol		
Lumen ^R (Mustafa Nevzat)	400mg	23.039.600
Triflucan ^R (Pfizer)	400mg	57.156.000

Fungal infeksiyon tanısı ile izlenen tüm hastaların % 9.1(10/110)'i kaybedildi. Bu oran kandidemili hastalarda %11.1(3/27) iken kandidürili hastalarda %8.4(7/83) olarak tesbit edildi. Bu iki klinik arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmedi($P>0.05$). Mortalite en fazla cerrahi YBÜ'de (%5.5) olup, mortal seyreden olgularda izole edilen suşların 4'ü *C.albicans*, 4'ü *C.tropicalis*, 1'i *C.parapsilosis* ve 1'i *C.krusei*'di.



TARTIŞMA

Özellikle immun sistemi baskılanmış olan kişilerde fırsatçı infeksiyonlara yol açan mantarlar eksojen olarak doğada, endojen olarak mikroflorada yaygın olarak bulunurlar(101).

Mantar infeksiyonlarının patogenezi, mukoza yüzeylerine yapışma ve burada çoğalarak dokuya nüfuz etme ve altta yatan dokuda bir yangı cevabı oluşturma şeklindedir. Bu süreç, mantarın çimlenme borusu ve hif oluşumu ve enzim (fosfolipazlar ve proteinazlar) üretimi gibi hastalık yapıcı birçok özelliği ile konağın duyarlılığına bağlıdır. Bu etkileşimin sonucu ya kolonizasyon ya da klinik bulguların eşlik ettiği infeksiyonla sonuçlanabilir. Mantarların sadece izole edilmiş olması tedavi için yeterli değildir. Tedavi için bazı bulguların desteklemesi gerekir. Örneğin orofarinksin alt kısmında gelişmiş gastrointestinal sistem kandidozlarında; desendan yolla direkt inokülasyon sonucu gelişmiş bronkopnömonilerde; çoğunlukla üriner kateter aracılığıyla gelişmiş üriner sistem kandidozlarında dışkı, balgam ve idrar kültürlerindeki üremelerin kolonizasyon ve kontaminasyon olma olasılığının yüksekliği nedeniyle anlamları çok düşük olduğundan klinik bulgulara ve destekleyici tanı yöntemlerine ihtiyac vardır. Dolayısıyla mantar hastalıklarının klinik verileri ile laboratuvar bulgularının çok iyi bilinmesi ve laboratuvar sonuçlarının yorumlanmasında doğru yaklaşımların yapılması tedavi gecikmelerini ya da gereksiz tedavi programlarını önleyecektir.

Kültürde izole edilen kandidaların anlam ifade edebilmesi için, klinik bulguların olması veya aynı örnekten birden fazla sayıda aynı türün izole edilmesi gerekmektedir(69). Bu da, fungal kültür için alınan materyallerden elde edilen mantarların tümünün tür düzeyinde tanımlanarak bildirilmesi zorunluluğunu ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca, tür düzeyinde tanımlama son yıllarda infeksiyon etkeni olarak tedaviye dirençli türlerin görülme sıklığının artması nedeniyle, tedaviye yanıtın izlenmesinde ve klinik relapsların değerlendirilmesinde de yararlı olmaktadır(102).

Mantarların laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler arasında germ tüp testi *C.albicans*'ın hızlı idantifikasyonu için uzun zamandan beri kullanılmakta olan günümüzde de değerini koruyan, basit ve oldukça duyarlı bir testtir. Bu testin uygulamada kullanılan insan serumunun saklama sorunu, deney sırasında bulaşabilen bazı infeksiyonlara yakalanma

riskinin varlığı ve *C.albicans* dışındaki türlerin idantifikasyonunun yapılamaması gibi dezavantajları vardır(20). *C.albicans* kökenlerinin %95-97'i germ tüp oluşturduğu bildirilmiştir(98,103). Çalışmamızda %59.2(74/125) suşun germ tüp oluşturduğu görülmüştür. Bu suşların Pirinç ekstresi-Tween 80 agarda tipik klamidiospor oluşumu ve ticari karbon hidrat asimilasyon testi olan API C AUX ile *C.albicans* olduğu kesinleşmiştir.

Son yıllarda, kandidaların çabuk ve kolay idantifikasyona yönelik ticari kitler geliştirilmiştir. Bunlardan API 20C AUX pek çok çalışmada kullanılmıştır (27,76,98,104). Bu çalışmaların bazılarında API 20C AUX diğer ticari kitlerle ve/veya klasik yöntemlerle karşılaştırılmaktadır. Fenn JP ve arkadaşları, germ tüp negatif 406 maya kökeninin idantifikasyonunda API 20C AUX ile %99.3 oranında doğru olarak idantifiye edildiğini, *C.krusei* kökenlerinden bazılarının *C.rugosa* ve *C.zeylanoides*, olarak tanımlandığını bildirmişlerdir(104). Torres-Rodriguez ve arkadaşları, API 20C AUX'u standart kabul edip Microring YT ile karşılaştırmışlar ve ikisi arasında %77 uyum olduğunu bildirmişlerdir(105). Bazı çalışmalarda ise API 20C AUX'un mayaların idantifikasyonunda standart klasik yöntemlerle birlikte kullanıldığını belirtmekte fakat güvenilirliği ile ilgili bir oran verilmemektedir(27,76,98). Çalışmamızda ise API 20C AUX ile tüm suşlar tanımlandı.

Son yıllarda kandida infeksiyonlarının insidansındaki artışa paralel olarak pek çok yeni antifungal ajan kullanıma girmiş ve bunların profilaksi ve tedavide kullanımları giderek yaygınlaşmıştır. Özellikle triazol grubu antifungal ajanların sık kullanılması ile hem *C.albicans* dışındaki türlerde artış hem de antifungal ajanlara dirençte artış saptanmış ve bütün bunların sonucunda antifungal ajanların invitro duyarlılıklarını ölçen testler daha da önem kazanmış ve buna yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır(106). NCCLS tarafından standart makrodilüsyon yönteminin önerilmesi bu konuda önemli bir adım olmuştur. Ancak standart yöntemle çalışılması zor ve zaman alıcı olduğu için, alternatif yöntem arayışına gidilmiş ve mikrodilüsyon yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmamızda izole ettiğimiz ve tiplendirdiğimiz *Candida* türlerinin sistemik kullanımı olan amfoterisin B ve flukonazole karşı invitro antifungal duyarlılıkları standart mikrodilüsyon ve alternatif yöntemlerden E test ile araştırılarak, sonuçlar MİK'e göre değerlendirildi.

Candida kökenlerinin in vitro antifungal duyarlılıklarının araştırıldığı çalışmalarda *C.albicans* kökenlerinde saptanan MİK değerlerinin, diğer kökenlerde saptanan MİK değerlerinden daha düşük olduğu bildirilmiştir(27,28,107). Gülay ve arkadaşları, kan kültüründen soyutlanan *Candida* kökenlerinde makrodilüsyon yöntemiyle flukonazol'un MİK 50 değerini *C.albicans*'ta 0.25µg/ml; *C.parapsilosis*'de 0.5µg/ml; *C.pseudotropicalis*

(*C.kefyr*)’de 0.25µg/ml ve *C.guilliermondii*’de 4µg/ml olarak bildirmişlerdir(108). Ermertcan ve arkadaşları, kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* kökenlerinde, makrodilüsyon yöntemiyle flukonazol duyarlılığının *C.albicans*> *C.parapsilosis*> *C.glabrata*=*C.krusei* olarak sıralandığını bildirmiştir(28). Molbay ve arkadaşları, kan kültüründen soyutlanan *Candida* kökenlerinde, makrodilüsyon yöntemiyle saptanan flukonazol duyarlılığında MİK 50 ve MİK 90 değerlerinin *C.albicans*’ta 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml iken; diğer kökenlerde 0.25 µg/ml ve 1 µg/ml olduğunu bildirmişlerdir(27). Price ve arkadaşları, beş yıllık süreyle kan kültürlerinden soyutladıkları *Candida* kökenlerinin flukonazole duyarlılığının makrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK 50, MİK 90 değerlerinin; *C.albicans*’ta ≤0.125 µg/ml ve 0.25 µg/ml; *C.tropicalis*’te 0.5µg/ml ve 1µg/ml; *C.parapsilosis*’te 0.5µg/ml ve 1µg/ml; *C.glabrata*’da 2µg/ml ve 8µg/ml; *C.krusei*’de 16µg/ml ve 32µg/ml olarak saptamışlardır(109). Simor ve arkadaşları kan kültürlerinden soyutlanan mayalarda amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve ketokonazol duyarlılığını mikrodilüsyon ve E test ile araştırmışlar ve *C.albicans* kökenlerinde saptanan MİK 50 ve MİK 90 değerlerinin diğer *Candida* kökenlerinden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir(107). Wilke ve arkadaşları, kanserli hastalardan izole edilen *Candida* kökenlerinde amfoterisin B ve flukonazol MİK aralığını sırasıyla; *C.albicans*’ta ≤0.06-2µg/ml ve ≤0.06-4µg/ml; *C.glabrata*’da ≤0.06-4µg/ml ve ≤0.06-8µg/ml; *C.tropicalis*’te ≤0.06-2µg/ml ve 1-4µg/ml; *C.krusei*’de ≤0.06-0.25µg/ml ve 8>µg/ml olarak saptamışlardır(110). Çalışmamızda amfoterisin B MİK aralığı *C.albicans*’ta ≤0.5µg/ml olup *C.krusei*, *C.lusitaniae* ve *T.asahii*’de ≤1µg/ml; *C.tropicalis*, *C.kefyr* ve *C.parapsilosis*’te ≤0.5µg/ml, *C.glabrata* ve *C.lipolytica*’da ise <0.5µg/ml saptanırken flukonazol MİK aralığı *C.albicans*’ta ≤2µg/ml olup *C.krusei* ≤16µg/ml ve *T.asahii*, *C.glabrata*, *C.lusitaniae*’da ≤8µg/ml; *C.kefyr*, *C.tropicalis*, *C.lipolytica* ve *C.parapsilosis*’te ise ≤4 olarak saptandı. *C.albicans* kökenlerinde flukonazol MİK değerleri, diğer kökenlerde saptanan MİK değerlerinden diğer çalışmalarda olduğu gibi daha düşük olarak belirlendi(Tablo 8).

E test için farklı ortamların kullanıldığı çalışmalar incelendiğinde; Arıkan ve arkadaşları, *Candida* kökenlerinin Amfoterisin B’ye in vitro duyarlılığının belirlenmesinde Antibiotic Medium 3 Besiyeri ile RPMI 1640 besiyeri kullanımını karşılaştırdıkları bir çalışmada, iki besiyeri ile elde edilen sonuçlar arasındaki uyumun %92.6 olduğunu, besiyerine bağlı MİK değerinde belirgin yükselme olan köken olmadığını bildirmişlerdir(111). Rex ve arkadaşları, benzer bir çalışmada, Antibiotic Medium 3 Besiyeri’nin sadece dirençli kökenlerin MİK değerlerinde yükselmeye neden olduğunu, duyarlı kökenler her iki besiyerinde de test edildiğinde elde edilen MİK dağılımlarının benzer olduğunu

bildirmişlerdir(112). Dannaoui ve arkadaşları, orofaringeal kandida infeksiyonu olan hastalardan soyutlanan *C.albicans* kökenlerinde E test yöntemiyle, amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazol duyarlılığını farklı besiyerlerinde (RPMI 1640, Yeast Nitrogen Base Agar ve sadece azoller için Casitone Agar) çalışmışlar; ortalama MİK değerlerinin üç besiyerinde de farklı olmadığını ancak Yeast Nitrogen Base Agar'daki MİK değerlerinin RPMI 1640 ve Casitone Agar'da saptananlardan düşük bulunduğunu ve ayrıca Casitone Agar'da keskin sınırlar oluşması nedeniyle, değerlendirilmenin daha kolay yapıldığını bildirmişlerdir(113). Favel ve arkadaşları, *C.lusitaniae* kökenlerinde amfoterisin B, flusitozin, ketokonazol, flukonazol, itrakonazol duyarlılığının belirlenmesinde E test yönteminde RPMI 1640 veya Casitone Agar kullanılarak elde edilen sonuçların, makrodilüsyon yöntemine uyumları arasında fark olmadığını bildirmişlerdir(114). Çalışmamızda ise fosfat tamponlu RPMI 1640 agarda saptanan MİK değerlerinin diğer çalışmalara benzer olduğu, Ayrıca bu besiyerinde flukonazolün kısmi inhibisyon zonu oluşturması nedeniyle zon çapının keskin olmadığı saptandı.

E test yönteminin güvenilirliğinden bahsedebilmek için, standart yöntemlerle karşılaştırılması gereklidir. *Candida* kökenlerinde antifungal duyarlılığın saptanmasında, E test ile makrodilüsyon yönteminin karşılaştırıldığı çalışmaların bazılarında ± 1 dilüsyonlar (2 kattan farklı olmayan), bazılarında ise ± 2 dilüsyonlardaki (4kattan farklı olmayan) MİK değerleri aynı kabul edilmiş ve iki yöntemin uyum yüzdesi verilmiştir(111-113). Van Eldere ve arkadaşları, E test ile standart makrodilüsyon yönteminin uyumunun çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* kökenlerinde amfoterisin B için %89 flukonazol için %96 (± 1 dilüsyonlar aynı), Chen ve arkadaşları, flukonazol için %73-89 (± 1 dilüsyonlar aynı) ve %87-100 (± 2 dilüsyonlar aynı); Wagner ve arkadaşları, amfoterisin B için %96-97, flukonazol için %80, ketokonazol için %71, itrakonazol için %84(± 1 dilüsyonlar aynı) olduğunu bildirmişlerdir(115-117). Arıkan ve arkadaşları ise, immunsuprese hastalardan soyutlanan *Candida* kökenlerinde E test ile beraber mikrodilüsyon ve kolorimetrik mikrodilüsyon yöntemlerinin de standart makrodilüsyon yöntemi ile uyumunu araştırmışlar ve amfoterisin B için %86-93, flukonazol için % 84-89 olduğunu bildirmişlerdir(118). Çalışmamızda da E test ile standart mikrodilüsyon yönteminin uyumu ± 2 dilüsyonlar aynı kabul edilerek, amfoterisin B ve flukonazol için %100 olarak saptanmış olup uyum diğer çalışmalarda olduğu gibi yüksektir.

Literatürde mantar infeksiyonlarının gelişiminin birçok risk faktörü ile ilişkili olduğu görülmektedir. Bu faktörler içinde en önemlileri; geniş spektrumlu antibakteriyal ajan

kullanımı, steroid tedavisi, travma, cerrahi, stres, immun sistem bozuklukları, diabetes mellitus ile deri, orofarinks, gastrointestinal sistem ülserasyonları ve invaziv girişimler olarak sıralanmaktadır. Yoğun bakım ünitelerine yatmanın başlı başına risk faktörü olduğu da kabul edilmektedir(119). Gastrointestinal sistemde yüksek konsantrasyona ulaşan ve Gram-negatif anaerobik bakterilere etkin olan geniş spektrumlu antibakteriyal ajanların kullanımının *Candida* türleri ile kolonizasyon ve infeksiyon oranını artırdığı bilinmektedir(120). Bu türlerin epidemiyolojik açıdan bazı önemli özellikleri bulunmaktadır. *C.albicans*, hem endojen hem ekzojen yolla infeksiyona yol açabilen çeşitli virülans faktörlerine sahip klasik olarak iyi tanınan bir patojendir. *C.albicans* kolonizasyonundan sonra invazyon, olguların yaklaşık %20' sinde görülmektedir(30). *C.tropicalis*, çeşitli yönleri ile *C.albicans*'a benzeyen virülansı yüksek bir türdür. İnvazif infeksiyonlarda gastrointestinal kolonizasyonun rolü belirgin olup, hemotolojik maligniteli hastalarda kolonizasyondan sonra %80'e varabilen oranlarda invazyon yaptığı gösterilmiştir(30). Her ne kadar *C.tropicalis* infeksiyonları endojen kaynaklı olmakla birlikte özellikle hastanelerde ekzojen olarak da bulaşabilmektedir(30). *C.glabrata* giderek önemi artan nosokomiyal bir patojendir. Düşük virülanslı bir mikroorganizma olduğu için invazyonu nadir olmakla birlikte mortalitesi yüksektir. *C.glabrata*'ya bağlı kandidemiler hemotolojik malignitelerden çok genellikle solit tümörler ve onkoloji dışı immun supresif hastalarda saptanmaktadır. Profilaktik olarak uzun süre flukonozal kullananlarda *C.glabrata* kolonizasyonu artmaktadır(30). *C.parapsilosis*; nosokomiyal karakteri en fazla olan, ekzojen yolla bulaşan epidemilere yol açan bir patojendir. Bu patojenle oluşan infeksiyonların büyük bir kısmında girişimsel bir işlem, hiperalimentasyon ya da yapay bir alet bulunmaktadır(30). *C.krusei*; özellikle hastanede yatan hemotolojik maligniteli hastalarda görülen bir türdür. Esas kaynak gastrointestinal sistem olup antifungal tedavi sonrası kolonizasyonu artar. *C.albicans* ve *C.tropicalis*' e göre virülansı düşük olsa da invazyon sonrası mortalite yüksektir. *C.lusitaniae*; oldukça nadir olarak saptanan genellikle immunkompromize hastalarda görülen ve amfoterisin B dahil olmak üzere birçok antifungale dirençli olabilen bir türdür. Solunum yolları, genitoüriner sistem başta olmak üzere endojen kaynaklı hastalıklar oluştursa da küçük epidemiler yapmaktadır. *Candida* türlerinin nosokomiyal karakter kazandığı son iki dekatta, en sık yol açtıkları nosokomiyal infeksiyonlar kandidemi ve kandidüridir. Ayrıca hastalık oluşmasında esas mekanizmanın endojen değil ekzojen olduğunun ve hastadan hastaya, hastadan personele ya da personelden hastaya geçtiği moleküler yöntemler kullanılarak gösterilmiştir(122). İzlediğimiz hastaların %37.3(41) cerrahi yoğun bakım ünitesinde yatmakta idi. Hastaların %44.5(49)'unda primer hastalıkları dışında altta yatan bir hastalığı mevcuttu. Uygulanan

invaziv girişimler arasında birinci sırada idrar sondası (%90); ikinci ve üçüncü sırada periferik ve santral venöz kateter uygulanması olduğu saptandı. Sonuçlarımız nosokomiyal fungal infeksiyon gelişimi ile ilişkili literatür verilerini desteklemektedir.

Fungal infeksiyonlarda *C.albicans* ve *C.tropicalis* klinik örneklerden izole edilen en önemli patojenler olup, *nonalbicans Candida* türleri ile olan fungal infeksiyonların sıklığının giderek arttığı bildirilmektedir(122). Önceleri nosokomiyal fungal infeksiyonlardaki etkenlerin sıralamasında *C.albicans*'ın oranı % 60-70 ile ilk sırada yer alırken, bu gün bu oran % 40'lara kadar düşerek yerini *nonalbicans Candida* türlerine bırakmıştır(38). Yapılan çalışmalarla azol türevlerinin profilaktik amaçla verilmesinin, *C.albicans* kolonizasyonunu azaltmasına karşın *nonalbicans Candida* türlerinde artışa neden olduğu saptanmıştır(123). Obata ve arkadaşları, 25 yıllık dönemde 64296 materyali değerlendirmiş olup materyallerde fungal etken pozitiflik oranını %40 olarak saptamışlardır. İzole edilen mantarların %53.8'i *C.albicans* olup %46.2'si *nonalbicans Candida* olarak saptanmıştır. En sık izole ettikleri suşları sırasıyla *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.tropicalis* ve *C.parapsilosis* olarak bildirmişlerdir. *C.glabrata* giderek artış göstermektedir(124). Çayırılı ve arkadaşları, çalışmalarında *C.albicans*'ı %63 *nonalbicans Candida*'yı %37 olarak saptamışlardır. En sık izole ettikleri suş *C.albicans*(%63) olup, onu *C.tropicalis*(%11), *C.glabrata*(%9), *C.parapsilosis*(%3), *C.krusei*(%3) ve *C.kefyr*(%3) izlemektedir. %8'lik dilimde ise değişik oranlarda *C.guilliermondi*, *C.famata*, *C.utilis*, *C.lambica*, *C.lusitaniae* ve *C.norvagensis* izole etmişlerdir(125). Yılmaz ve arkadaşları, çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri fungal suşların %45'ini *C.albicans*, %55'ini *nonalbicans Candida* (*C.lusitanea*(16), *C.tropicalis*(15), *C.kefyr*(8), *C.parapsilosis*(7), *C.guilliermondii*(4), *C.glabrata*(3) ve *C.famata*(2)) olarak saptamışlardır. En sık izole ettikleri suş *C.lusitaniae* olup ikinci sıklıkta *C.albicans* ve üçüncü sıklıkta *C.tropicalis* olarak vurgulamışlardır(126). Sultan ve arkadaşları, çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri suşların %78'ini *Candida albicans*, %22'ni *nonalbicans Candida* olarak tanımlamışlardır. En sık izole ettikleri suş *C.albicans* olup 2.sıklıkta *C.parapsilosis* ve *C.stellatoidea*, 3.sıklıkta *C.tropicalis*, *C.guilliermondii* ve *C.glabrata* olarak bildirmişlerdir(127). Arıkan ve arkadaşları, 392 çeşitli klinik örnekten %67.6 *C.albicans* ve %32.4 *nonalbicans Candida* izole ederken en sık izole ettikleri türleri sırasıyla *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.tropicalis* ve *C.krusei* olarak bildirmişlerdir. Kocazeybek ve arkadaşları, toplam 570 klinik örnekten % 7.7(44) fungal suş izole etmişler, izole edilen suşların %64'ü *C.albicans* ve %36'sını *nonalbicans Candida* olarak tanımlamışlardır. Sıklık sırasını ise *C.albicans*, *C.krusei*, *C.glabrata* ve *C.parapsilosis* olarak bildirmişlerdir(128). Yukarıda verilen literatürlere göre çeşitli örneklerden izole edilen suşların oranları, *C.albicans* %45-78 ve *nonalbicans Candida* %22-55 arasında değişmektedir.

olup bir çalışma dışında *C.albicans* en sık izole edilen suş olarak görülmektedir. Çalışmamızda ise kan ve idrar materyalinden en sık izole edilen suşlar birinci sıklıkta *C.albicans*(% 59.2), ikinci sıklıkta *C.tropicalis*(% 15.2), üçüncü sıklıkta *C.parapsilosis*(% 12.8) olup *nonalbicans Candida* 'ların oranı %40.8 olarak bulunmuştur. Sonuçlarımız yukarıda verilen yerli ve yabancı literatür bulgularına benzerdir. Ancak *Candida* türlerinin sıklık sırasında farklılıklar mevcuttur. Sıklık sırasındaki bu değişim, coğrafi bölgenin, hastanenin ve insanın mantar florası ile izah edilebilir.

Literatürde kandidemilerde *C.albicans*'ın oranı, %50 dolayında görülmekle beraber, son yıllarda *nonalbicans Candida* oranında hızla artış olduğu bildirilmektedir(129). Edmond MB ve arkadaşları, 49 hastanede 3 yıllık dönem de 10000den fazla nosokomiyal kan infeksiyonlarını araştırmışlar ve fungusların oranını % 8 bulmuşlardır(129). Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve güney Amerika ülkelerinde bulunan 34 tıp merkezinde yapılan nosokomiyal infeksiyon surveyansı çalışmasında kandidemi atağı göz önüne alındığında etkenlerin sıralaması ise *C.albicans*>*C.parapsilosis*>*C.glabrata*>*C.tropicalis* ve daha sonra *C.krusei* ve *C.guilliermondii* gelmektedir. Türkiye'nin de içinde bulunduğu surveyans çalışmasında, kandidemi yönünden nosokomiyal fungal kümülatif insidansı 10000 olguda 4.3'tür. Nosokomiyal fungal infeksiyon etkeni olarak izole edilen *Candida*ların insidansı da *C.albicans*>*C.glabrata*>*C.tropicalis*>*C.krusei* olarak sıralanmaktadır(130). *C.krusei* özellikle flukonazolün profilaksi ve tedavi amacıyla kullanımının artmasından sonra, flukonazole dirençli suşlarıyla gastrointestinal kolonizasyonda ve buna paralel kandidemilerde görülme sıklığı artan bir türdür(131). *C.parapsilosis* ise; daha fazla deri florasına yerleşik olan bir türdür. Özellikle damar içi katater uygulamalarının ve protez kullanımının artmasına paralel olarak önemi artmaktadır(132). Bununla birlikte bu iki türün virulanslarının *C.albicans* ve *C.tropicalis*'den daha düşük olduğu bilinmektedir(133). Ancak ülkeden ülkeye ve hastaneden hastaneye etkenlerde de farklılıklar vardır(134). Mathews ve arkadaşları, 9 yılda 1970 kan kültüründen 191 fungal suş izole etmişler. En sık *C.tropicalis*'i %66 izole ederken, 2. ve 3.sırada *C.albicans* %21 ve *C.parapsilosis* %5.8 olarak izole etmişlerdir. Diğer izole edilen suşlar ise *C.parapsilosis*(%5.8), *C.glabrata*(%2.1), *C.pelliculosa*(%1.2), *C. lipolytica*(%1.0) *C.krusei*(%1.0) ve *Trichosporon beigeli*(%2.6) olarak bildirmişlerdir(135). Luzzati ve arkadaşları, retrospektif bir çalışmada nosokomiyal kandidemi insidansını; etken patojenleri, tedavi ve mortalite için risk faktörlerini değerlendirmişler. 6 yıllık sürede 189 kandidemi epizodu izlemişlerdir. 130'u yoğun bakım ünitesine, 47'si cerrahiye ve 12'si dahiliyeye yatan hastalardan en sık izole ettikleri suşlar sırasıyla 54%'ü *C.albicans* %46'sını *nonalbicans Candida* 'lar olmak üzere sırasıyla *C.parapsilosis*(23%), *C.glabrata*(7%), *C.tropicalis*(5%),

C.pelliculosa(4%), *C.lusitaniae*(1%), *C.humicola*(1%) ve diğer *nonalbicans Candida*(5%) izlediğini bildirmişlerdir(136). Ener ve arkadaşları, 18 aylık dönemde 101 kandidemi olgusunu değerlendirmişler ve nosokomiyal olgularda izole edilen suşların %39'unu *C.albicans* ve %61'ini *nonalbicans Candida* olarak saptamışlar. En sık izole ettikleri suşlar sırayla *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.krusei* ve *C.tropicalis* olarak bildirmişlerdir(137). Vural ve arkadaşları, kan kültüründen izole ettikleri *Candida* türlerini %50(15) *C.albicans*, %50 *nonalbicans Candida* olarak tanımlamışlardır. En sık izole ettikleri suşu *C.albicans*, *C.tropicalis* ve *C.quilhermentis* olarak bildirmişlerdir(138). Çalışmamızda kan materyallerinden izole edilen suşlar *C.albicans* %40.7(11/27) ve *nonalbicans Candida* %59.3(16/27) idi. En sık izole edilen suş *C.albicans*(%40.7), ikinci sıklıkta *C.parapsilosis*(%29.6) ve üçüncü sıklıkta *C.krusei*(%11.1)'dir. Sonuçlarımız literatür bulgularına oldukça yakındır. Kandidemilerde *nonalbicans Candida*'ların artışı ile ilgili verileri desteklemektedir.

C.lipolytica çok seyrek rastlanan ve virülansı çok düşük bir tür olup fungemiye yol açması için bir damar içi yabancı cismin varlığına ihtiyaç duymaktadır. Sağlıklı kişilerin dışkı, balgam ve orofarenksinden izole edilebilmektedir(139). Literatürde son yıllarda *C.lipolytica* kan kültürlerinden izole edilen nadir fungal infeksiyon etkeni olarak bildirilmektedir. Shin ve arkadaşları, pediatrik hastalarda *C.lipolytica* ile gelişen beş kandidemili vaka rapor etmişlerdir(140). Çalışmamızda da bir kandidemili olguda *C.lipolytica* izole edildi. Olgumuzun santral venöz kateteri mevcuttu. Bulgularımız literatür verileri ile uyumludur.

Kandidemilerdeki tedavi protokolüne göre; en az iki kan kültürünün pozitif olması antifungal tedavi endikasyonu oluşturmakla birlikte, nötropenik hastalar dissemine kandidoz riski taşıdığından, bu grupta tek kan kültürünün pozitifliği durumunda tedavi önerilmektedir(141-145). Ancak nötropenisi olmayan hastalarda bu konuda kesin bir fikir birliğine varılmamış ve "benign kandidemi" yada "geçici kandidemi" kavramları tam oturmamıştır. Ancak kandidemiye bağlı mortalite riskinin nötropenik olmayan hastalarda %35-55 oranında seyretmesi nedeniyle nötropenisi olmayan grupta tek kan kültürünün pozitifliği durumunda tedavi önerilmektedir(137). Çalışmamızdaki 8 olguda tek kan kültür pozitifliği saptandı ve geçici kandidemi olarak değerlendirildi. Ayrıca geçici kandidemi oranımız ise takip edilen olgularımız arasında %7.3(8/110) olup kandidemili olgularımızda %29.6(8/27) idi. Olguların beşinden *C.albicans*, ikisinden *C.parapsilosis* ve birinden *C.kefyr* izole edildi. Tedavisiz izlemlerinde olguların hiç birinde mortalite gözlenmedi. Geçici kandidemi yapan etkenler ise en sık endojen floranın elemanı olan *C.albicans* birinci sırayı alırken, eksojen kaynaklı olduğu bildirilen *C.parapsilosis*'in 2. sırayı aldığı saptandı.

Literatürde de nosokomiyal fungal infeksiyonlarda en sık izole edilen etkenlerin bu suşlar olduğu bildirilmektedir(137).

Literatürde fungürinin nadir olarak sağlıklı insanlarda görülmesine karşın hospitalize edilen hastalarda sıklıkla geliştiği bildirilmektedir. Bunun nedeni ise uygulanan üriner enstrumantasyon ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımındır. Özellikle üriner kataterizasyonlu hastalarda fungal toplar oluşturarak üreter obstrüksiyonuna, süperfiyal üriner infeksiyona ve kandidal kolonizasyona yol açmaktadır. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan hastaların büyük bir kısmında asemptomatik candidüri görülür. Fungürinin major etkenleri başta *C.albicans* olmak üzere *nonalbicans Candida*'lardır. Kuştimur ve arkadaşları, çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 100 *Candida* suşunu *C.stellatoidea*(57), *C.albicans*(19), *C.krusei*(13), *C.kefyr*(4), *C.guilliermondii*(3), *C.tropicalis*(3) ve *C.parapsilosis*(1) olarak tiplendirmişler. *C.albicans*'ı en fazla sayıda idrar ve vajen örneklerinden izole etmişlerdir(146). Ergin ve arkadaşları, çeşitli klinik örneklerden izole edilen suşlarını *C.albicans*(%69), *C.stellatoidea*(%8), *C.krusei*(%7), *C.tropicalis*(%5), *C.kefyr*(%5), *C.parapsilosis*(%3) ve *C.glabrata*(%1.3) olarak tiplendirilmiştir(147). Vural ve arkadaşları, idrar kültüründen izole ettikleri *Candida* türlerini %61(57) *C.albicans* ve %49(37) *nonalbicans Candida* olarak tanımlamışlardır. En sık izole edilen suş *C.albicans*, 2.sıklıkta *C.glabrata* ve 3.sıklıkta *C.krusei* olarak saptamışlardır(148). Çalışmamızda idrar materyallerinden izole edilen suşlar %64.3(63/98)'ü *C.albicans*, %35.7(35/98)'si non albicans *Candida* idi. Ayrıca idrar materyallerinden en sık izole edilen suş *C.albicans*(%64.3), *C.tropicalis*(%17.3), *C.parapsilosis*(%6.4) olarak saptandı. Sonuçlarımız literatürle benzerdir.

Fungürinde bulaş daha çok asendan yol ile olmaktadır. Çok daha nadir olarak sistemik fungal infeksiyon sonrası kan yoluyla renal tutulum görülebilmektedir. Çoğunlukla idrarda *Candida* izolasyonu; sıklıkla alt üriner sistem infeksiyonunu ya da kolonizasyonunu gösterir. Çalışmalarda idrar kültürlerinin %10'unda fungal patojenler pozitif olarak tespit edilmiştir(149). Fungürinde en sık infeksiyon etkeni *C.albicans* iken asemptomatik hastalardan en sık izole edilen etkenler sırasıyla *C.albicans* (%59.6), *C. tropicalis*(%13.8), *C.kefyr*(%7.3), *C.glabrata*(%6.4) ve *Trichosporon*(%6.4) türleridir(149). Çalışmamızda idrardan izole edilen *Candida* türleri sıklık sırasına göre *C.albicans*(%64.3), *C.tropicalis*(%17.3), *C.parapsilosis*(%8.2), *T.sahii*(%5.1), *C.krusei*(%3.1), *C.glabrata*(%1.0) ve *C.lusitaniae* (%1.0) dir(150). Bulgularımız literatür verilerini desteklemektedir.

Trichosporon türleri immun sistemi baskılanmış hastalarda sistemik infeksiyon yapabilen maya grubundan mikroorganizmalardır ve kolonize hastalar disseminasyon

açısından izlenmelidir. Amfoterisin B'ye invitro koşullarda duyarlı olmakla birlikte, bu etkene klinik yanıt bazen yetersiz kalmaktadır. Haupt ve arkadaşları, 353 immun sistemi baskılanmış hastanın % 3.7'sinin *Trichosporon* ile kolonize olduğunu saptamışlar(151). Uzun ve arkadaşları, böbrek transplantasyonu yapılan 350 idrar örneğini değerlendirmişler ve beş olgunun örneğinde *Trichosporon* izole etmişlerdir(152). Aydın ve arkadaşlarıda nefrostomili bir olgunun idrar örneğinde *Trichosporon* ürediğini rapor etmişlerdir(153). Literatürde *Trichosporon* türlerinin özellikle üriner ve/veya sistemik infeksiyonlar açısından önem kazandığını göstermektedir(150). Çalışmamızda 5 hastanın sadece idrar materyallerinden *Tasahii* izole edilmiştir. Olgularımız asemptomatik fungüri olup idrar sondaları mevcuttu.

Nosokomiyal fungal infeksiyonları kontrol etmek amacı ile antifungallerin hem profilaktik hem de tedavide kullanılması sonucunda azollerden özellikle flukonazole *C.albicans*'ta %0.6, *C.glabrata*'da %8.7 ve *C.krusei* kökenlerinin hepsinde intrensek direnç bildirilmektedir(38). Literatürde *C.krusei* suşlarında flukonazole, *C. lusitaniae* ve *C.tropicalis* suşlarında amfoterisin B'ye direncin artmakta olduğu bildirilmektedir(137). Bu türlerin azol antifungallere daha az duyarlı olması nedeni ile refrakter klinik tablolarda söz konusudur. Ancak azollere in vitro duyarlı olarak saptanan bir köken, klinik olarak refrakter bir direnç de gösterebilir. Doza bağımlı duyarlılık oranları da dikkate alınacak olursa gelecekte yüksek oranda bir azol direnci ile karşılaşılacağı öngörülebilir(154). Piero Testore ve arkadaşları, 385 klinik fungal suşun flukonazol duyarlılığına bakmışlar %92(355) 'sinin duyarlı, %5(18)'nin doz bağımlı duyarlı ve %3(10)'nün dirençli bulmuşlar. Dirençli suşların 3'ünü *C.albicans* ve 7'sini *nonalbicans Candida* olan 2 *C.rugosa*, 2 *C.humicola*, 1 *C.tropicalis*, 1 *C.ciferrii*, 1 *C.glabrata* olduğunu saptamışlardır(155). Jacques ve arkadaşları, 26 ülkenin 40 hastanesinden izole edilen 20,900 klinik *Candida* suşlarının disk diffüzyon yöntemiyle flukonazole duyarlılıklarını araştırmışlar ve *C.albicans*'ın %99'u, *C.glabrata*'nın %67'si, *C.tropicalis*'in %90'u, *C.parapsilosis*'in %94'ü ve *C.krusei*'nin %26'sı flukonazole duyarlı olarak saptamışlardır (156). Çayırılı ve arkadaşları, azol grubu antifungallere intrensek direnç gösteren *C.glabrata* ve *C.krusei*'nin yaklaşık olarak %12 direnç bulmuşlardır(125). Suşlarımızda kandidüri'ye neden olan bir *C.krusei*'nin doza bağımlı flukonazole duyarlılığı dışında dirençli suş saptanmadı. Bu durum hastanemizde flukonazolün ampirik tedavi ve profilaktik amaçlı kullanımının yaygın olmaması ve florada dirençli suşların bulunmayışı ile açıklanabilir.

Arıkan ve arkadaşları, flukonazol ile tedavi edilen orofaringeal kandidozu olan ciddi hastalıklarda klinik cevap ile invitro flukonazol duyarlılık arasında korelasyonu araştırmışlar. 23 nötropenik olan 48 hastadan 20'si *C.albicans*, 12'si *C.krusei*, 10'u *C.kefyr*, 3'ü *C.glabrata*,

3'ü *C.tropicalis* olan 48 suşu makrodilüsyon metot ile flukonazolü test etmişler. Çalışmaya alınan tüm suşlar arasında *C.krusei* de direnc saptamışlardır. Klinik cevap için etken *Candida* türleri, persistant nötropeni ve flukonazol duyarlılığı önemli prediktör olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca kliniğin ortaya çıkması ile antifungal duyarlılık arasındaki korelasyonun ve izole edilen *Candida* türlerinin önemli bir faktör olduğunu göstermişlerdir(157). Berrouane ve arkadaşları, 1987-1988 ve 1993-1994 dönemlerinde hastane ve kliniklerinde nosokomiyal fungal infeksiyonların epidemiyolojisi ve antifungal kullanım eğilimini belirlemeyi amaçlamışlar. Flukonazolün tanıtımından sonra amfoterisin B'nin kontrollü kullanımında ılımlı bir düşüş gözlemlemişlerdir. 26 flukonazolün %61'ini profilaksi, %12'sini ampirik ve %27'sinin dökümanente fungal infeksiyonda kullanıldığını saptamışlardır. Nosokomiyal fungal infeksiyonların hızının medikal ve cerrahi ünitelerinde 3 kat arttığını, kan infeksiyonları hızının yaklaşık 2 kat arttığını ve kateter ilişkili idrar yolu infeksiyonlarının insidansının yaklaşık 3 kat arttığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında *Nonalbicans Candida* 'ların etken olduğu infeksiyonların oranında *C.albicans*'dan sürekli olarak daha fazla artışın olmadığını, ancak *C.glabrata*'nın önemli bir nosokomiyal patojen haline gelmiş olduğunu saptamışlardır(158). Tümbay ve arkadaşları, çalışmalarında alt idrar yolu kandidozlu 6 hastayı flukonazolle tedavi etmişler. 1. hafta sonunda klinik iyileşme, 1.-2. hafta sonunda idrarın sterilleşmesini sağlamışlardır(153). Rex ve arkadaşları, nötropenik ve istatistiksel fark olmayan 206 hasta grubunda flukonazol ve amfoterisin B tedavisini karşılaştıran randomize çalışmalarında tedavi başarı oranını amphoterisin B grubunda %79(81/103) ve flukonazol grubunda %70(72/103) olarak saptamışlar. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Amfoterisin B grubunun 12'sinde ve flukonazol grubunun 15'inde tedavi başarısızlığı saptamışlar ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını, tedavi başarısızlığı olan hasta grubunda en sık izole ettikleri suşun *C.albicans* olduğunu bildirmişlerdir. Amfoterisin B grubunda 41 ve flukonazol grubunda 34 hastayı tedavi sırasında kaybetmişlerdir. İstatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını saptamışlardır. Kandideminin en sık kaynağını intravasküler kateterler olarak bildirmişlerdir(159). Çalışmamızda görülen kandidemi ve kandidüri olgularında verilen tedavilerde 1. sıklıkta lipozomal amfoterisin B, 2. sıklıkta triflukonazol tercih edilmiş olup klinik yanıt bir hasta dışında 37 hastada 3-10 günde gelişmiş olup, tedaviyi dört hasta dışında 34'ü 10-21 gün arasında tamamlamıştır. Uygun tedaviye rağmen 4 olgudan biri 2. günde klinik yanıt açısından değerlendirilemeden, kalan üçü ise klinik yanıt alındıktan sonra tedaviyi tamamlayamadan kaybedildi. Tedaviye cevap oranı ise %89.5(34/38) olarak saptandı. Tedavi alan kandidemi olgularda tedavi başarı oranı %84.2(16/19) iken tedavi alan kandidürili

olgularda tedavi başarı oranı %94.7(18/19) bulunmuştur. Literatürde nosokomiyal fungal infeksiyonlarında bildirilen tedavi başarı oranlarına göre çalışmamızda elde ettiğimiz başarı oranları oldukça yüksekti. Bunun nedeni ise dirençli suşlarımızın olmaması, ayrıca literatürde invivo invitro uyumu vurgulayan çalışmaların az ve sonuçların çelişkili oluşu nedeni ile ciddi vakalarda ampirik tedavide önerilen amfoterisin B ile tedaviye başlanmasıdır.

Kovacicova ve arkadaşları, 169 hastanın kanından izole ettikleri 164 *C.albicans*, 88 *nonalbicans Candida*. ve 10 *Candida* dışı maya olmak üzere toplam 262 suşun, amphoterisin B, flukonazol, 5-flusitozin, itrakonazol, ketokonazol, mikonazol ve nistatine olan antifungal duyarlılıklarını, ayrıca fungemi salgını ve in vitro flukonazol direnci arasında korelasyonu araştırmışlardır. 88 *nonalbicans Candida* suşları arasında %17.04 flukonazol direnci ve amfoterisin B direncini düşük olarak saptamışlardır. Flukonazol dirençli mayalarla infekte hastalarda mortaliteyi önemli derecede daha yüksek(%19.0 ve %8.6; P< 0.01) olarak bildirmişlerdir(160). Akova ve arkadaşları, antifungal duyarlılık sonuçlarının klinik başarı ile korelasyonu araştırdıkları çalışmalarında ciddi hastalığı olan kişilerdeki kandida infeksiyonlarının tedavi başarısının, infekte eden suşun duyarlılığı kadar, altta yatan hastalığın etkili tedavi edilebilmesine de bağlı olduğunu vurgulamaktadırlar(161). Olgularımızın mortalite oranı %9 (10/110) olup kandidemili hastalardaki oran %11.1(3/27) iken kandidürili hastalardaki oran ise %8.4(7/83) idi. Mortalite gözlenen olgularımızın üçü kandidemili iken, yedisi kandidürili olup birinde infeksiyon kliniği varken altısında ise infeksiyon kliniği olmayıp idrar sondası değiştirilmesi sonrası kandidürileri düzelen olgular idi. Bu olgularımız primer hastalıkları nedeniyle mortalite riski yüksek olan hasta grubunda idi. Ayrıca izole edilen fungal etkenlere karşı ilaç direncinin de olmaması nedeniyle fungal infeksiyonun mortaliteye katkısı olmakla birlikte direkt nedeni de olmadığı düşünüldü.

Sonuç olarak antifungal duyarlılık testlerinde henüz invitro ve invivo uyum tam olarak sağlanamamıştır. Bunun nedenleri arasında, invitro duyarlılık testlerinde karşılaşılan sorunlar ve çok kompleks hastalarda (öreğin, sistemik mantar infeksiyonlu) tedavinin başarısını açıklamada karşılaşılan zorluklar, farklı türlerin tedaviye farklı yanıt vermeleri; *C.albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* suşları arasında özellikle azollere direnç gelişmesi; amfoterisin B'ye doğal direnç görülmesi ve referans antifungal duyarlılık testlerinin klinik olarak dirençli suşları saptamadaki sorunları sayılabilir. Bir başka sorun, antifungal ilaçların duyarlılık veya dirençlilik sınırlarının tam olarak saptanamamış olmasıdır. Azollerde geniş MİK aralığında kısmi inhibisyon görülmesi, MİK son noktasının belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Yapılan

çalışmalarda antifungal tedavinin başarısını belirlemede konağa ilişkin faktörlerin önemli rolü olduğu görülmüştür(24).

Bu çalışmanın sonuçlarına göre hastanemizde fungal infeksiyonlara neden olan etkenlerden en sık izole edilen *C.albicans*'ın %70-80'lere varan oranlarında azalma görülmürken diğer *Candida* türlerinin oranında artış söz konusudur. Bu artış özellikle nosokomiyal fungemide dikkati çekmektedir. Hastanemizde potansiyel dirençli *Candida* türlerinin görülme sıklığının önemli ölçülerde olduğunu vurgulamakla birlikte henüz dirençli suşlar ile fungal infeksiyonların gelişmediği görülmektedir. Ayrıca izole edilen fungal etkenlerin tür düzeyinde tanımlanmasının ve antifungal duyarlılık testlerinin önemini de göstermektedir. Fungal kültür sonuçlarının değerlendirilmesinde klinik bulgular ve altta yatan hastalığın özelliklerinin büyük önem taşıdığını vurgulamaktadır. Sonuçlarımızın Antifungal direnç paternlerinin gelişimini önlemeye, geçici kandidemi ve kandidüri gibi klinik antitelerde tedavi protokollerini oluşturmaya, hastanemiz ve Ulusal surveyans çalışmalarına katkı sağlıyacağı kanaatindeyiz.

SONUÇLAR

1- Çalışma periyodu olan Ocak 2000-Temmuz 2001 tarihleri arasında tüm servislerden Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen kan materyalinden 27 ve idrar örneklerinden 98 olmak üzere toplam 125 fungal suş izole edildi.

2- İzole edilen suşların % 59.2(74/125)'si *C.albicans*, % 15.2(19/125)'i *C.tropicalis*, %12.8(16/125)'i *C.parapsilosis*, %4.8(6/125)'i *C.krusei*, %4.0(5/125)'ü *T.asahii*, %1.6(2/125)'i *C.kefyr* iken % 2.4(3/125)'ü ise birer izolatla *C.glabrata*, *C.lipolytica* ve *C.lusitaniae* idi.

3- *C.albicans* ve *non albicans Candida* suşları idrar örneklerinden sırasıyla %64.3(63/98) ve %35.7(35/98) oranında izole edilirken, kan materyalinden %40.7(11/27) ve %59.3(16/27) oranında izole edildi. Hem idrar hem de kan materyalinden en sık izole edilen suşlar *C.albicans*(%59.2) iken idrardan ve kandan ikinci sıklıkta sırasıyla *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* ve üçüncü sıklıkta *C.krusei* ve *C.parapsilosis* izole edildi.

4- *C.parapsilosis* ve *C.krusei* sırasıyla %6.4 ve %2.4 oranında hem kan hem de idrar kültüründen izole edildi. *T.asahii*, *C.lusitaniae* ve *C.glabrata* suşları sadece idrar kültürlerinden izole edilirken *C.kefyr* ve *C.lipolytica* suşları sadece kan kültürlerinden izole edildi.

5- Suşların amfoterisin B ve flukonazole E test ve standart mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılan duyarlılıklarında ise *C.krusei*'nin flukonazole doza bağımlı duyarlılığı dışında dirençli suş saptanmadı. Standart mikrodilüsyon ve E test yöntemleri karşılaştırıldığında, bu iki testen +2 dilüsyona göre %100 uyumlu olduğu görüldü.

6- Suşların izole edildiği hastaların 41(%37.3)'i cerrahi yoğun bakım ünitesinde, 20(%18.2)'si dahiliye servisinde ve 49(%44.5)'u diğer servislerde yatmaktaydı.

7- Hastaların kliniklerinin %24.5(27/110)'i fungemi ile, %75.5(83/110)'i fungüri ile uyumlu olarak saptandı. Fungemili hastaların %70.4(19/27)'ü infeksiyon ve %29.6(8/27)'sı ise geçici fungemi olarak değerlendirildi. Fungemilerin %44.4(12/27)'ünde sadece kan kültüründe üreme varken, %55.5(15/27)'inde ise aynı zamanda idrar kültüründe de üremesi mevcuttu.

Fungürili hastaların %22.9(19/83)'u infeksiyonla uyumlu iken, %77.1(64/83)'i infeksiyonla uyumsuz olarak değerlendirildi.

8- Fungal infeksiyonla uyumlu olduğu saptanan toplam 38 hastanın tedavisinde ise 20 hastaya amfoterisin B, 12 hastaya flukonazol başlanırken, üç hastanın tedavisine ise amfoterisin B ile başlanıp flukonazol ile tedavi tamamlandığı saptandı. İki hastada ise tedaviye flukonazol ile başlanıp amfoterisin B ile tedavi tamamlandığı gözlemlendi. Bir hastada ateş, döküntü ve nefrotoksik yan etki nedeni ile klasik amfoterisinden lipozomal formuna geçildiği gözlemlendi. Kullanılan amfoterisin B'nin 11 tanesi Lipozomal amfoterisin B iken beşi klasik amfoterisin B ve dördü Amfoterisin B lipit kompleks olup kullanılan flukonazol preparatı ise triflukonazol idi.

9- Klinik cevabın bir hasta dışında 3-10 günde alındığı görüldü. Antifungal ilaçlarla yapılan tedavi, 3 hasta dışında 7-21 günde sonlandırıldı. Tedaviyi tamamlayamayan üç hastadan birine tanı konulup uygun tedavi başlanmasına karşın tedavinin 2. gününde kaybedildi; iki hastada ise klinik cevap oluşmasına rağmen tedavi tamamlanamadan kaybedildi. Tedaviye cevap oranı ise %89.5(34/38) olarak saptandı. Tedavi alan kandidemili olgularda tedavi başarı oranı %84.2(16/19) iken tedavi alan kandidürili olgularda tedavi başarı oranı %94.7(18/19) idi.

10- Mortalite oranı %9.1(10/110) iken, kandidemili hastalardaki mortalite oranı %11.1(3/27), kandidürili hastalarda ise %8.4(7/83) idi. Mortal seyreden olgulardan izole edilen suşlar ise *C.albicans*(4), *C.tropicalis*(4), *C.parapsilosis*(1) ve *C.krusei*(1) idi. Mortalitenin en fazla görüldüğü servis cerrahi yoğun bakım ünitesi idi.

ÖZET

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ FARABI HASTANESİ'NDE GÖRÜLEN FUNGAL İNFEKSİYONLAR VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

Hastanemizde görülen fungal infeksiyonları ve etken dağılımını saptamak, elde edilen mikozların direnç durumlarını belirlemek; duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı, basit ve ucuz bir tanı ve antifungal duyarlılık testinin klinik kullanıma girmesini sağlamak ve hastaların antifungal tedaviye cevabının belirlenmesi amaçlanmıştır.

KTU Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi'nde Ocak 2000-Temmuz 2001 döneminde tüm servislere yatırılan hastalardan Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen kan örneklerinden 27 ve idrar örneklerinden 98 olmak üzere toplam 125 fungal suş ve izole edildiği 110 hasta değerlendirilmiştir. Suşlar germ tüp testi, klamidospore oluşumu ve API 20C AUX ticari kiti ile tanımlandı. Her iki klinik örnekten izole edilen suşların dağılımı; % 59.2(74/125)'si *C. albicans*, %15.2(19/125)'si *C.tropicalis*, %12.8(16/125)'i *C.parapsilosis*, %4.8(6/125)'i *C.krusei*, %4(5/125)'ü *T.asahii*, %1.6 (2/125)'sı *C.kefyr* iken %2.4(3/125)'ü ise birer izolatla *C.glabrata*, *C.lipolytica* ve *C.lusitaniae* idi.

Kan kültürlerinden izole edilen suşların %40.7(11/27)'si *C.albicans* iken %59.3(16/27)'ü *C.albicans* dışı *Candida* suşları idi. Kan kültüründen en sık izole edilen suş *C.albicans* olup ikinci sıklıkta *C.parapsilosis* ve üçüncü sıklıkta *C.krusei*'dir. İdrar kültürlerinden izole edilen suşların %64.3(63/98)'ü *C.albicans* iken %35.7(35/98)'i *C.albicans* dışı *Candida* suşları idi. İdrar kültürlerinden en sık izole edilen suş *C.albicans* olup ikinci sıklıkta *C.tropicalis* ve üçüncü sıklıkta *C.parapsilosis*' dir.

Suşların amfoterisin B ve flukonazole E test ve standart mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılan duyarlılıklarında ise MİK değeri 16µg/ml olan bir *C.krusei* suşunun flukonazole doza bağımlı duyarlılığı dışında dirençli suş saptanmadı. Standart mikrodilüsyon ve E test yöntemleri karşılaştırıldığında +2 dilüsyona göre %100 uyumlu olduğu saptandı.

Çalışmamızda elde edilen fungusların 61'i kadın, 49'u erkek hastalardan izole edildi. Çalışmaya alınan hastaların %37.3(41)'i CYBÜ'nde, %18.2(20)'si Dahiliye servisinde ve %44.5(49)'u diğer servislerde yatmaktaydı.

Hastaların kliniklerinin %24.5(27/110)'inin kandidemi, %75.5(83/110)'inin kandidüri ile uyumlu olduğu saptandı. Kandidemili hastaların %70.4(19/27)'ü klinik olarak infeksiyonla

uyumlu olup %29.6(8/27)'sı tek kan kültür pozitifliği olan ve infeksiyonla uyumlu olmayan geçici kandidemi olarak değerlendirildi. Geçici kandidemi oranımız takip edilen olgularımız arasında %7.3(8/110)'dür. Bu olguların beşinden *C.albicans*, ikisinden *C.parapsilosis* ve birinden *C.kefyr* izole edildi. Tedavisiz izlemlerinde olguların hiç birinde mortalite gözlenmedi. Kandidürili hastaların %22.9(19/83)'u klinik olarak infeksiyonla uyumlu iken, %77.1(64/83)'i infeksiyonla uyumlu değildi.

Fungal infeksiyonla uyumlu olduğu saptanan toplam 38 hastanın tedavisinde, 24'ünde kullanılan amfoterisin B preparatının 14'ü lipozomal amfoterisin B, 6'sı klasik amfoterisin B ve 4'ü Amfoterisin B lipit kompleks, 14'ünde kullanılan flukonazol preparatı ise triflukonazoldü. Klinik cevap 3-10 gün arasında olup tedavi süresi 7-21 gündü. Tedaviyi tamamlayamayan 4 hastanın üçü klinik cevap oluşmasına rağmen primer yatış sebebine bağlı klinik kötüleşme nedeniyle, birine tanı konulup uygun tedavi başlanmasına karşın tedavinin 2. gününde kaybedildi. Tedaviye cevap oranı ise % 89.5(34/38) olarak saptandı.

Fungal infeksiyon tanısı ile izlenen 110 hastanın 10'u kaybedildi(% 9.1). Bu oran kandidemili hastalarda %11.1(3/27) iken kandidürili hastalarda %8.4(7/83) olarak tesbit edildi. Bu iki klinik arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmedi($P>0.05$). Mortalite en fazla CYBÜ'de(%5.5) olup, mortal seyreden olgulardan izole edilen suşların 4'ü *C.albicans*, 4'ü *C.tropicalis*, 1'i *C.parapsilosis* ve 1'i *C.krusei*' idi.

Sonuçlarımıza göre hastanemizde fungal infeksiyonlara neden olan etkenlerden en sık izole edilen *C.albicans*'ın %70-80'lere varan oranlarında azalma görülürken diğer *Candida* türlerinin oranında artış söz konusudur. Bu artış özellikle nosokomiyal fungemide dikkati çekmektedir. Hastanemizde potansiyel dirençli *Candida* türlerinin görülme sıklığının önemli ölçülerde olduğu, ancak henüz dirençli suşlar ile fungal infeksiyonların gelişmediği görülmektedir. Ayrıca izole edilen fungal etkenlerin tür düzeyinde tanımlanmasının ve antifungal duyarlılık testlerinin önemini de göstermektedir. Fungal infeksiyonların tedavisine karar vermede fungal kültür sonuçlarıyla birlikte klinik bulgular ve altta yatan hastalığın özelliklerinin de büyük önemi olduğunu vurgulamaktadır. Sonuçlarımızın antifungal direnç paternlerinin gelişimini önlemeye, geçici kandidemi ve kandidüri gibi klinik antitelerde tedavi protokollerini oluşturmaya, hastanemiz ve ulusal surveyans çalışmalarına katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

SUMMARY

Appearance of Fungal Infections and Antifungal Susceptibilities at Medical Faculty, Farabi Hospital, Karadeniz Technical University

The aim of this study is to determine the fungal infections and their causative agents distributions, the resistance of the fungi obtained as well as the response of patients to antifungal treatment and to introduce to the clinical use the quick, simple and cheap antifungal sensitivity and identification method which is of high specificity and sensitivity.

Totally 125 strains, 27 fungal strains from blood samples and 98 fungal strains from urine samples which were taken from the patients admitted to all the units at Farabi Hospital, Medical Faculty, Karadeniz Technical University between January 2000 and July 2001 and which were studied at Microbiology Lab and 110 patients from whom those strains were isolated were evaluated. The strains were identified through germ tube test, clamdiopor formation and a commercial kit labelled API 20C AUX. The distribution of the strains isolated from both clinical samples is as follows: while 59.2%(74/125) of the strains was *C.albicans*, 15.2%(19/125) *C.tropicalis*, 12.8%(16/125) *C.parapsilosis*, 4.8%(6/125) *C.krusei*, 4%(5/125) *Tasahii*, 1.6%(2/125) *C.kefyr*, 2.4%(3/125) was *C.glabrata*, *C.lipolytica* and *C.lusitaniae*, each with one isolate.

While 40.7%(11/27) of the strains isolated from blood cultures was found to be *C.albicans*, 59.3%(16/27) was *Candida* strains except for *C.albicans*. The most frequent strain isolated from blood cultures is *C.albicans*. However, *C.parapsilosis* is the strain second at frequency, whereas *C.krusei* is the strain third at frequency. While 64.3%(63/98) of the strain isolated from urine cultures was *C.albicans*, 35.7(35/98) of them was *Candida* strain except for *C.albicans*. The most frequent strain isolated from urine culture is *C.albicans*, *C.tropicalis* is the second at frequency and *C.parapsilosis* is the third. No resistant strain except for dependent sensitivity to flukonazole dose of *C.krusei*, the MIC value of which is 16µg/ml, was found in the sensitivity of strains studied by means of amfoterecin B and flukanazole as well as E test and standart microdilution method. When standart microdilution was compared with E test methods, they were both found to be 100% consistent regardless of +2 dilution.

The fungus obtained in our study were isolated from the patients, 61 of whom are women and 49 of whom are men. 37.3%(41) of the patients included in our study were hospitalized in Surgery care unit, 18.2%(20) of them in Internal unit, and 44.5%(49) of them in other units. Of patients' clinics, 24.5%(27/110) was found to consistent with candidemia and 75.5%(83/110) with candiduria. It was also found out that 70.4%(19/27) of the patients

with candidemia were clinically consistent with the infection and that 29.6%(8/27) of them were subjected to temporary candidemia with a single positivity of blood culture, which is not in consistency with infection. The rate of temporary candidemia is 7.3%(8/110) among our cases observed. From five of the cases were isolated *C.albicans*, from two of them *C.parapsilosis*, and from one of them *C.kefyr*. No mortality was experienced in any of the cases kept under observation without a certain treatment. While 22.9%(19/83) of the patients with candiduria were clinically consistent with infection, 77.1%(64/83) of them were not consistent with infection. In the treatment of totally 38 patients found to be consistent with fungal infection, while 14 of amphotericin B applied to 24 patients was liposomal form, six classic form and 4 lipid complex form, flukonozale preparation applied to 14 patients were triflukonazole. While clinical response was achieved between 3 and 10 days, the treatment lasted for 7 to 21 days. Of 4 patients who failed to get a complete treatment, 3 were lost due to clinical worsening based on primary cause for admission to our hospital despite a clinical response and one died although his/her treatment began after the identification of his/her disease. The rate of response to treatment was found to be 89.5%(34/38). Of 110 patients observed due to fungal infection diagnosis, 10 died (9.1%). While the rate was found to be 11.1%(3/27) in patients with candidemia, in patient with candiduria the rate was 8.4%(7/83). No statistically significant difference between the two clinics was found ($p>0.05$). Mortality occurred mostly in intensive care unit (5.5%) and of the strain isolated from the cases which ended in death, 4 were *C.albicans*, 4 *C.tropicalis*, 1 *C.parapsilosis* and 1 *C.krusei*.

The results we found show that while *C.albicans* which most frequently appear among the agents causing fungal infections underwent a decrease at the usual rates of 70-80% in our hospital, an increase at the rates of other *Candida species* was observed. Such an increase becomes noticeable particularly in nosocomial fungemia. In our hospital, it was observed that the frequency of the incidence of potentially resistant *Candida species* was extremely high, but that resistant strain as result of fungal infections had yet to develop. In addition, our results also show the importance of the definition of the fungal agents isolated at a level of species and of antifungal sensitivity tests. The results also emphasizes that clinical findings along with the fungal culture results and the characteristics of the underlied disease are of great importance in the decision to treat fungal infections. We are of the opinion that our results will certainly make a considerable contribution to the prevetation of development of antifungal resistance pattern, to the formation of treatment protocols in such clinics as temporary candidemia and candiduria, as well as to the studies of our hospital and national surveys.

KAYNAKLAR

- 1- Hilmioğlu S: “Yeni” Patojen Mantarlar. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 4-6 Mayıs 1999 Tutanakları Kitabı; İzmir, T Mikrobiyol Cem Yayını No. 36; 1999; 77-83.
- 2- Hazen KC: New and Emergin yeast pathogens. Clin Microbiol Rev 1998; 8: 462-78.
- 3- Fredkin SK, Jarvis WR: Epidemiyology of nosocomial fungal infections. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 499-511.
- 4- de Gentle L, Bouchara JP, Cimon B, Chabasse D: Candida cifferii, clinical and microbiological features of an emerging pathogen. Mycoses 1991; 34: 125-8.
- 5- Neumeister B, Rockemn M, Marre R: Fungemia due to Candida pelliculosa in a case of acute pancreatitis. Mycoses 1992; 35: 309-10.
- 6- Powell DA, Hayes J, Durrell DE, et all: Malassezia furfur skin colonization of infants hospitalized in intensive care units. J Pediatr 1987; 111: 217-20.
- 7- İnci R: Antifungal ilaçlar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji’de Ş.Ustaçelebi Ş, G Mutlu, T İmir, T Cengiz, E Tümbay, Ö Mete (der).Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; s1015-1022.
- 8- San-Blas G, Travassos LR, Fries BC, Goldman DL, Casadevall A, Carmona AK, et all: Fungal morphogenesis and virulance. Med Mycol 2000; 38: 79-86.
- 9- Tomee JF CH, Kauffman HF: Putative virulance factors of Aspergillus fumigatus. Clin Exper Aller 2000; 30: 476-484.
- 10- Hana SA, Monteiro da Silva JL, Giannini MJ. Adherence and intra cellular parasitism of Paracoccidioides brasiliensis in Vero cells. Microb Infect 2000; 877-884.
- 11- Hannula J, Saarela M, Dogan B, Paatsama J, Kaukila-Kahkola P, Pirinen S, et all: Comparison of virulence factors of oral Candida dubliniensis and Candida albicans isolates in healthy people and patients with chronic candidosis.Oral Microbial İmmunol 2000; 15: 238-244.
- 12- Kuştımur S: Fungal infeksiyonlarda virulans faktörleri., X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi KLİMİK 2001Kitabı Adana, 2001;197-199.
- 13- Stehr F, Felk A, Kretschmar M, Schaller M, Schafer W, Hube B: Extracellular hydrolitic enzymes and their relevance during Candida albicans infections. Mycoses 2000; 43(2): 17-21.
- 14- Hogan LH, Kline BS, Levitz SM: Virulance factors of medically important fungi. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 469-488.

- 15- Ghannoum MA: Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 122-143.
- 16- Kalkancı A, Yalınay Çırak M, Mansuroğlu H, Kuştimur S: *Candida* türlerinde slaym faktör belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1999; 29: 183-185.
- 17- Kuştimur S. *Candida*'da virulans faktörleri: In: Tümbay E, İnci R, Hilmioğlu S, Aydemir Ş (eds): 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No: 36. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1999: 145-150.
- 18- Ener B: Mantar infeksiyonlarında klinikten laboratuara: Tanı sorunları. *Ankem Derg* 1998; 12: 12: 248-252.
- 19- Kaufman RH: Establishing a correct diagnosis of vulvovaginal infection. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 986-988.
- 20- Warren GN, Shadomy HJ: *Candida*, *Cryptococcus* and other yeast of medical importance. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology* (6th edition). Washington DC, ASM Press 1995; 723-737.
- 21- Yıldırım ŞT: Mantar infeksiyonlarında laboratuvar tanı. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de Ş.Ustaçelebi Ş, G Mutlu, T İmir, T Cengiz, E Tümbay, Ö Mete (der).Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; s 1129-1144.*
- 22- Saraçlı MA: Mantar infeksiyonlarının tanısında moleküler yöntemler. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi KLİMİK 2001 Kitabı, Adana, 2001; 208-210.
- 23- Çerikçioğlu N: Mantar infeksiyonlarında seroloji ve deri testleri. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de Ş.Ustaçelebi Ş, G Mutlu, T İmir, T Cengiz, E Tümbay, Ö Mete (der). Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; s1145-1151.*
- 24- Kuştimur S: Antifungal duyarlılık testleri. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de Ş.Ustaçelebi Ş, G Mutlu, T İmir, T Cengiz, E Tümbay, Ö Mete (der).Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; s1159-1165.*
- 25- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for broth Dilution Susceptibility Testing of Yeasts: Proposed Standard. NCCLS Document M27-P, Villanova, Pa, 1992.
- 26- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for broth Dilution Susceptibility Testing of Yeasts: Tentative Standard. NCCLS Document M27-T, Villanova, Pa, 1995.
- 27- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for broth Dilution Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Standard. NCCLS Document M27-A, Wayne, Pa, 1997.
- 28- Ermertcan Ş: Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* kökenlerinin flukonazole *in vitro* duyarlılığının makrodilüsyon yöntemleri ile saptanması. Uzmanlık tezi, Bornova, izmir 1998.

- 29- Espinel-Ingroff A, Pfaller MA: Antifungal agents and susceptibility testing. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology (6th edition). Washington DC, ASM Press 1995; 1405-1414.
- 30- Ener B: Hastane infeksiyonu etkeni olarak mantarlar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de Ş.Ustaçelebi Ş, G Mutlu, T İmir, T Cengiz, E Tümbay, Ö Mete (der).Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; s1123-1127.
- 31- İnci R, Tümbay E: Nosocomial fungal infections: Tümbay E, İnci R, eds The International Symposium and Workshop on Hospital Hygiene and Hospital Infection Control(7-11 October 1996, İzmir) Invited papers. İzmir: Ege University Press, 1996:129-36.
- 32- Işık F, Hayran M, Özkuyumcu C, Akalın HE: Hacettepe Üniversitesi Hastanelerinde hastane infeksiyonları. ANKEM Dergisi 1992; 6:181-6.
- 33- Ünal S, Akhan SA: Hospital İnfection control in a Turkish University hospital. İn : The International Symposium and Workshop on Hospital Hygiene and Hospital Control, 7-11 October 1996, İzmir, Turkey . Invited Papers. İstanbul: The Turkish Microbiology Society, 1996:179-83.
- 34- Kurnaz T, Yıldız N, Erbektaş İ, et all: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi'nde nozokomiyal infeksiyonlar. 8. Türk klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, 1997: 523.
- 35- Mamıkoğlu L, Günseren F, Özçelik FT, et all: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde hastane infeksiyonları: 1994-1995. Hastane infeksiyonları Dergisi 1998; 2: 42-5.
- 36- Wilke A, Palabıykoğlu İ, Köse T, et all: Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi'nde nozokomiyal infeksiyonlar. IV. Hastane İnfeksiyonları Simpozyumu, 17-19 Mart 1999, Ankara. Bildiri No: 1. Simpozyum Kitabı, 1999; 69.
- 37- Wilke A, Başkan S, Palabıykoğlu İ, et all: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi'nde 1992-1998 Yıllarında Gözlenen Hastane İnfeksiyonları. Hastane İnfek Derg 2001; 5: 31-37.
- 38- İnci R, Hilmioğlu S: Nozokomiyal Fungal İnfeksiyonlara Yaklaşım. Klimik Dergisi 2000; 13: 28- 31.
- 39- Pittet D, Li N, Woolson RF, Wenzel RP: Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: a 6 year validate, population based model. Clin Infect Dis 1997; 24: 1068-78.
- 40- Yuluğ N: Mantar infeksiyonlarına genel bakış. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de Ş.Ustaçelebi Ş, G Mutlu, T İmir, T Cengiz, E Tümbay, Ö Mete (der).Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; s1023-1024.
- 41- Brod RD, Flynn HW Jr, Clarkson JG, et all: Endogenous Candida endophthalmitis; management without intravenous amPhotericin B. Ophthalmology 1990; 97: 666-74.

- 42- Leung WH, Lau CP, Tai YT, et al: Candida right ventricular mural endocarditis complicating indwelling right atrial catheter. *Chest* 1990; 97: 1492-3.
- 43- Schrank JH Jr, Dooley DP: Purulent pericarditis caused by Candida species: case report and review. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 182-7.
- 44- Rabinovici R, Szewczyk D, Ovadia P, Greenspan JR, Sivalingam JJ: Candida pericarditis: clinical profile and treatment. *Ann Thorac Surg* 1997; 63:1200-4.
- 45- Weers-Potholf G, Havermans JF, Kamphuis J, Sinnige HA, Meis JF: Candida tropicalis arthritis in a patients with acute myeloid leukemia successfully treated with fluconazole: case report and review of the literature. *Infection* 1997; 25: 109-11.
- 46- Isalaska BJ, Stanbridge TN: Fluconazole in the treatment of candidal prosthetic valve endocarditis. *Br Med J* 1998; 297: 178-9.
- 47- Casado JL, Quereda C, Olival J, et al: Candidal meningitis in HIV-infected patients: analysis of 14 Cases. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 673-6.
- 48- Uzun Ö: Fungal hastane infeksiyonlarında tedavi yaklaşımları. *H inf Derg* 1998; 2:156-163.
- 49- Erbakan N: Derinin mantar hastalıkları. Ankara, Türkiye Klinikleri Yayınevi, 1989.
- 50- Wey SB, Mori M, Pfaller MA, et al: Hospital acquired candidemia: the attributable mortality and excess length of stay. *Arch Intern Med* 1988; 148: 2642-5.
- 51- Wise G: Fungal infections of the urinary tract. In: Walsh CP, Retik BA, Stamy AT, Vaughan ED(eds) *Champhell' Urology*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1992: 928-50.
- 52- Maksymiuk AW, Thongprasert S, Luna M, Hopfer R, Fainstein V, Bodey GP: Systemic candidiasis in cancer patients. *Am J Med* 1984; 77(suppl 4D): 20-7.
- 53- Uzun Ö, Anaissie EJ: Problems and controversies in the management of hematogenous candidiasis. *Clin Infect Dis* 1996; 22 (suppl 2): 95-101.
- 54- Fisher JF, Newman CL, Sobel JD: Yeast in the urine: Solutions for budding problem. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 183-9.
- 55- Warren JW: Nosocomial urinary tract infections. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE eds. *Principles and Praticce of Infectious Diseases*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2607-16.
- 56- Sivrel A: Kandidüri: Klinik önemi ve tedavi yaklaşımı. *İnf Derg* 1998; 12(2): 277-280.
- 57- Gerle RD: Roentgenographic features of primary renal candidiasis: Fungus ball of the renal pelvis and ureter. *Am J Roentgenol* 1973; 119: 731-8.

- 58- Wise GJ: Fungal infections of the urinary tract. In: Walsh CP, Retic BA, Starney AT, Vaughan ED, eds. Champell's Urology. 6th ed. Philadilphia: WB Saounders Co, 1992: 928-50.
- 59- Wong-Beringer A, Jacobs RA, Guglielmo BJ: Treatment of funguria. JAMA 1992; 267: 2780-5.
- 60- İnci R: Antifungal ilaçlar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de Ş.Ustaçelebi Ş, G Mutlu, T İmir, T Cengiz, E Tümbay, Ö Mete (der).Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; s1155-1158.
- 61- Bennett JE : Antifungal agents. In : Mandell GL, Douglas RG, bennett JE, eds Principles and Praticce of Infectious Disease (4rd edition). Vol. 1. Newyork, Churchill Livingstone, 1995; 401-410.
- 62- Uzun Ö: Antifungal tedavi:amfoterisin B hala standart ilaç mı? Ankem Derg 1998; 12: 253-256.
- 63- White TC, Marr KA, Bowden RA: Clinical, celluler and moleculer factors that contribute to antifungal drug resistance. Clin. Microbiol Rev 1998; 11: 382-402.
- 64- Odds FC, Bernaerts R: CHROMagar Candida, A New Differential Isolation Medium for Presumptive Idevtification of Clinically Important Candida Species. J Clin Microbiol 1994, 32: 1923-1929.
- 65- Jacobs LG, Skidmore EA, Cardoso LA, Ziv F: Bladder irrigation with Amphotericin B for treatment of fungal urinary tract infections. Clin Infect Dis 1994; 18:313-318.
- 66- Ener B: Antifungal dirençlilik ve genetik analizler.Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik-Laboratuar Uygulamaları ve Yenilikle 1997 Kuşadası, kongre kitabı, s.136-140.
- 67- Sungur C, Akalın HE: Antifungal Ajanlar. Antibiotikler, Temel Bilgiler ve Klinik Kullanımları. Akalın HE ed, Türk Tabipler Biliği Yayınları, Ankara, 1989; 147-155.
- 68- McGinnis MR, Rinaldi MG: Antifungal drugs: Mecanisms of actions, drug resistance, susceptibilty testing, and assays of activity in biologic fluids. In: Lorian V(ed). Antibiotics in Laboratory Medicine (4th edition). Baltimore, Williams-Wilkens Co, 1996; 176-211.
- 69- Warnock DW: Amphoterisin B: an introduction. J antimicrob Chemother 1991; 28: 27-28.
- 70- Nolte FS, Parkinson T, Falconer J, Dix S, Wiliams J, Gilmore C, Geller R, Wingard JR: Isolation and characterization of fluconazole and amphotericin B resistant Candida albicans from blood of two patients with leukemia. Antimicrob agents Chemother 1997; 41: 196-199.
- 71- Wingard JR: İnfections due to resistant Candida species in patients with canser who are receiving chemotherapy. Clin Infect Dis 1994; 19: 49-53.
- 72- Ener B: Yeni antifungaller üzerine çalışmalar. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi kitabı Antalya 1996; s 23-125.

- 73- Hiemenz JW, Walsh TJ: Lipid formulations of amphotericin B: Recent progress and future directions. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 133-134.
- 74- White M, Anaissie EJ, Kusne S, Wingard JR, Hiemenz JW: Amphotericin B colloidal dispersion vs. lipid amphotericin B as therapy for invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1996; 24: 635.
- 75- Ağel H E: Antifungal profilaksi ve direnç sorunu. *T J Inf Derg* 2000; 14(1): 151-156.
- 76- May JL, King A, Warren CA: Fluconazole disc diffusion testing for the routine laboratory. *J Antimicrobial Chemother* 1997; 40: 511-516.
- 77- Espinel-Ingroff A, Shadomy S: In vitro and In vivo evaluation of antifungal agents. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8: 352-361.
- 78- Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM: Current and emerging azole antifungal agents. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 40-79.
- 79- Çaksen H, Kurtoğlu S: Sistemik etkili antifungal ajanlar: Ketokonazol ve flukonazol. *Yeni Tıp Derg* 1995; 12: 361-364.
- 80- Van de Velde VJ, Van Peer AP, Heykants JJ, Woestenborghs RJ, Van Rooy P, De Beule KL, Cauwenbergh GF: Effect of blood on the pharmacokinetics of a new hydroxypropyl-beta-cyclodextrin formulation of itraconazole. *Pharmacother* 1991; 16: 424.
- 81- Ener B: Mantar infeksiyonlarının önlenmesi, infeksiyonun kontrolü mü, tedavisi mi? Bal Ç, Söyletir G, Gür D, Sümerkan D, Sümerkan B, Dündar V(ed): IV. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Klinik Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler'de Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No: 37. İstanbul: Çatı Grafik, 1999: 80-1.
- 82- Members of the Working Party of British Society for Antimicrobial Chemotherapy. Antifungal drug susceptibility testing. *J Antimicrobial Chemother* 1995; 36: 899-909.
- 83- Anaissie EJ, Bodey GP, Kantarjian H, David C, Barnett K, Bow E, Defelice R, Downs N, File T, Karam G, Potts D, Shelton M, Sugar A: Fluconazole therapy for chronic disseminated candidiasis in patients with leukemia and prior amphotericin B therapy. *Am J Med* 1991; 91:142.
- 84- Dennig DW, Bailly GG, Hood SV: Azole resistance in candida. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 261-280.
- 85- Katircioğlu İ, Tosun İ, Uyanık E, Bozkaya H, Bingöl R: Vagina akıntısı örneklerinde saptanan mayaların tiplendirilmesi. *İnfekt Derg* 1995; 9: 297-301.
- 86- Arıkan S: Yeni antifungal ilaçlar. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi KLİMİK2001 program kitabı, Adana 2001; 203-209.
- 87- Arıkan S, Lozano Chin M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH: Microdilution susceptibility testing of amphotericin B, itraconazole and voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* species. *J Clin Microbiol* 1999; 37(12): 3946-3951.

- 88- Li RK, Ciblak MA, Nordoff N, Pasarell L, Warnock DW, Mc Ginnis MR: In vitro activities of voriconazole, itraconazole and amphotericin B against *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* and *Histoplasma capsulatum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(6): 1734-1736.
- 89- Perea S, Fothergill AW, Suttgn A, Rinaldi: Comparison of in vitro activities of voriconazole and five established antifungal agents against different species of dermatophytes using a broth macrodilution method. *J Clin Microbiol* 2001; 39(1): 385-388.
- 90- Barchiesi F, Arzeni D, Fothergill AW, Di Francesco LF, Caselli F, Rinaldi MG, Scalise G: In vitro activities of the new antifungal triazole SCH 56592 against common and emerging yeast pathogens. *Antimicrob Agent Chemother* 2000; 44(1): 226-229.
- 91- Yıldırım ST, Saraçlı MA, Fothergill AW, Rinaldi MG: In vitro susceptibility of environmental *Cryptococcus neoformans* variety *neoformans* isolates from Turkey to six antifungal agents, including posaconazole and voriconazole. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19(4): 317-319.
- 92- Yamazumi T, Pfaller MA, Messer SA, Houston A, Hollis RJ, Jones RN: In vitro activities of ravukonazole (BMS-207147) against 541 clinical isolates of *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(10): 2883-2886.
- 93- Georgopapadakou NH: Update on antifungals targeted to the cell wall: focus on beta-1,3-glucan synthase inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs* 2001;10(2): 269-280.
- 94- Arıkan S, Lozano Chin M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH: In vitro susceptibility testing methods for caspofungin against *Aspergillus* and *Fusarium* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(1): 327-330.
- 95- Moore CB, Oakley KL, Denning DW: 2001. In vitro activity of a new echinocandin, LY303366, and comparison with flukonazole, flucytosine and amphotericin B against *Candida* species. *Clin Microbiol Infect* 7(1):11-16.
- 96- Tawara S, Ikeda F, Maki K, Morishita Y, Otomo K, Teratani N, Goto T, Tomishima M, Ohki H, Yamada A, Kawabata K, Takasugi H, Sakane K, Tanaka H, Matsumo F, Kuwahara S: 2000. In vitro activities of a new lipopeptide antifungal agent, FK463, against a variety of clinically important fungi. *Antimicrob Agents Chemother* 44(1): 57-62.
- 97- Arıkan S, Rex JH:2001. Nystatin LF. *Current Opinion in Investigational Drugs* 2: 488-495.
- 98- Helvacı S, Gedikoğlu S, Mıstık R: *Candida albicans* tanısında germ tüp testi. *İnfekt Derg* 1992; 6:141-143.
- 99- Rodriguez-Todela JL, Martinez-Suarez JV: Improved medium for flukonazole susceptibility testing of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 45-48.

- 100- Chen SC, O'Donnell ML, Gordon S, Gilbert GL: Antifungal susceptibility testing using E test: Comparison with broth macrodilution technique. *J Antimicrob Chemother* 1996; 37:265-273
- 101- Warren NG, Shadomy HJ: *Candida crypococcus* and other yeasts of medical importance In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH(eds): *Manual of Clinical Microbiology* (6 th edition). Washington DC, ASM Press 1995; 723-737.
- 102- Buckley HR: Identifications of yeasts. In: Evans EGV and Richardson MD(eds). *Medical Mycology: A practical Approach*. Oxford, Oxford University Press, 1989; 23: 275-83
- 103- Price MF, Larocco MT, Gentry LO: Flukonazole susceptibilities of *Candida* species recovered from blood cultures over a 5- year period. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1422-1424.
- 104- Fen JP, Segal H, Barland B, Denton D, Whisenant J, Chun H, Christofferson K, Hamilton L, Carroll K: Comparison of updated Vitek Yeast Biochemical Card and API 20C yeast identification systems. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1184-1187.
- 105- Torres Rodriguez JM, Montane L, Madrenys-Brunet N: Identification of yeast of the *Candida* genus with a growth inhibition system: *Microring Yt. Enfermedades Infecciosas Microbiologia clinica* 1994; 12: 439-442.
- 106- Kuştimur S: Mayaların Antifungal duyarlılık testleri. 3. Antimikrobiyal Kemoterapi Günleri kongre kitabı. Kuşadası1997; s.118-121.
- 107- Simor AE, Goswell G, Louie L, Lee M, Louie M: Antifungal susceptibility testing of yeast isolates from blood cultures by microbroth dilution and the E test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 693-697.
- 108- Gülay Z, Yuluğ N: Antikandidal duyarlılık testlerinde yöntemlerin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bül* 1995; 179-188.
- 109- Rein M: Vulvovajinitis and cervicitis. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, eds *Principles and Practice of Infectious Disease* (4rd edition). Vol. 1. Newyork, Churchill Livingstone, 1995;1074-1090.
- 110- Wilke A, Çerikçioğlu N, İnci R, Arslan H, Demirkazık A: Kanserli hastalardan izole edilen kandida türlerinin antifungallere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1993; 23: 119-122.
- 111- Arıkan S, Akova M: İn vitro amfoterisin B duyarlılık testlerinde 'Antibiotic Medium 3' besiyerinin kullanılması. *İnfek Derg* 1998; 12: 217-221.
- 112- Roberts GD: *Laboratory Methods in Basic Mycology*. In: Finegold SM, Beren EJ eds *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Missouri, J.V. Mostby Company, 1986; 678-774.
- 113- Dannaoui E, Colin S, Pichot J, Piens A: Evaluation of the E test for fluconazole susceptibility testing of *Candida albicans* isolates from oropharyngeal candidiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 228-32.

- 114- Favel A, Michel-Nguyen A, Chastin C, Trousson F, Penaud A, Regli P: In vitro susceptibility pattern of candida lusitaniae and evaluation of the E test method. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 591-96.
- 115- Chen SC, O'Donnell ML, Gordon S, Gilbert GL: Antifungal susceptibility testing using E test: Comparison with broth macrodilution technique. *J Antimicrobial Chemother* 1996; 37: 265-273
- 116- Van eldere J, Jousten L, Verhaeghe V, Surmont I: Flukonazole and amphotericin B antifungal susceptibility testing by National committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method compared with Etest and semiautomated broth microdilution test. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 842-47.
- 117- Wager A, Mills K, Nelson PW, Rex Jh: Comparison of E test and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing: enhanced ability to detect amphotericin B resistant Candida isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 2520-2522.
- 118- Arıkan S, Gür D, Akova M: Comparison of Etest, Microdilution and colorimetric dilution with reference broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing of clinically significant Candida species isolated from immunocompromised patients. *Mycoses* 1997; 40: 291-96.
- 119- Pfaller MA: Epidemiology and control of fungal infections. *Clin Infect Dis* 1994;19 (Suppl 1): 8-13.
- 120- Anaissie E: Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: Experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis* 1991;14(suppl 1):s 43-53.
- 121- Vaudry WL, Tierney AJ, Wenman WM: Investigation of a cluster of systemic Candida albicans infections in a neonatal intensivecare unit. *J Infect Dis* 1998;158:1375-9.
- 122- Edwards JE, Filler S: Current strategies for treating invasive candidiasis: emphasis on infections in nonneutropenic patients. *Clin Infect Dis* 1992; 14 (Suppl 1):106-13.
- 123- Moral AR, Tümbay E, Ulusoy B, Aksoy N, Çevik A, İnci R: Multidisipliner yoğun bakım hastalarında fungal kolonizasyon ve flukonazol profilaksinin etkisi. *Türk Anesteziyol Reanim Cemiy Mecm* 1994; 22: 236-40.
- 124- Obata S, Hirata Y, Sunakawa K, Inoue M: An epidemiological study for fungus isolation during the twenty-five year periods from 1976 to 2000 in Kitasato University Hospital. *Kansenshogaku Zasshi* 2001 Oct; 75(10): 863-9.
- 125- Çayırılı A, Süzük S, Balaban N, , Bodur Coşkun SH: Klinik örneklerden izole edilen kandida türleri. 30. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı*, P07-06.
- 126- Yılmaz, B., Batırel, A., Gençer, S., Özer, S: Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Candida Suşlarının Tiplendirilmesi. 30. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı* 2002; P07-10.

- 127- Sultan N, Ergin M, Özkan S: Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Candida Suşlarının İdentifikasyonu ve Antifungallere Duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* 1994; 8 (2): 115.
- 128- Kocazeybek B, Ordu A, Ayyıldız A, Aslan M, Bayındır O ve Sönmez B: Yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan izole edilen mayalar. *Türk Mikrobiol Cem Derg* 2000; 30: 38-40
- 129- Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP: Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 239-44.
- 130- Pfaller MA: Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs and modes of transmission. *Clin Infect Dis* 1996; 22(suppl 2) :89-94.
- 131- Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE, Saral MR: Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med* 1991; 325: 1274-7.
- 132- Weems JJ: *Candida parapsilosis*: Epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 756-66.
- 133- Odds FC: *Candida* species and virulence. *Features* 1994; 60: 313-8.
- 134- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis R, Messer SA: International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada and South America for the Sentry program. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1886-89.
- 135- Mathews MS, Samuel PR, Suresh M: Emergence of *Candida tropicalis* as the major cause of fungemia in India. *Mycoses* 2001; 44(7-8): 278-80.
- 136- Luzzati R, Amalfitano G., Lazzarini L., Soldani F, Bellino S., Solbiati M., Danzi M.C, Vento S., Todeschini G, Vivenza C., Concia E: Nosocomial Candidemia in Non-Neutropenic Patients at an Italian Tertiary Care Hospital *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Q Springer-Verlag* 2000 (2000) 19 : 602–607.
- 137- Ener B, Sınırtaş M, Akalın H, et al: Nozokomiyal kandidemi etkenlerinin retrospektif analizi. *İnfek Derg* 1998; 12(1): 85-88.
- 138- Vural T, Çolak D, Celeboğlu GN, Felek R, Öngüt G, Er D, Şekercioğlu AO, Tuncer D, Saygan MB, Gökay S: Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türleri ve antifungal duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 1998; 12(No. 2) poster 75.
- 139- Segal E, Elad D: *Candida* species and *Blastoschizomyces capitatus*. In: Ajello L, Hay JR(eds). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. Vol.4. Medical Mycology. New York: Oxford University Pres, Inc. 1998: 423., Wilke Topçu A, Çerikçioğlu N: *Candida* türleri. *Mantar İnfeksiyonları, AW Topçu, G Söyletir, M Doğanay(eds) İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Kitabından Nobel tıp kitapçevleri* 2002; 2:1797-1808.

- 140- Shin JH, Kook H, Shin DH, Hwang TJ, Kim M, Suh SP, Ryang DW: Nosocomial cluster of *Candida lipolytica* fungemia in pediatric patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000 May;19(5): 344-9.
- 141- Karabinis A, Hill C, Leclercq B, Tancrede C, Baume D, Andremont A: Risk factors for candidemia in cancer patients: a cases-control study. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 429-32.
- 142- Akova M: Yoğun Bakım ünitelerinde fungal enfeksiyonlar. *ANKEM Derg* 1992; 6: 331-4.
- 143- Bross J, Talbot GH, Maislin G, Hurwitz S, Strom BL: Risks factors for nosocomial candidemia: a case control study in adults without leukemia. *Am J Med* 1989; 87: 614-9.
- 144- Harvey RL, Myers JP: Nosocomial fungemia in a large community teaching hospital. *Arch Intern Med* 1987; 147: 2117-20.
- 145- Weese-mayer DE, Fondriest DW, Brouillette RT, Shulman ST: Risk factors associated with candidemia in the neonatal intensive care unit: a case-control study. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 190-6.
- 146- Kuştimur S, El Nahi H: Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* Türlerinin Patojenite Testleri ile Saptanması ve Bunlarda Asit Proteinaz'ın Gösterilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 1991; 21 (1): 64-69.
- 147- Ergin M, Kuştimur S: Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida Albicans* Suşlarında Proteinaz Aktivitesinin Kazein Agar Yöntemi ile Gösterilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1994; 28 (4): 338-344.
- 148- Vural T, Çolak D, Felek R, Öngüt G, Er D, Şekercioğlu AO, Tuncer D, Saygan MB, Gökay S, Celeboğlu GN: Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türleri ve antifungal duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 1998; 12(No. 2) poster 76.
- 149- Hoşoğlu S: Yoğun bakım ünitesinde yeni ve yeniden sorun olan mantarlar. *Yoğun bakım derg* 2002; 2(Ek 1): 50-54.
- 150- Arıkan S, Haşçelik G, Günalp A: Hacettepe Üniversitesi hastanelerinde klinik örneklerden izole edilen maya türleri. *İnf Derg* 1998; 12(1): 97-102.
- 151- Haupt HM, Merz WG, Beschorner WE, Vaughan VP, Saral R: Colonization and infection with *Trichosporon* species in the immunosuppressed host. *J Infect Dis* 1983;147:199-203
- 152- Uzun M, Bal Ç, Kiraz N, Aydın AE, Akatan G, Anđ Ö: Böbrek transplantasyonu yapılan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen *Trichosporon beigellii* suşları. *KLİMİK Derg* 1996;9: 47-8
- 153- Tümbay E, Hilmi Z, Üçer B, Cüreklibatır İ, Yurtseven O, Gürsan A, Soy K, Gürel G, Demir O: Alt İdrar Yolu Mantar İnfeksiyonlarının Flukonazol İle Sağaltımından Alınan Sonuçlar. *İnfeksiyon Dergisi* 1990; 4 (1): 131-136.

154- Coleman DC, Rinaldi MG, Haynes KA, Rex JH, Summerbell RC, Anaissie EJ, Li A, Sullivan D: Importance of *Candida* species other than *Candida albicans* as opportunistic pathogens. *Med Mycol* 1998; 26(Suppl 1): 156-65.

155- Piero Testore G, Falco F, Sarrecchia C, Sordillo P, Bontempo G, Andreoni M: Two-year surveillance on fluconazole susceptibility of *Candida* spp isolates in a general and university hospital in Rome. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001 Sep; 41(1-2): 23-7.

156- Meis J, Petrou M, Bille J, Ellis D, Gibbs D and the Global Antifungal Sance Group: A global evaluation of the susceptibility of *Candida* species to fluconazole by disk diffusion. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* Volume 36, Issue 4, April 2000, Pages 215-223.

157- Arıkan S; Akova M; Hayran M; Ozdemir O; Erman M; GÜr D; Unal S: Turkey Correlation of in vitro fluconazole susceptibility with clinical outcome for severely ill patients with oropharyngeal candidiasis *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* Volume 26, Issue 4, April 1998, Pages 903-908).

158- Berrouane Y.F, Herwaldt L.A, Pfaller M.A: Trends in antifungal use and epidemiology of nosocomial yeast infections in a University Hospital. *Journal of Clinical Microbiology* Volume 34, Issue 9, 1996, Pages 2154-2157.

159- John H. Rex, John E. Bennett, Alan M. Sugar, Peter G. Pappas, Charles M. van der Horst, John E. Edwards, Ronald G. Washburn, W. Michael Scheld, Adolf W. Karchmer, Alan P. Dine, Marcia J. Levenstein, C. Douglas Webb, for The Candidemia Study Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group: A Randomized Trial Comparing Fluconazole with Amphotericin B for the Treatment of Candidemia in Patients without Neutropenia. *NEJM* No 20 1994; vol 331: 1325-1330.

160- Kovacicova G, Krupova Y, Lovaszova M, Roidova A, Liskova JTA, Hanzen J, Milosovic P, Lamosova M, Macekova L, Szovenyiova Z, Purgelova A, Obertik T, Bille J, Krcmery V: Antifungal susceptibility of 262 bloodstream yeast isolates from a mixed cancer and non-cancer patient population: is there a correlation between in-vitro resistance to fluconazole and the outcome of fungemia? *J Infect Chemother* (2000) 6: 216–221.

161- Akova M, Hayran M, Arıkan S, Gür D, Ünal S: Antifungal Duyarlılık Sonuçlarının Klinik Başarı İle Korelasyonu. *Ankem Dergisi* 1995; 9 (2): 140.