

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
CANDIDA TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE
ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Seray TÜMER

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR

ŞANLIURFA
2011

Dr. Seray TÜMER

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

UZMANLIK

ŞANLIURFA - 2011

T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
CANDIDA TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE
ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI**

Dr. SERAY TÜMER

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 2009/020-932 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIUFA

2011

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçilmesinden, çalışmaların yürütülmesine kadar her aşamada bilgi ve desteğinden yararlandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda çalışmaya başladığım ilk günden itibaren sürekli destek ve teşviklerini gördüğüm, uzmanlık eğitimimde büyük katkısı bulunan Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Sami TAŞÇI'ya, yine eğitimimde büyük katkısı olan, çalışmalarıyla bize örnek olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Fadile Yıldız ZEYREK'e sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamda büyük desteğini gördüğüm Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvar sorumlusu Dr. Akgün YAMAN ve mikrobiyoloji laboratuvar çalışanlarına; aynı şekilde tez çalışmalarına yön veren, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Araştırma Hastanesi Moleküler Mikrobiyoloji sorumlusu Dr. Barış OTLU'ya ve mikrobiyoloji laboratuvar çalışanlarına; uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Mevliye ZEKİ, Dr. Adem DAĞ, Dr. Yalçın VURUPALMAZ, Dr. Firuzan İDEMEN, Dr. İlhan ÜNER, Dr. Hadice ÖZÇINAR, Dr. Özge ALKAN, Vet. Oğuzhan KAYA'ya, bilgi ve becerilerime katkı sağlayan tüm Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı çalışanlarına, tez çalışmam süresince yardım ve desteklerini gördüğüm Necmettin YILDIZTEKİN ve Reşat DİKME'ye, istatistik çalışmalarına katkılarından dolayı hastanemiz Biyokimya Laboratuvarı Öğretim Görevlisi Hakim ÇELİK'e, Nebiye Doni YENTUR ve Sercan AZARKAN'a, ayrıca yazı işlerimde her zaman desteklerini gördüğüm Murad ALKAN ve Tevrat ZERAY'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca ve özellikle tezimle uğraştığım dönemde beni büyük bir özveriyle destekleyen annem Ayla ÖZLEME'ye, babam Serhat ÖZLEME'ye, en zor dönemlerimde bana destek olan, sabır gösteren eşim H. Tuncay TÜMER'e, sevgili kızlarım Serra ve Sena'ya, tez çalışmalarına uzaklardan destek veren sevgili dostlarım Ebru ARIKAN ve Ebru KARNEZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
RESİMLER LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xx
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Tarihçe	3
2. 2. Mantarların Genel Özellikleri	4
2. 3. Mantarlarda Üreme	5
2. 3. 1. Eşeysiz Üreme	5
2. 3. 1. 1. Sporangiospor	5
2. 3. 1. 2. Konidyum	6

2. 3. 2. Eşeyli Üreme	8
2. 3. 2. 1. Zigospor	8
2. 3. 2. 2. Askospor	8
2. 3. 2. 3. Bazidiyospor	9
2. 4. Mantarların Sınıflandırılması	9
2. 5. <i>Candidalar</i> ın Genel Özellikleri	11
2. 5. 1. Hücre ve Hücre Duvar Yapısı	14
2. 5. 2. Tıbbi Öneme Sahip Bazı <i>Candida</i> Türleri	16
2. 5. 3. Antijenik Yapı	22
2. 6. <i>Candida</i> Enfeksiyonlarının Patogenezi	22
2. 7. Virulans Faktörleri	26
2. 7. 1. Adezyon	26
2. 7. 2. Slime Faktör ve Biyofilm Oluşturma	27
2. 7. 3. Siderofor Üretimi	28
2. 7. 4. Sekretuar Aspartik Proteinaz (Sap)	29
2. 7. 5. Fosfolipaz	30
2. 7. 6. Diğer Enzimler	30
2. 7. 7. Çimlenme Borusu (Germ Tüp)	30
2. 7. 8. Toksinler	30
2. 8. Epidemiyoloji	31
2. 9. <i>Candida</i> Türlerinin Klinik Önemi ve Yaptığı Enfeksiyonlar	32

2. 9. 1. Yüzeysel Kandidozlar	33
2. 9. 1. 1. <i>Candida</i> Dermatiti	33
2. 9. 1. 2. Ağız Kandidozu	33
2. 9. 1. 3. <i>Candida</i> Özofaji	33
2. 9. 1. 4. <i>Candida</i> Vajiniti	33
2. 9. 1. 5. Kronik Mukokutanöz Kandidoz (KMK)	34
2. 9. 2. Derin (Sistemik) Kandidozlar	34
2. 9. 2. 1. Kandidemi	34
2. 9. 2. 2. Santral Sinir Sistem Kandidozu	36
2. 9. 2. 3. Solunum Sistemi Kandidozu	36
2. 9. 2. 4. <i>Candida</i> Endokarditi	37
2. 9. 2. 5. <i>Candida</i> Osteomyeliti	37
2. 9. 2. 6. <i>Candida</i> Endoftalmi	37
2. 9. 2. 7. Gastrointestinal <i>Candida</i> Enfeksiyonları	37
2. 9. 2. 8. Kandidüri ve Üriner Sistem Kandidozu	38
2. 9. 2. 9. <i>Candida</i> Peritoniti	38
2.10. Risk Grubu Hastalarda <i>Candida</i> Türleri Dışındaki Mayalar	39
2. 10. 1. <i>Trichosporon</i> Türleri	39
2. 10. 2. <i>Malassezia</i> Türleri	39
2. 10. 3. <i>Geotrichum Candidum</i>	39
2. 10. 4. <i>Cryptococcus</i> Türleri	40

2. 10. 5. Diğer Maya ve Maya Benzeri Mantarlar	40
2. 11. <i>Candidaların Tanısı</i>	40
2. 11. 1. Direkt Mikroskopik İnceleme	41
2. 11. 2. Kültür	41
2. 11. 2. 1. Primer İzolasyon	41
2. 11. 2. 2. İdentifikasyon	43
2. 11. 2. 2. 1. Germ Tüp Testi	43
2. 11. 2. 2. 2. Hif, Blastospor ve Klamidospor Yapımı	44
2. 11. 2. 2. 3. Karbonhidrat Asimilasyon Testi	44
2. 11. 2. 2. 4. Nitrat Asimilasyon Testi	45
2. 11. 2. 2. 5. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri	45
2. 11. 2. 2. 6. Üreaz Testi	45
2. 11. 2. 2. 7. Hızlı Trehaloz Testi	46
2. 11. 2. 2. 8. Kromojenik Besiyerleri	46
2. 11. 3. Kültür Dışı Tanı Yöntemleri	47
2. 11. 3. 1. Serolojik Yöntemler	47
2. 11. 3. 2. Moleküler Tanı Yöntemleri	48
2. 12. <i>Candida</i> Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungaller	50
2. 12. 1. Polyen Antifungaller	51
2. 12. 1. 1. Amfoterisin B	51
2. 12. 1. 2. Nistatin	52

2. 12. 2. Azoller	54
2. 12. 2. 1. Ketokonazol	55
2. 12. 2. 2. Flukonazol	56
2. 12. 2. 3. İtrakonazol	56
2. 12. 2. 4. Vorikonazol	57
2. 12. 3. Antimetabolitler	57
2. 12. 3. 1. Flusitozin (5-Florositozin, 5FC)	57
2. 12. 4. Glukan Sentez İnhibitörleri	58
2. 12. 4. 1. Ekinokandinler	59
2. 12. 5. Allilaminler	59
2. 12. 5. 1. Terbinafin	59
2. 12. 6. Griseofulvin	60
2. 12. 7. Yeni Antifungal Ajanlar	60
2. 13. <i>Candida</i> Türlerinde Antifungal Duyarlılık Testleri	60
2. 13. 1. Dilüsyon Temeline Dayalı Yöntemler	62
2. 13. 1. 1. Buyyon Makrodilüsyon Yöntemi	62
2. 13. 1. 2. Buyyon Mikrodilüsyon Yöntemi	62
2. 13. 1. 3. Kolorimetrik MİK Testleri	64
2. 13. 1. 4. Ticari Olarak Geliştirilen Antifungal Duyarlılık Sistemleri ...	64
2. 13. 1. 5. Agar Dilüsyon Yöntemi	64
2. 13. 2. Difüzyon Temeline Dayalı Yöntemler	65

2. 13. 2. 1. Disk Difüzyon Yöntemi	65
2. 13. 2. 2. E test	65
2. 13. 3. Antifungal Duyarlılık Saptamada Kullanılan Diğer Yöntemler	65
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	66
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	66
3. 2. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar	66
3. 2. 1. Boyalar ve Kimyasal Çözeltiler	67
3. 2. 2. Besiyerleri	67
3. 3. İzolasyon ve İdentifikasyon	69
3. 3. 1. Primer İzolasyon	69
3. 3. 2. İdentifikasyon	70
3. 3. 2. 1. Germ Tüp (Çimlenme Borusu) Testi	70
3. 3. 2. 2. Mısır unu-Tween 80 Agar Besiyerinde Mikroskopik Görünümün İncelenmesi	70
3. 3. 2. 3. Kromojenik Besiyeri	73
3. 3. 2. 4. BactiCard® <i>Candida</i>	74
3. 4. API 20C AUX İdentifikasyon Sistemi İle İnceleme	76
3. 5. ATB Fungus 3 Antifungal Duyarlılık Testi	79
3. 6. VITEK 2 Compact System	83
3. 6. 1. VITEK 2 Compact System Antifungal Duyarlılık Kartları	86
3. 7. RapID™ Yeast Plus System	88
3. 8. İstatiksel Analizler	89

4. BULGULAR	90
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	101
6. KAYNAKLAR	122

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Artrokonidyum	6
Şekil 2. Fiyalokonidyum B. Blastik konidyum C.Klamidyokonidyum	7
Şekil 3. Mikrokonidyum B. Makrokonidyum	8
Şekil 4. Germ Tüp Oluşumu	12
Şekil 5. Maya ve Maya Benzeri Mantarların İlk İdentifikasyonunda Pratik Yaklaşım	42

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Mantarların Sınıflandırılması	10
Tablo 2. Eşeyli Spor Oluşturan Bazı <i>Candida</i> Türleri	11
Tablo 3. Bazı Önemli <i>Candida</i> Türlerinin Biyokimyasal (asimilasyon) Özellikleri	21
Tablo 4. İnvaziv Kandidozis İçin Risk Faktörleri.....	23
Tablo 5. <i>Candida</i> Skorlaması	24
Tablo 6. Sistemik ve Topikal Antifungal Ajanlar	53
Tablo 7. Antifungal Duyarlılık Testleri	61
Tablo 8. CLSI Antifungal İlaç MİK Değerleri	63
Tablo 9. API 20C AUX Test Strip İçeriği	77
Tablo 10. ATB FUNGUS 3 Sisteminde Skorlama	81
Tablo 11. Flusitozin Değerlendirmesi	81
Tablo 12. <i>Candida</i> Türleri İçin CLSI/ NCCLS'in Belirlediği Sınır MİK Değerleri (mg/l)	82
Tablo 13. Vitek 2 Compact System Yeast İdentifikasyon Kart İçeriği	84
Tablo 14. RapID™ Yeast Plus System Test İçeriği	88
Tablo 15. <i>Candida</i> Suşlarının Elde Edildiği Hastaların Yaş ve Cinsiyet Dağılımı	90

Tablo 16. Hastaların Servislere Göre Dağılımı	91
Tablo 17. İzole edilen <i>Candida</i> Suşlarının Klinik Örneklerle Göre Dağılımı	92
Tablo 18. Hastalara Uygulanan İşlemler	92
Tablo 19. Vitek 2 Compact System Kullanılarak Yapılan <i>Candida</i> Suşlarının İdentifikasyonu	93
Tablo 20. API C 20 Kullanılarak Yapılan <i>Candida</i> Suşlarının İdentifikasyonu	94
Tablo 21. Vitek Compact System ile API C20 Sisteminin Karşılaştırılması	95
Tablo 22. İzole Edilen <i>Candida</i> Türleri	96
Tablo 23. İzole edilen <i>Candida</i> Türlerinin Klinik Örneklerle Göre Dağılımları	96
Tablo 24. Sistemlerin Duyarlılık Oranları	98
Tablo 25. <i>Candida</i> Türlerinin VİTEK 2 Compact System İle Direnç Dağılımı	98
Tablo 26. <i>Candida</i> Türlerinin ATB Fungus 3 İle Direnç Dağılımı	99
Tablo 27. <i>C. albicans</i> ile Non <i>Albicans Candida</i> Türlerinin VİTEK Compact System ile Antifungal Duyarlılık Oranları	100
Tablo 28. <i>C. albicans</i> ile Non <i>Albicans Candida</i> Türlerinin ATB Fungus 3 ile Antifungal Duyarlılık Oranları	100
Tablo 29. Ülkemizde Farklı Merkezlerde, Farklı Yöntemlerle Yapılmış	

Çeşitli Klinik Örneklerden Elde Edilen <i>Candida</i> Suşlarının Dağılımı	120
Tablo 30. Ülkemizde Farklı Merkezlerde, Farklı Yöntemlerle Yapılmış Çalışmalardan Elde Edilen <i>Candida</i> Suşlarının Antifungal Duyarlılık Oranları	121

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. EMB Agar Besiyerinde <i>C. Kefyr</i> Türlerinin Metalik Yeşil Röfle Oluşturması	69
Resim 2. <i>C. albicans</i>	71
Resim.3. <i>C. tropicalis</i>	72
Resim 4. <i>C. krusei</i>	72
Resim 5. <i>C. glabrata</i>	73
Resim 6. Solda Kromojenik Besiyerindeki, Sağdaki SDA Besiyerindeki <i>C. albicans</i>	74
Resim 7. BactiCard® <i>Candida</i> Kartında Üstte Bulunan Çerçeve Solda PRO (+), Sağda PRO (-) <i>Candida</i> Suşları	75
Resim 8. BactiCard® <i>Candida</i> Kartında Altta Bulunan Çerçeve Solda MUGAL (+), Sağda MUGAL (-) <i>Candida</i> Suşları UV Işığı Altındaki Görüntüleri	76
Resim 9. API 20C AUX (<i>Candida</i> İdentifikasyon) Test Stribi	79
Resim 10. API 20C AUX Test Stribindeki Kuyucuklardaki Bulanıklık	79
Resim 11. ATB FUNGUS 3 (Antifungal Duyarlılık) Test Stribi	82
Resim 12. VITEK 2 Compact System İdentifikasyon ve Antifungal Duyarlılık Kartları	87

Resim 13. VITEK 2 Compact System	87
Resim 14. RapID™ Yeast Plus System	89

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

β : Beta

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat Derece

Ca: Kalsiyum

Cm: Santimetre

Δ : Delta

Fe: Demir

Gr: Gram

KOH: Potasyum Hidroksit

μm : Mikrometre

mg: Miligram

μg : Mikrogram

M: Molar

μl : Mikrolitre

pH: Hidrojen iyonunun gücü

Zn: Çinko

Kısaltmalar

- ABC: ATP Binding Cassette
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
ACTH: Adrenokortikotropik Hormon
AIDS: Acquired İmmunoDeficiency Syndrome
ALT: Alanin Amino Transferaz
AMB: Amfoterisin B
AST: AspartataminoTransferaz
ATCC: American Type Culture Collection
BC: Bactocard *Candida*
BMD: Broth Mikrodilüsyon Metodu
BOS : Beyin Omurilik Sıvısı
CDC : Center for Diseases Control and Prevention
CDR : *Candida*''Drug Resistance''
CLSI : The Clinical and Laboratory Standarts Institute
DNA: Deoksiribo Nükleik Asit
DMSO: Dimetil Sulfoksit
ELISA: Enzyme Linked İmmunosorbant Assay
Enf : Enfeksiyon
EMB: Eozin Metilen Blue
EUCAST: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FCA: Flukanozole
FDA: Food and Drug Administration
5-FU: 5-florourasil
FUMP: 5-Floroüridilik Asit
G.Cer: Genel Cerrahi
GİS: Gastrointestinal Sistem
GT: Germ Tüp
HIV: Human İmmunodeficiency Virus
IgG: İmmunglobülin G
IFN γ : İnterferon Gama
IL: İnterlökin

ITR: Itrakanozol
ITS: Internal Transcribed Spacer
KBB : Kulak-Burun-Boğaz
KDE: Kan Dolaşımı Enfeksiyonu
KMK: Kronik Mukokutanöz Kandidoz
MDR1: Multidrug Resistance
mDna: mitokondri DNA
MFs: ‘Major Facilitator’ Süper Ailesi
MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MOPS : 3-N- Morfolinopropan Sulfonik Asit
NNIS :National Nosocomial Infection Surveillance
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonunun
PVC: Polivinilklorür
rDNA: Ribozomal DNA
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA: Ribonükleik Asit
RYP: Rapid Yeast Panel
Sap: Sekretuar Aspartik Proteinaz
SDA : Sabouraud Dekstroz Agar
SF: Serum Fizyolojik
SVK: Santral Venöz Kateter
Th: T helper
TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TPN: Total Parenteral Nutrisyon
TLR : Toll-like Reseptörleri
VRC: Vorikanozol
YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

Seray TÜMER

Tıbbi Mikrobiyoloji, Uzmanlık Tezi

Yaşam sürelerinin uzaması, yaşlı ve düşkün hasta sayısının artması, invaziv girişimlerin ve majör cerrahilerin daha sık yapılması, malign hastalıklar, DM, AIDS hastalığının hızla yayılması, organ veya doku naklinin gelişmesi, yoğun bakım ünitelerinin yaygınlaşması ile yaşam destek ünitelerine bağlı hasta sayısının artması *Candida* enfeksiyonunun görülme sıklığını arttıran faktörlerdir. Bu durum, en az bakteriyel patojenler kadar mortalite ve morbidite nedeni olan candidaların önemini arttırmıştır. Bu çalışma ile hastane enfeksiyon etkenleri içerisinde gittikçe artan mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olan *Candidaların* hastanemizdeki durumları araştırılmış, tür tayini ve antifungal duyarlılık testleri yapılmıştır.

Bu çalışmada Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi'nin değişik kliniklerinden Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 175 *Candida* izolatu germ tüp testi, mısır unu tween 80 agar , API 20C AUX maya identifikasyon sistemi ve VITEK 2 Compact Sistem kullanılarak tiplendirilmiştir. Antifungal duyarlılık testleri ise ATB FUNGUS 3 mikrodilüsyon sistemi ve VITEK 2 antifungal duyarlılık kartları kullanılarak yapılmış, yöntemler birbirleriyle karşılaştırılmaya çalışılmıştır.

Çalışmaya alınan 175 *Candida* suşunun 114'ü (%65.1) idrar, 42'si (%24) kan, 8'i (%4.6) balgam, 7'si (%4) endotrakeal, 4'ü (%2.3) yaradan izole edilmiştir. Klinik örneklerden izole edilen *candida* suşları arasında en sık saptanan tür 102 suşla (%58.2) *C. albicans* olup bunu sırasıyla 31 *C. tropicalis* (%17.6), 17 *C. parapsilosis* (%9.6), 13

C. glabrata (%7.4), 3 *C. kefyr* (%1.8), 3 *C. krusei* (1.8), 2 *C. lusitaniae* (%1.2), 1 *C. famata* (%0.6) suşları izlemiştir. Antifungal duyarlılık testlerinde Vitek 2 Compact System ile; flusitozin ve amfoterisin B'ye %0.6, flukonazole %1.8 direnç saptanırken, ATB Fungus 3 ile sadece flukonazole %1.8 oranında direnç görülmüştür. Her iki yöntem ile vorikonazol direnci saptanmamıştır. Her iki duyarlılık testinde flusitozin (5-FC), flukonazol ve vorikonazol için aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p \geq 0.05$). İzole edilen *albicans* suşları, non-*albicans* suşlarına göre az da olsa daha duyarlı bulunmuştur ancak istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark yoktur ($p \geq 0.05$).

Çalışma sonuçları literatürlerle uyumlu olup hastanemizdeki tür dağılımı ve direnç oranları konusunda fikir vermiştir. *Candida türlerinin* identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının tespitinin rutin uygulamada kullanılmasının epidemiyolojik çalışmalar yanında optimal antifungal kullanımına katkıda bulunacağı ayrıca ülke ekonomisi ve üniversite kaynaklarının etkin ve sağlıklı kullanılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Candida*, Antifungal duyarlılık, VITEK 2 Compact System, ATB Fungus 3

ABSTRACT

DISTRIBUTION OF *CANDIDA* SPECIES ISOLATED FROM VARIOUS CLINICAL SAMPLES AND THEIR ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY

Seray TÜMER

Medical Microbiology, Medical Specialization Thesis

Many factors may have a role in increasing the number and frequency of *Candida* infections. They are elderly, immunosuppressive, invasive procedures, surgical, malignancy, diabetes mellitus, AIDS, organ and tissue transplantation and reamiation and hospitalization for a time long at intensive care units. Nosocomial *Candida* infections may result in an increasing morbidity and mortality. The aim of this study is to isolate and identify *Candida* species and perform antifungal susceptibility.

This study was carried out at Harran University Teaching Hospital, Microbiology Laboratory. A total of 175 *Candida* species were isolated from different clinical species and identified using germ tube test, corn meal agar, API 20 C AUX and VITEK 2 Compact Systems. Antifungal susceptibility of these isolates was determined using ATB Fungus 3 micro dilution and VITEK 2 antifungal susceptibility cards. The comparison between these two methods was assessed.

The number and percentage of clinical samples from which *Candida* species isolated were: 114 (65.1) urine, 42 (24) blood, (4.6) sputum, 7 (4) endotracheal aspirate and 4 (2.3) wound. The number and percentage of isolated *Candida* species were 102 (58.2) *C. albicans*, 31 (17.6) *C. tropicalis*, 17 (9.6) *C. parapsilosis*, 13 (7.4) *C. glabrata*, 3 (1.8) *C. kefyr*, 3 (1.8) *C. krusei*, 2 (1.2) *C. lusitanae* and 1(0.6) *C. famata*. By VITEK 2 antifungal susceptibility cards, the overall resistant rates were 0.6 % to each of amphotericin B and fluocytosine, and 1.8% to fluconazole. While in

ATB Fungus 3, 1.8 % resistance to only fluconazole was observed. All isolates were uniformly susceptible to voriconazole in both methods. Statistically no significant difference was seen between these two methods. Regarding susceptibility of *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species, the latter was found to be slightly less susceptible than the former in both systems. Nevertheless, statistically no significant difference was seen between *Candida albicans* and non-*albicans Candida* strains.

On conclusion good information and data on distribution and susceptibility of *candida* strains were obtained. For our knowledge, this study is the first in our city. These data may be valuable from epidemiological point of view as well as in proper and optimal therapy of *Candida* infections in our region.

Key words: *Candida*, Antifungal susceptibility, VITEK 2 Compact System, ATB Fungus 3

1. GİRİŞ

Candida türleri doğada yaygın görülen mayalar olup cansız yüzeylerde, birçok bitkide, memelilerin ve kuşların sindirim kanalı normal florasında, insan mukoza ve derisinde yaşayan fırsatçı patojenler olup, esas olarak hastanede yatan immun sistemi zayıf hastalarda yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara yol açarlar (1).

Geniş etkili antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması, kanser tedavi yöntemleri ve organ transplantasyonlarındaki gelişmelerle birlikte birçok hastalığa bağlı mortalite ve morbidite önemli ölçüde azalmıştır. Ancak bu gelişmeler, daha çok girişimsel tıbbi işlemlerin uygulanmasını, protez ve intravasküler kateter gibi yabancı cisimlerin uzun süreli kullanımını gerektirmiştir. Sonuçta yaşam süresi uzayan, ama altında yatan ciddi hastalığı süren ve uygulanan tedavi yöntemleri nedeniyle immun sistemi ve diğer konakçı savunma mekanizmaları baskılanmış yeni bir hasta grubu ortaya çıkmıştır. Çoğu yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan bu hastalar enfeksiyon etkenlerine karşı daha duyarlı hale gelmiştir. Bakteriyel etkenler bu gruptaki hastalar için en önde gelen enfeksiyon etkeni ise de, özellikle son yirmi yılda fungal etkenler ile oluşan enfeksiyonlarda hızlı bir artış gözlenmiştir (2,3). *Candida* türleri, Amerika ve Avrupa'da nozokomiyal kan dolaşımı etkenleri arasında dördüncü sıraya yükselmiştir (4).

Doğada 220'den fazla *candida* türü bulunmasına rağmen ancak otuz kadarı insandan izole edilmiş olup bunlardan da dokuz tür insanda sık izole edilen patojenler olarak enfeksiyonların %90'ına neden olmaktadır. Tıbbi önemi olan *candida* türleri; *Candida albicans* (*C.albicans*), *Candida tropicalis* (*C.tropicalis*), *Candida glabrata*, (*C.glabrata*), *Candida parapsilosis* (*C.parapsilosis*), *Candida krusei* (*C.krusei*), *Candida lusitaniae* (*C.lusitaniae*), *Candida kefyr* (*C.kefyr*), *C.dublinsiensis* (*C.dublinsiensis*), *Candida guilliermondii* (*C.guilliermondii*) sıklıkla saptanan türlerdir (1).

C.albicans hemen hemen tüm kandidoz formlarından en sık izole edilen tür olmakla beraber non-*albicans* türlerin neden olduğu enfeksiyonların sayısı da giderek

artmaktadır (5, 6, 7).

Non-*albicans candidalar* 1990 yılı öncesinde diğer *candida* türleri arasında %10- 40 oranında saptanırken, 1990 sonrasında bu oran %35- 63'e ulaşmıştır (8). Non-*albicans candidalara* bağlı kandidemilerdeki artışın en önemli nedeni profilaktik ve ampirik olarak antifungallerin, özellikle azol türevi ilaçların kullanılmasıdır (9).

Azol türevi antifungallerin yoğun kullanımı *C. albicans* türlerinde dirençli suşların ortaya çıkmasına yol açarken, intrinsik olarak azollere daha az duyarlı (*C. glabrata*) veya dirençli (*C. krusei*) suşlarının artışına yol açmaktadır (10).

Kullanılan antifungallerin sayısının az olması, gelişen direnç sorunu ve invaziv mantar enfeksiyonlarında görülen yüksek morbidite ve mortalite, uygun ve etkin antifungal tedavinin seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine gereksinimi artırmaktadır (11).

Yapılan birçok çalışmada kandidemi etkenleri ülkeden ülkeye, aynı ülkede yıllar arasında, hastaneler arasında gerek insidansı gerek ise etken spektrumunun değiştiği bildirilmiştir (12). Bu nedenle bu enfeksiyonların iyi yönetilmesi için her merkezin yatmakta olan hastalarından izole ettiği suşlar için periyodik olarak duyarlılık paternlerini ve direnç oranlarını saptaması önerilmektedir. Böyle bir yaklaşımın epidemiyolojik çalışmalara yön verebileceği ve ampirik sağaltım seçiminin daha uygun olacağı öngörülmüştür (11,13).

Çalışmamızın amacı, Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarının identifikasyonu ve antifungal duyarlılık paternlerini belirleyerek hem hastanemizde uygulanacak antifungal tedavilere hem de epidemiyolojik çalışmalara katkıda bulunmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

İlk çağlardan itibaren mantarların deri, saç ve tırnağı hastalandırmaları eski hekimlerin dikkatlerini çekmiş olsalar da bunlar hakkındaki esaslı bilgiler, diğer birçok bilim dallarında olduğu gibi, 19. yüzyılda toplanmaya başlanmıştır (14).

Yunanca ‘mykes’ kelimesinden türetilen mikoloji ile ilgili ilk veriler Hippocrates ve Galen’in zamanlarına, muhtemelen pamukçuk olduğu düşünülen oral lezyonların tarif edilmiş olduğu yazılara kadar dayanır. Rosen von Rosenstein 1771’de pamukçuğun özellikle yenidoğanların hastalığı olduğunu açıklamış, Veron 1835 yılında yenidoğanların bu enfeksiyonu doğum kanalından geçtiği sırada aldıklarını ortaya koymuştur (15,16).

Langenbeck 1839’da, tifüslü bir hastanın ağızındaki pamukçuk lezyonundaki kazıntıda mantarı gözlemlemiş fakat gördüğü mantarı yanlış olarak tifüsün etkeni şeklinde algılamıştır. 1842 yılında Gruby tarafından pamukçuğun fungal nedenli olduğu tarifi gerçekleştirilmiş, 1853’te Robin organizmayı *Oidium albicans* olarak tanımlamıştır. *C. albicans* için bir dönem yüzden fazla sinonim mevcut olmakla birlikte, Zopf tarafından 1890’da önerilen *Monilia albicans* ismi geniş ölçüde kabul görmüştür. Berkhout 1923 yılında tıbbi *Monilia* türlerini, meyvaları çürüten ve çürümüş meyva ve yapraklarında bulunan mayalardan ayırarak psödohif geliştiren, askospor üretmeyen maya türlerini kapsayan *Candida* cinsini yeniden kurmuştur. 1954 yılında Paris’de toplanan 8. Botanik Kongresi’nde Berkhout’un kullandığı *Candida* adı kabul edilerek etkenin adı *Candida albicans* olarak belirlenmiştir (15,16,17,18).

Candida türlerinin başka organ hastalıklarına da sebep olduğu 20. yüzyılın başında tarif edilmiştir. 1907’de Jacobi dermatiti, 1910’da Rafin sistiti, 1912’de Castellani bronkoalveolar kandidiyazı, 1923’de Forbes kronik mukokutanöz

kandidiyazı ve 1928'de Conner osteomyelit olgularını bildirmişlerdir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımıyla birlikte 1940'lı yıllarda *candida* enfeksiyonunun önemi artmıştır (7,14,19).

Bu dönemden sonra, *candida* enfeksiyonlarının her çeşidinde patlama denebilecek nitelikte bir artış görülmüş, ayrıca daha önce görülmemiş klinik şekilleri ortaya çıkmaya başlamıştır (7).

Candida enfeksiyonlarının önlenmesinde organizasyon gerekliliği 1950'li yıllarda farkına varılmış olmasına rağmen ilk komiteler ancak 1970'li yıllarda ABD ve İngiltere'de kurulmaya başlanmıştır. Ocak 1970'de CDC (Center for Diseases Control and Prevention) ABD'deki ulusal hastane enfeksiyon verilerini prospektif olarak toplamak ve analiz etmek amacıyla NNIS (National Nosocomial Infection Surveillance) sistemini kurmuştur (20).

2.2. Mantarların Genel Özellikleri

Mantarlar, bitki ve hayvanlardan farklılık gösteren ayrı bir ökaryotik organizma grubunu oluştururlar. Mantar hücreleri kitin, glukan, mannan ve glikoproteinin çeşitli birleşimlerinden oluşan sert bir hücre duvarı ile kaplıdır. Bu özellikler mantarları, hücre duvarı olmayan hayvanlardan ve hücre duvarının esas içeriği selüloz olan bitkilerden ayırır. Diğer ökaryotik organizmalarda olduğu gibi, mantar hücrelerinin de bir zarla çevrelenmiş gerçek bir çekirdeği vardır ve hücre bölünmesi mayoz ve mitozla olur. Mantarlar klorofili olmayan heterofilik canlılardır ve bundan dolayı beslenmek için organik karbon içeren besinlere gereksinim duyarlar. Bu nedenle su, toprak ve çürümekte olan organik artıklarda bulunurlar. Dolayısı ile mantarların çoğunun doğal yaşam alanı dış ortamlardır. Mantarlar besin kaynağına veya besiyerine gömülerek yaşarlar ve besinlerini, dış ortama salgıladıkları enzimlerin etkisiyle açığa çıkan yararlı maddeleri hücre duvarı yoluyla sağlarlar (21,22, 23).

Mantarlar maya ve küf olmak üzere iki temel morfolojik yapıdadırlar. Maya formu mantarların tek hücreli gelişimini yansıtır. 3-15 µm çapta olup, yuvarlak veya elipsoit şekillidirler. Tomurcuklanma (blast formasyonu) veya ikiye bölünme ile çoğalırlar. Bir maya hücresinin bir veya birkaç noktasından tomurcuklanma olur, olgunlaşan yapı ana hücreden koparak yavru hücreyi oluşturur. Yavru hücreye

blastokonidyum denir. Bazı mayalarda oluşan blastokonidyumlar ana hücreden ayrılmadan ardı ardına uzar. Bir ana hücreden peşi sıra oluşan yavru hücrelerin oluşturduğu uzantıya yalancı hif (psödohif) denir (23, 24).

Küf formu çok hücreli, kalın, 2-10 µm çapta dallanan paralel duvarlı tüp benzeri hücre uzantıları olan hiflerden oluşur. Hif topluluğuna miçel denir. Besiyerlerinde türlere göre farklı renk ve görünüm oluştururlar (23).

Mantar türlerinin çoğunluğu sadece maya veya sadece küf olarak gelişirken; bazı tıbbi önemi olan mantarlar, dokuya yayılım gösterme sürecinin bir bölümünde üreme şekillerini değiştirirler. Dimorfik mantarlar olarak isimlendirilen bu türler doğal ortamlarda (25-30°C) çok hücreli küf formunda, insan vücudunda (37 °C) tek hücreli maya şekline dönüşüm gösterebilir. *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* ve *Sporothrix schenckii* en iyi bilinen dimorfik mantarlardandır (21, 23, 25).

2.3. Mantarlarda Üreme

Mantarlar eşeysiz (mitoz) ve/ veya eşeyli (mayoz) olmak üzere iki biçimde ürerler ve üreme biçimlerine göre sınıflandırılırlar. Sporları aracılığı ile çoğalan mantarlar aynı anda hem eşeyli hem de eşeysiz konidiyumlar oluşturabilirler (19,26).

2.3.1. Eşeysiz Üreme

Tek bir ana hücrenin mitoz bölünmesi ile oluşur. Eşeysiz üreme biçiminde vegetatif mantar hücresinde hacim ve kütlece bir artış söz konusudur. Hif sayısı artar, koloni büyür ve eşeysiz çoğalma özelliği gösteren yapılar (konidiyumlar) oluşur. Eşeysiz üremede dış ortam şartlarına daha dirençli olan spora gereksinim duyulur (26). Yapıları yönünden eşeysiz hücreler; sporangiosporlar ve konidiyumlar olmak üzere iki tiptedir;

2.3.1.1. Sporangiospor

Tıbbi önemi olan mantarlardan Zygomycetes sınıfı mantarlarda (*Rhizopus*,

Absidia) oluşan ve bölmesiz hiflerden köken alan sporangiyoforlar, içinde sporlar taşıyan kesecik şeklindeki eşeysiz yapıya sporangiyumlar ve sporangiyumun çatlaması ile açığa çıkan spora sporangiospor denir (26).

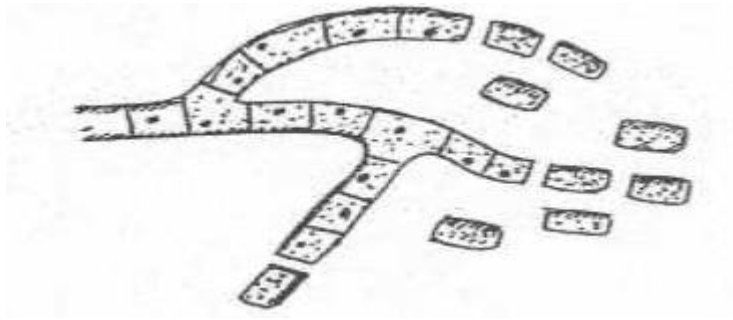
2.3.1.2. Konidiyum

Bir kese içinde bulunmayan *Aspergillus*, *Penicillium* türleri ve dermatofitlerde görülen eşeysiz üreme yapılarına konidiyum denir. Konidyogenez tallik ve blastik olmak üzere iki şekilde gerçekleşir (26).

a) Tallik konidiyumlar

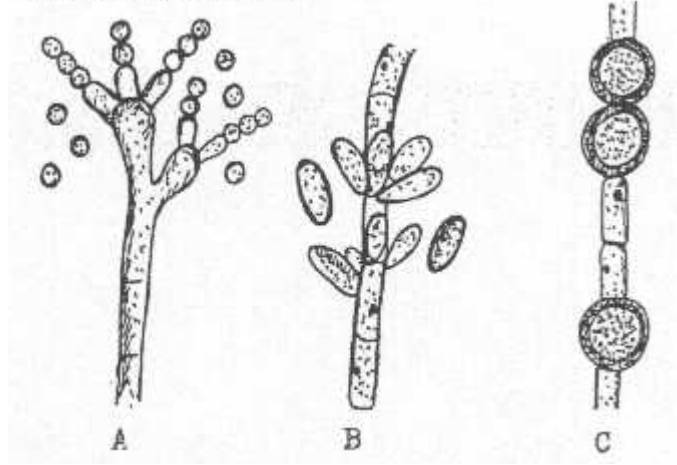
Bir hiften köken alan ve enine septumlarla tek hücreler haline dönüşen konidiyumlardır. Artrokonidiyum ve klamidokonidiyum (klamidospor) olarak ikiye ayrılır (26).

Artrokonidiyum: Tek hücreli bir konidiyumdur. Hif içindeki sitoplazmanın yoğunlaşması ve hif duvarının kalınlaşması ile oluşur. Olgunlaşan artrokonidiyumlar birbirinden ayrılırlar ve çevreye yayılırlar. En belirgin artrokonidiyum oluşumu *Coccidioides immitis* ve *Geotrichum candidum*'da görülür.



Şekil 1. Artrokonidiyum (27)

Klamidyokonidiyum: Bir hifin ucunda (terminal) veya arada (interkalar) tek hücreli, kalın duvarlı, oval geniş yapılara klamidyokonidiyum adı verilir. En belirgin olarak *Candida albicans*'ta görülür (26). Şekil 2 C



Şekil 2 A. Fiyalokonidyum B. Blastik konidyum C. Klamidyokonidyum (27)

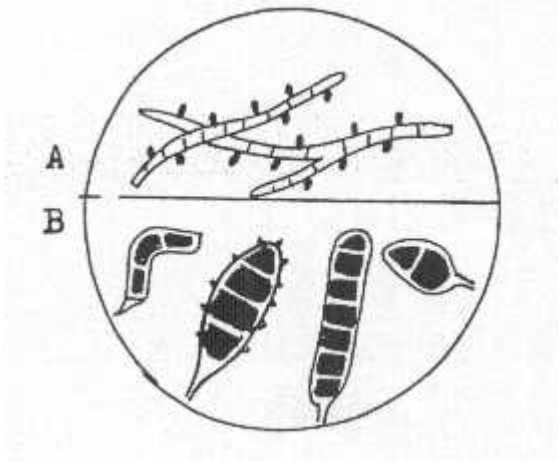
b) Blastik Konidyumlar

Mayalarda ve *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Scopulariopsis* gibi küflerde görülen eşeysiz konidyumlardır (26).

Blastik konidyum: Bir ana hücreden köken alan yalancı hifler ve hif boyunca tek tek veya kümeler yapacak biçimde dizilmiş blastikonidyumlar (Örnek: Mısır unu-Tween 80 agarda *Candida tropicalis*)(26). (şekil 2 B)

Fiyalokonidyum: Bir hiften kaynaklanan konidyofor; kesecik üzerinden tüm yönlerde uzanan tek ve çift sıralı fiyalatlar ve onların üzerindeki zincir şeklinde fiyalokonidyumlar (Örnek: *Aspergillus flavus*) (26). (Şekil 2 A)

Makro ve mikro-konidyumlar: Bir hif boyunca dizilmiş gözyaşı damlası biçiminde makrokonidyumlar ve uzun, ince duvarlı ve kalem biçiminde makrokonidyumlardan gelişen mikrokonidyumlar (Örnek: *Trichophyton rubrum*)(26).



Şekil 3. A. Mikrokonidyum B. Makrokonidyum (27)

2. 3. 2. Eşeyli Üreme

İki uyumlu mantar hücresi (haploid)'nin bir araya gelmesi (plazmogami), haploid nükleusların füzyonu (karyogami) ve sonra çekirdeğin bölünmesi (mayoz) ile oluşan haploid hücre oluşumu evrelerinin tümü eşeyli üremeyi oluşturur. Tıbbi önemi olan mantarlarda *zigospor*, *askospor*, ve *bazidiyospor* oluşumu ile sonuçlanan eşeyli üreme görülür (26).

2.3.2.1. Zigospor

Zygomycetes sınıfı mantarlarda (*Rhizopus*, *Absidia* türleri) görülür ve eşeyli üreme ile zigospor oluşur (26).

2.3.2.2. Askospor

Blastomyces dermatitidis, *Histoplazma capsulatum*, *Aspergillus* gibi mantarlarda askospor oluşumu ile sonuçlanan eşeyli üreme biçimidir. Bir araya gelen hifler farklılaşır keseye benzer yapılar (askus) içinde askospor olarak adlandırılan sporlar bulunur (26).

2.3.2.3. Bazidiyospor

Özelleşmiş bir hifin uç kısmının genişlemesi ile bazidiyum denen yapılar oluşur. Bu temel yapı üzerinde kısa bir sapla tutunan bazidiyospor adı verilen hücreler doğar. *Cryptococcus neoformans*'ın içinde yer aldığı Basidiyomycota sınıfı mantarlarda görülen eşeyli üreme biçimidir (26).

2.4. Mantarların Sınıflandırılması

Mantarlar ilk önce bitkiler içerisinde sınıflandırılmışlar ancak daha sonra hücre yapılarına göre canlıların beşinci alemi olarak kabul edilmiş ve üreme biçimleri, yapıları, yaşam döngüleri ve bazı fizyolojik özelliklerine göre sınıflandırılmışlardır. Mantarların isimlendirilmesi "International Code of Botanical Nomenclature" tarafından yürütülmektedir (21, 24, 26).

Yeryüzündeki mantarlar spor yapılarına, hif yapılarına, eşey özelliklerine göre 5 taksonomik sınıfa ayrılırlar. Bunlar Oomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes ve Deuteromycetes (Fungi Imperfecti) sınıflarıdır. Son dördü insanda hastalık oluşturan mantar cinslerini içerir. Tıbbi önemi olan mantarların ana gruplarını gösteren şema tablo 1'de gösterilmiştir (28).

Tablo 1. Mantarların Sınıflandırılması (28)

	Çoğalma		Örnek
	Eşeyssiz	Eşeyli	
<i>Zygomycetes</i>	Sporangiyospor oluşumu	Zigospor	<i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Absidia</i>
<i>Ascomycetes</i>	Konidya oluşumu	Askospor	<i>Saccharomyces</i> , <i>Trichophyton</i> , <i>Histoplazma</i> , bazı <i>Aspergillus</i> ve <i>Candida</i> türleri
<i>Basidiomycetes</i>	Bilinmiyor	Bazidyospor	<i>Cryptococcus</i>
<i>Deuteromycetes</i>	Konidya oluşumu	Bazı türlerde tanımlanmış	<i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i>

1987'de Berlin'de 14. Ulusal Botanik Kongresinde, Dixon ve Fromling tarafından yapılan fungus sınıflandırması esas alınarak, tıbbi önemi olan fungusların bu sınıflama içindeki yeri belirlenmiş ve *Candidalardan*; eşeyli üreme göstermeyen türler *Deuteromycota* bölümünde *Blastomycetes* sınıfının *Cryptococcales* takımında *Cryptococcoceae* ailesi içinde yer alır. Bu takım içinde *Candida* cinsi ile birlikte *Cryptococcus*, *Trichosporum* ve *Pityrosporum* cinsleri de bulunmaktadır. Eşeyli üreme gösteren türler *Ascomycotina* bölümü, *Ascomycetes* sınıfı, *Saccharomycetales* takımı içinde sınıflandırılmaktadır (1,25,29).

Eşeyli spor oluşturan *Candida* türlerinin bazıları *Clavispora*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Kuyveromyces*, *Pichia* gibi farklı türler olarak tanımlanmaktadır.

Tablo 2. Eşeyli spor oluşturan bazı *candida* türleri (30)

Telemorf	Anomorf
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>C. famata</i>
<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>C. krusei</i>
<i>Pichia guilliermondii</i>	<i>C. guilliermondii</i>
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>C. kefir</i>
<i>Pichia norvegensis</i>	<i>C. norvegensis</i>
<i>Pichia jadinii</i>	<i>C. utilis</i>
<i>Clavispora lusitaniae</i>	<i>C. lusitaniae</i>
<i>Pichia fermentans</i>	<i>C. lambica</i>
<i>Pichia (Hansenula) anomala</i>	<i>C. pelliculosa</i>
<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>

C. krusei, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* ve *C. kefir* gibi bir kaç tür hariç, klinik olarak önem taşıyan *candida* cinsi mayaların henüz çoğunun eşeyli (teleomorf) şeklinin bilinmemesi bu organizmaların sınıflandırılmasını güçleştirmektedir (30).

2.5. Candidaların Genel Özellikleri

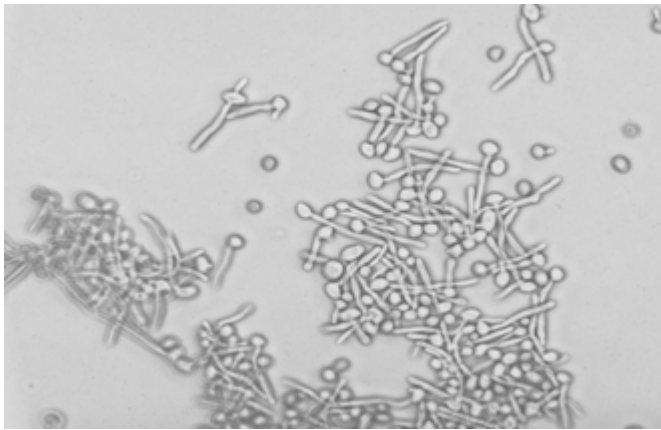
Candida türleri insanları etkileyen en yaygın fungal patojenlerdir. İnsan deri ve mukozasında normal florada bulunurlar. Doğum sırasında veya doğumdan kısa bir süre sonra yenidoğana bulaşarak söz konusu flora içerisindeki yerlerini alırlar. Normal bireylerin %30-50'sinin ağızında ve gastrointestinal kanalında yer alırlar. Bu organizmalar, bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında invaziv olmayan yüzeysel ve / veya derin dokuları tutan enfeksiyonlara neden olurlar (1,19,31).

Candida cinsinin içinde bulunduğu türlerin taksonomik ilişkileri tam tanımlanmamıştır. *Candida* cinsi içinde yaklaşık 220 tür olmasına rağmen tıbbi önemi olan *candida* türlerinin sayısı azdır. Bu durumun nedeni %65'nin insan vücut ısısında üreyememesidir. Bu nedenle *candidaların* çok az bir kısmı enfeksiyona neden

olmaktadır. *C.albicans* en sık soyutlanan tür olmakla birlikte *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr*, *C. dubliniensis*, *C.guilliermondii* sıklıkla saptanan türlerdir. Nadiren soyutlananlar ise *C. famata*, *C.utilis*, *C.inconspicua*, *C. lipolytica*, *C. rugosa*, *C. viswanathi*, *C. haemulonii*, *C.norvegensis*, *C. catenulata*, *C.intermedia*, *C.lambica* ve *C.zeylanoides*'tir. Bu sayı ve sıralama gün geçtikçe değişebilir (1).

Candida türleri, klinik örneklerde ve kültürlerinde, 3-6 µm büyüklüğünde oval veya yuvarlağımsı, tomurcuklanan hücreler (blastokonidyum veya blastosporlar) olarak görülen, maya şeklinde funguslardır. Ayrıca türlerin çoğu, yalancı hif (psödohif) de oluştururlar. Yalancı hif, arka arkaya tomurcuklanan blastokonidiyumların birbirinden ayrılmayıp uzayarak ve aralarında boğumlar oluşturarak yaptıkları bir hücreler zinciridir. Yalancı hif maya hücrelerinin çoğalma sırasında oluşturduğu bir ara formdur. *C. glabrata* hariç, tümü uygun koşullar altında yalancı hif üretir. Gerçek hif boğumlanma göstermez, duvarları birbirine paraleldir ve septa oluşturur (29,32,33). *C.albicans* 37°C'de in vitro olarak birkaç saat içinde çimlenme borusu üretimi ile maya formundan derin dokulara geçebilen agresif bir form olan hif fazına dönüşebilir (1).

Çimlenme borusu (germ tüp); bir blastokonidyanın kenarından başlayarak büyüyen, blastokonidyaya bağlanan bölgelerinde boğumlanma görülmeyen, silindirik filamentöz yapılardır (1).



Şekil 4. Germ Tüp Oluşumu

Candida türleri arasında *C. albicans* ve çok daha seyrek izole edilen *C. dubliniensis* ve *C. norvegensis* gerçek hifler de oluşturabilirler (19,37).

Candida türleri, SDA gibi rutin besiyerlerinde oda ısısında ve 37°C'de 24 saatte üreyip genellikle kirli beyaz veya krem renginde, tipik olarak maya kokan, düzgün yüzeyli veya göbekli ve uzayan inkübasyonla birlikte kıvrımlı hale gelen, mat ya da parlak koloniler oluşturur. Birkaç istisna dışında, *Candida* cinsi içindeki mayaların makroskopik ve mikroskopik özellikleri farklılık göstermez. Bakteri üretiminde kullanılan genel üretim besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler. Bu yüzden, genç kültürlerde, kolonileri bakteri kolonileri ile karışabilmektedir (38).

Türler arası morfolojik farklılıklar ancak, mısır unlu (corn meal) agar gibi özel besiyerlerinde saptanabilir. Kültür için alınan örnekler hem 26°C'de hem de 37°C'de ayrı ayrı inkübe edildiğinde 37°C'de üreyememe saprofitliği ortaya koyan bir özelliktir. Patojen *Candidaların* çoğu hem 26°C hem de 37°C'de ürerler. Mayaların üreyebilmesi için besiyeri ortamında glukoz, amonyum tuzu, fosfat, biotin, ve serbest metallerin (Fe, Zn, Ca gibi) bulunması, ortam pH'ının 2-8 arasında olması yeterlidir. Üretildikleri ortamda neme ihtiyaç duyarlar (%95-100) (19).

Gram ile boyandıklarında tüm *Candida* türleri gram olumludur. Maya elemanlarının örnekler içinde aranmasında potasyum hidroksit, kalkoflor beyazı floresan boyama kullanılır. Maya hücre duvarındaki kitin ve selüloza nonspesifik bağlanan kalkoflor beyazı floresan boyası yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir (24,31).

Candida türlerinin çoğu yaygın kullanılan mikolojik ve bakteriyolojik kültürlerde iyi ürerler. Tween 80'li mısır unlu agarda 25°C'da 72 saatte psödohif (bazen gerçek hif), septalarında yuvarlak blastokonidyal ve geniş kalın duvarlı terminal klamidosporeler oluştururlar. Klamidospor oluşumu 37°C'da inhibe olur (39).

C. albicans'ın Tween agarda klamidospore gelişmesini teşvik etmek amacıyla bir ekim yöntemi geliştirilmiştir. Yöntemin esası besiyerinin yüzey geriliminin de ayarlanmış olmasından yararlanılarak ekim iğnesi ile oluşturulan vakum sayesinde inokulumun, bir merkez noktası etrafına muntazam olarak dağılmasını sağlamaktır. Bu şekilde yapılan ekimlerde besiyerine muntazam dağılan kolonilerin periferlerinde iyi gelişmiş klamidosporeler üretilmektedir (40).

Candida türleri, SDA gibi rutin besiyerlerinde oluşturdukları kolonileri

ve mısır unu-Tween 80 gibi besinden fakir besiyerlerinde saptanan blastokonidyumlarının özellikleri ve blastokonidyumların yalancı hif boyunca dizilimlerine göre farklar gösterirler. Ancak türlerin kesin tanısı daha sonra yapılan şeker fermentasyon ve asimilasyon deneyleri ile konulur (19,41).

Maya mantarlarının tiplendirilmesinde, daha kısa sürede sonuç veren biyokimyasal ve enzimatik reaksiyonların değerlendirilmesine dayalı manuel ya da otomotize olarak kullanılabilen API 20C AUX, API *Candida* , RapID Yeast Plus, VITEK Yeast Biochemical Card gibi sistemler, antifungal duyarlılık için ATB Fungus, günümüzde rutin kullanıma girmeye başlamıştır (42).

Mantar kültürlerinde bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremesini baskılayarak seçicilik sağlamak üzere ilk izolasyon besiyerlerinin bileşimine sikloheksimid, gentamisin, kloramfenikol gibi antibiyotikler eklenebilir. Sikloheksimid bazı mantar türlerinin üremesini baskıladığı için sikloheksimid içermeyen besiyerlerine de ekim yapılması gerekmektedir (43).

2.5.1. Hücre ve Hücre Duvar Yapısı

Candida hücreleri ökaryotik olduklarından membranla çevrili gerçek bir çekirdek içerirler. Çekirdek içerisinde çekirdekçik ve lineer kromozomlar bulunur. Mantarların sitoplazmasında vakuoller, mikrotübüller, retiküler endotel mitokondriyumlar ve nükleus bulunur. Nükleus RNA'dan zengin nükleolus içerir (54). Mantar hücreesindeki mitokondri bitki ve hayvan hücrelerinde bulunanlara benzer ve sayısı hücrenin aktivitesine bağlı olarak değişir. Hücre sitoplazmasında, mantarın yaşamında önemli yer tutan ve turgor basıncına karşı koyan hücre iskeleti bulunur. Hücre iskeleti; mikrotübül, aktin ve miyozin komponentlerini içerir, hücre duvarı ve hücre membranı ile ilişkidir (44).

Candidaların hücre duvarı konak ile başlıca etkileşimden sorumlu yapıdır. Çeşitli moleküllerin iç ve dış ortamlar arasında geçişlerinde rolü vardır ve maya hücrelerinin değişik yüzeylere tutunmasında (adezyon) doğrudan görev alır. Ayrıca mantarın maya veya hif formunun karakteristik şeklinin korunmasından sorumludur ve hücreyi osmotik, kimyasal ve fiziksel hasarlara karşı korur (45,46,47).

C.albicans'ın hücre duvarı, hücrenin kuru ağırlığının yaklaşık %30'unu

oluşturur. Hücre duvarının ana bileşenleri (%80-90) karbonhidratlardır. Proteinler (%6-25) , lipidler (%1-7) ve kitin (%8.5-9) minör duvar bileşenleri olarak bulunurlar. Karbonhidratlar ise başlıca üç temel polisakkarit yapısında bulunur: 1) proteinlerle kovalent olarak bağlanmış mannoz veya mannan polimerleri (mannoproteinler) 2) β -1,3 ve β -1,6 bağları içeren dallanmış glukoz polimerleri olan β -glukanlar 3) β -1,4 bağları içeren, dallanmamış N-asetil-D-glukozamin (GlcNAc) polimerlerinden oluşan kitin (46,49,50).

Mikrofibriler polimerler olan β -glukanlar ve kitin, duvarın yapısal komponentleridir. Hücreye güçlü fiziksel özellikler sağlayan sert iskeleti oluştururlar. Miktar olarak β -glukanlar, hücre duvarı ağırlığının %47-60'ı olmak üzere ana bileşenlerdir. Kitin, küçük (%0.6-9) ama önemli bir komponenttir (46,49). Düşük kitin düzeyli mutantların, osmotik olarak hassas olduğu ve anormal morfoloji gösterdiği tespit edilmiştir (47). Öte yandan mannan, yapısal polimerler olan β -glukanlar ve kitinin içine gömüldükleri amorf matriksi ve hücre duvarı karbonhidratlarının %40'ını oluşturur. Bu karbonhidratlar içerisinde en önemlisi mannan olup, hücre duvarının majör antijenik komponentidir ve mannoprotein yapısında olan fimbriyaların epitelyal hücrelere bağlanmada rolleri vardır (46,49,50).

Elektron mikroskopik çalışmalara göre *Candidalar*ın hücre duvarı en az 5 katmanlıdır. Bu tabakaların sayısı ve kalınlığı, üreme formuna (maya veya hif), üreme ortamına ve suşa bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (48, 51,52).

Genel olarak glukan ve kitin hücre duvarının iç tabakasında yoğun görünmektedir. Tersine, protein ve mannoproteinler tüm duvar yapısında bulunmakla birlikte, hücre duvarının dış tabakasında daha baskın görünürler (47,49).

Birçok çalışma göstermiştir ki, hücre duvarının tabakalı yapısı, mannoproteinlerin hücre duvarı yapısında değişik düzeylerde bulunmasından kaynaklanmaktadır (49). Diğer bir deyişle, tabakalanma, hücre duvarı bileşenlerinin (β -glukan, kitin ve mannan) her tabakada niteliksel olarak değil, nicelik olarak farklı oranlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır (48,49).

Maya hücresi ve germ tüp (hif) hücre duvarı kompozisyon olarak benzerdir, bununla birlikte relatif miktarları morfolojiye bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (46,49). Örneğin, *C.albicans* hif hücre duvarında mayadakinin üç katı kitin bulunur (49,53).

Hücre membranı taşıdığı ozmoenzimler aracılığı ile moleküllerin iç ve dış ortama geçişinde rol alır. Kitin sentetaz gibi, duvar bileşenlerinin sentezinde rolü olan enzimler de membranda bulunurlar. Ayrıca *C. albicans*'ın morfogenezi (maya-hif dönüşümü ve hifal uçtan uzama) için gerekli olan sinyal iletiminde rol alan fosfolipaz C, adenilat siklaz, proteaz gibi enzimler de membranda yer alırlar. *Candidaların* hücre zarında; fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin ve fosfatidil inozitol gibi fosfolipidler bulunur (51).

Tüm mantarlarda olduğu gibi, *candidaların* da hücre membranında bulunan sterol, membran lipidlerinin %20'sini oluşturur. Mantar hücre zarı, kolesterol içeren insan hücre zarlarının aksine ergosterol ve zimosterol içerir (22).

Bu iki tabakalı hücre zarı sitoplazmayı korur, sıvıların alımını ve atılımını düzenler. Ayrıca hücre duvarı ve kapsül sentezini kolaylaştırır. Bazı mantarlarda hücrenin dış yüzünü kaplayan kapsül bulunabilir. Kapsül temel olarak amorfik polisakkaritlerden oluşur (23).

2.5.2. Tıbbi Öneme Sahip Bazı *Candida* Türleri

***Candida albicans*:** İki morfolojik test ile diğer *candida* türlerinden ayırt edilebilir.

1) Serumda 37°C'de iki-üç saatlik inkübasyon sonunda hücrelerden boğum oluşturmaksızın uzayan çimlenme boruları (germ tüp) veya gerçek hif oluştururlar. *C. albicans*'ı diğer *candidalardan* ayırdetmek için serumda kısa zamanda boru oluşturmaya dayanan yöntem ilk defa 1954 yılında Johnson tarafından izlenmiş, olayın *C. albicans*'ın ayırdedilmesi için bir yöntem olarak kullanılması daha sonraki çalışmalarla ortaya çıkmış (55). *C. tropicalis* de, çimlenme borusuna benzeyen uzamış yalancı hifimsi hücreler yapabilir. Çimlenme borusuna benzeyen bu borucuğun *C. tropicalis*'e ait maya hücresinden çıktığı yerde bir daralma görülür. Bu daralma durumu *C. albicans*'ın çimlenme borusunda görülmemektedir (45).

2) Mısırunu-Tween 80 agar gibi besince fakir bir ortam, maya hücrelerinin, iyi yedek besin depolayan klamidosporlar oluşturmaya yol açar. Klamidospor oluşurken hifin veya yalancı hifin bir yerinde, sitoplazma yoğunlaşır, burası hifin çapından daha

geniş olacak tarzda şişer ve duvarı kalınlaşır. Hiflerin içinde (ara klamidospore), kenarında (yan klamidospore) veya uçlarında (uç klamidospore) gelişebilen, büyük (8-12µm), yuvarlak ve kalın duvarlı bu oluşumlar, açlığa ve diğer değişik şartlara karşı canlılığını koruyabilecek bir uyum sağlarlar. Kalın duvarların polisakkarit (β 1:3 glukan)'den yapılmış bir dış tabakası, protein ve çok miktarda lipid taşıyan bir de iç tabakası vardır. Klamidosporelar *C. albicans*'ın en belirgin özelliğidir ve herhangi başka bir *candida* türü tarafından nadiren meydana getirilir. Bu bakımdan *C. albicans* ile diğer *candidalar*ın ayırılması faydalı olur. *C. tropicalis*'in de bazı kökenleri, özellikle de ilk ayrıldıkları sırada klamidosporelar yaparlar. Ancak bunlar *C. albicans*'a ait klamidosporelardan, bir destek (süspansör) hücrenin bulunmamasıyla farklılık gösterir ve daha sonra yapılan pasajlarda kaybolurlar. Buna karşılık klamidospore oluşumu *C. albicans*'da sabit bir olgudur. Ayrıca *C. tropicalis*'e ait klamidosporeların biçimi gözyaşı damlasına benzer ve bunlar daha ufak çapta oluşurlar (45).

Candida taksonomisindeki problemleri çözmek amacıyla moleküler teknikler devreye sokulmuştur (56,57). *C. albicans*'ın çimlenme borusu negatif mutanti olarak düşünülen *C. claussenii* ve klamidospore negatif mutanti olduğu düşünülen *C. langeronii* türleri *C. albicans* içinde sınıflandırılmıştır (40).

C. dubliniensis: Klamidospore üreten ve 1995'de ayrı bir *candida* türü olarak kabul edilen *C. dubliniensis*'in klamidosporelarının diğerinkilerden farklı olması önemli bir fenotip özelliğidir. *C. albicans* genellikle gerçek veya psödohiflerin ucunda tek tek klamidosporelar üretir. Buna karşın *C. dubliniensis*'inkiler çok daha bol ve çoğunlukla çiftler halinde veya üçlü hatta bazen psödohifin ucundaki aynı bir taşıyıcı (süspansör) hücreye yapışmış kalın duvarlı birkaç klamidospordan oluşan kümeler veya salkımlar oluşturularak olağan dışı düzen gösterirler (58).

C. dubliniensis'in normal sağlıklı bireylerin ağız florasında düşük bir insidansla (%3) bulunduğunu, ancak asemptomatik HIV+ bireylerdeki prevalansının (%19) ve asemptomatik AIDS'lilerdeki prevalansının (%25) anlamlı olarak yüksek olduğunu öne sürmüşlerdir (59). Bu mantarın yeryüzündeki geniş dağılımından başka, doğuştan normal ağız florasının üyelerinden olduğunu ve özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda fırsatçı kandidiyaz etkeni olduğunu gösterilmiştir. *C. dubliniensis*'in sukroz asimilasyonu pozitif, fakat *C. albicans* ve *C. stellatoidea*'de de olduğu gibi β -

glukozidaz aktivitesi yoktur. Moleküler ve fenotipik analizler sonucunda, *C. stellatoidea*'nin tamamen *C. albicans* serotip B'ye dahil olmasına karşın *C. dubliniensis* izolatlarının da tamamen *C. albicans* serotip A'ya dahil olduğu gösterilmiştir (60).

Türün *C. albicans*'dan fenotipik farkı olağanüstü bol klamidospore üretmesi ve 45°C'de gelişmemesidir. *C. dubliniensis* kökenleri *C. albicans* için uygun olan bütün kültür besiyerlerinde 30°C ve 37°C'de iyi gelişmektedir. Fakat *C. dubliniensis* kökenleri 42°C'de gelişmemekte veya 48 saat sonra zayıf gelişmekte, 45°C'de 24 saatte baskılanmakta, *C. albicans* ise bu sıcaklıklarda iyi gelişmektedir (58,61). Bu farkların hiçbirinin rutin hızlı ve kolay tanımlar sırasında ayırtılması olası olmadığından birçok *C. albicans* kökeninin yanlış tanımlanmış olduğu öne sürülmüştür. Kromojen substrat içeren (CHROMAgar *Candida*) ayırtıcı besiyerinde 37°C'de 2 günlük inkübasyondan sonra geliştirdikleri kolonilerin rengine göre iki türün ayrılması önerilmiştir; yapılan incelemelerde ancak *C. albicans*'ın koyu yeşil, *C. dubliniensis*'in açık yeşil renkte koloniler yaptığı; ancak bu fenotipik özelliğin yalnızca serotip A ile farklılık gösterdiği, serotip B ile farkı olmadığı da saptanmıştır. Buna karşın *C. dubliniensis*'in kesin tanımı için koloni renginin tek başına yeterli olmadığı çünkü *C. albicans*'ın açık, orta ve koyu yeşil kolonileri bulunduğu; ayrıca *C. dubliniensis*'in tip kökenin ve diğer iki atipik izolatın -70°C'de saklandıktan sonra bu özelliklerini kaybederek sadece açık yeşil renkte koloniler geliştirdikleri de bildirilmiştir (62).

***Candida tropicalis*:** SDA'da 25°C'de üç günlük inkübasyon sonunda ince bir pelikül oluştururlar. Teleomorfu, askosporları ile çoğalan *Pichia jadinii*'dir. Blastosporlar oluşturur. Bazen az sayıda klamidospore yapar (63). Gerçek hif de oluşturabilir. *C. tropicalis* sükrözü asimile eder ve bu özelliği ile, kendisine çok benzeyen ancak sükrözü asimile etmeyen *C. paratropicalis*'ten ayrılır (19,64).

***Candida parapsilosis*:** Mısır unlu agarda, üç günlük inkübasyon sonunda uzun, düzenli olarak dallanan ve "çam ormanını" andıran yalancı hifler oluşturur. Genellikle sikloheksimit duyarlıdır. *C. parapsilosis* L-arabinozü asimile etmesine

rağmen *C. tropicalis* etmez. Kataterle ilgili infeksiyonlarda, fungemilerde önemli etkenler arasındadır (63).

***Candida glabrata*:** En önemli karakteristik özelliği mısır unlu agarda hifa veya psödohifa görülmemesidir. İdrar yolu enfeksiyonlarında, yenidoğanlarda fungemilerde, immunkompremize konaklarda önemli etkenlerdendir. Sikloheksimite duyarlıdır. Azollere doza bağlı duyarlı veya dirençli olması önemli özelliklerindedir (19,64).

***Candida kefir (Candida pseudotropicalis)*:** Teleomorfü, askosporları ile çoğalan *Kluyveromces marxianus*'dur. SDA'da, 25°C'de, üç gün sonundaki kolonileri, diğer türlerinkine göre daha küçüktür. Mısır unlu agarda, yalancı hif ve yer yer 16 mikrometreye kadar uzamış blastosporlar oluşturur. Blastosporları ırmakta yüzen kütük dizileri şeklindedir (19,64).

***Candida krusei*:** SDA'da düz yüzeyle ve büyük koloniler oluşturur. Bir haftalık inkubasyon sonunda, uzayan blastosporların boyutu 25 mikrometreye ulaşır. Sabouraud buyyonunun yüzeyinde 25°C'de üç günlük inkubasyon sonunda kalın bir pellicül (zarımsı katman) oluşturur. Teleomorfü, askosporlarıyla çoğalan *Issatchenkia orientalis*'tir. Blastosporlar ağaca benzer bir dizilim gösterir (65). *C.krusei* sikloheksimide duyarlıdır, sadece glukozu asimile edebilir. Flukonazole dirençli olması önemli özelliğidir (19,64).

***Candida lusitaniae*:** Morfolojik olarak *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*'e benzer, sellobiyozu fermente etme ve ramnozu asimile etme özelliği ile bunlardan ayrılır (19,64).

***Candida stellatoidea*:** *C. albicans*'ın bazı yapı özellikleri; yalancı hif, blastospor, çimlenme borusu ve seyrek olarak klamidospore yapabilen *C. stellatoidea* da bazen görülebilir. Antijen yapıları bakımından da benzerlik gösterdiğinden *C. stellatoidea* bazı araştırmacılar tarafından *C.albicans*'ın virulan olmayan bir çeşidi olarak kabul edilir. *C. albicans* kökenleri antijence A ve B tipleri olarak farklıdır ve *C. albicans*'ın B tipi ile *C. stellatoidea* birbirinden ayrılamamaktadır. Morfoloji özellikleri

gibi biyokimyasal özellikleri *C. albicans*'a benzer, sukrozu fermente etmemesiyle ondan ayrılır (45).

Candida norvegensis: Teleomorfu, *Pichia norvegensis* adını alan ve askosporları ile çoğalan bir mayadır (65).

Candida guilliermondi: Teleomorf formu *Pichia guilliermondii* olarak adlandırılan ve askosporlarıyla çoğalan bir mayadır. Mısır unlu agarda, kökene bağlı olarak yalancı hif oluşumu çok fazla ya da çok seyrek olabilir. Blastosporlar kısa zincirler ya da kümeler halinde gözlenebilir (65). *C. guilliermondi* kolonileri bekledikçe pembeleşme özelliğine sahiptir ve göreceli olarak kısa psödohiflere sahiptir (19,64).

Candida türleri kendi aralarında biyokimyasal olarak; karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu, üre hidrolizi ve nitrat asimilasyonu ile değerlendirilir. Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin bazı kültürel, mikroskopik morfoloji ve biyokimyasal özellikleri Tablo 3'da özetlenmiştir (1).

Tablo 3. Mantarların mikroskopik morfoloji ve biyokimyasal özellikleri (1)

TÜRLER	Pseudo/ Gerçek hif	Klami- dospor	Germ tüp	Kapsül	ASİMİLASYON										FERMANTASYON					Üreaz	KNO	Asko- spor		
					D	M	S	L	G	M	S	İ	K	R	T	D	D	M	S				L	G
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	F	-	-	F	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	F	-	F	-	F	-	-	-
<i>Candida kefyr</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	F	-	F	F	F	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	+	-	-
<i>Candida lambica</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida lipolitica</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Candida lusitaniac</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	-	F	-	F	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida rugosa</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	F	F	-	F	-	-	-
<i>Candida zeynaloides</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Torulopsis glabrata</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Cryptococcus luteolus</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Cryptococcus terreus</i>	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Rhodotorula glutini</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Rhodotorula rubra</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiac</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	F	F	F	-	F	-	-	+
<i>Hansenula anomala</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	F	F	-	F	-	+	+
<i>Trichosporon beigeli</i>	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Geotricum candidum</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

D: Dekstroz, M: Maltoz, S:sukroz,L: Laktoz, G: Galaktoz, M*: Melibiyoz, S*: Selobiyoz, İ: İnozitol, K: Ksiloz, R: Rafinoz, T: Trehaloz, D*: Dulsitol

2. 5. 3. Antijenik Yapı

Candida albicans, hücre duvarında bulunan ve potent immünojen olan mannanın yapısal farklılıklarına göre A ve B olmak üzere iki serotipe ayrılır ve bunlar bağışıklığı sağlam bireylerde yaklaşık eşit dağılım gösterirler. Ancak bağışıklığı bozulmuş hastalarda serotip B'nin prevalansı daha yüksektir. Serotip B kökenleri, daha fazla karyotip varyabilitesi göstermeleri ve 5-florositozine karşı direnç geliştirmeye daha eğilimli olmaları ile, serotip A kökenlerinden fizyolojik olarak farklılık sergilerler (1,19). Bu iki serotipin, *C.albicans*'ın son zamanlarda tanımlanan ve coğrafik dağılım gösteren genetik soyları içinde nasıl bir dağılım gösterdikleri bilinmemektedir (66).

Candida tropicalis mannanı, serotip A'ya yakındır. *Candida albicans*'ta mannan dışında başka antijenler de saptanmıştır; bunlar arasında önemli olanları, salgısal proteazlar, enolaz ve ısı şok proteinleridir. Yaşam boyu *Candida* ile temastan ötürü, bireylerin çoğunluğunda, mantara karşı, hem serumda özgül antikorlar, hem de hücrel bağışıklık vardır (19).

2.6. *Candida* Enfeksiyonlarının Patogenezi

Sağlıklı kişilerde hastalık yapmayan, vücudun savunma mekanizması bir şekilde bozulmuş veya kesintiye uğramış kişilerde hastalık oluşturan mantarlara fırsatçı enfeksiyon yapan mantarlar adı verilir. *Candidalar* fırsatçı enfeksiyon yapan mantarlardır (38,68).

Candida enfeksiyonlarının oluşumunda konağa ve patojene ait faktörler arasındaki denge önemlidir. Konağa ait faktörleri, konağın direnç durumu ve predispozan faktörler olarak sınıflayabiliriz (23,67).

Normal bakteriyel flora, derinin ve gastrointestinal sistem mukozasının bütünlüğü ve hücrel immünite, *candida* enfeksiyonlarına karşı koruyan başlıca konak faktörleridir (68).

Hücrel immünite elemanları olan T lenfositler deri ve mukoza yüzeyindeki

candidaların sistemik enfeksiyon oluşturmasını engellerler. Bu yüzden *candidaların* enfeksiyon oluşturması için konak organizmada hazırlayıcı bir takım faktörlerin birlikte oluşması gerekir. Bu faktörler; uzun süreli antibiyotik kullanımı, hücre sel immün yetmezlikler, diabetes mellitus gibi kronik hastalıklar, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımı, immün sistemi bozan hastalıklar, nötropeni, organ transplantasyonu, gastrointestinal operasyonlar, gebelik, dengesiz beslenme, yaşlılık, malignite, uzun süreli kateterizasyon, ciddi yanıklar, intravenöz ilaç bağımlılığı, kemoterapi uygulaması vs. olarak sıralanabilir (38). *Candida* enfeksiyonlarının oluşumunda ve seyrinde önemli olan bazı predispozan faktörler tablo 4’de özetlenmiştir (69,70,71).

Tablo 4. İnvaziv Kandidozis İçin Risk Faktörleri

Erişkinde risk faktörleri	Yenidoğanlarda ek risk faktörleri
Yoğun bakımda kalma süresi	Düşük gestasyonel yaş
Geniş spektrumlu antibiyotik kullan.	Düşük Apgar skoru
Hemodiyaliz	H ₂ reseptör blokörleri
Santral venöz kateterler	şok
Ciddi hastalık	Gastrointestinal hastalık
Total parenteral beslenme	Konj.malformasyonlar
Gastrointestinal perforasyon ya da cerrahi	
Pankreatit	
Mekanik ventilasyon	
Birden çok kan transfüzyonu	
<i>Candida</i> türleri ile kolonizasyon	

Kolonizasyon orofarenks, mide, idrar veya trakeal aspiratlarda *Candida* türlerinin varlığı olarak tanımlanmaktadır (72, 73). *Candida* pozitif kültürlerin ardışık olarak 2 hafta devam etmesi durumunda ısrarcı kolonizasyondan bahsedilir (74).

Enfeksiyon ve kolonizasyon arasındaki ilişki kolonizasyon indeksi ile gösterilebilir. Kolonizasyon indeksi, kolonize olan vücut bölge sayısının bir hastadan alınan toplam örnek sayısına oranını göstermektedir (CI= kolonize vücut bölgesi sayısı / bir hastadan alınan toplam örnek sayısı). Kolonizasyon indeksi yüksek bulunan hastalarda daha sonra kandidemi geliştiği gösterilmiştir (75). Ayrıca kanser hastaları ve düşük doğum ağırlıklı yenidoğanların dışkıında yüksek yoğunlukta *Candida* türlerinin görülmesi de kandidemi için önemli bir risk faktörü olarak belirlenmiştir (71,76).

Kolonizasyon ve risk faktörlerinin birlikte kullanılması ile oluşturulan “*Candida* Skoru” ≥ 2.5 ise invaziv kandidoz için yüksek risk mevcuttur. *Candida* skorlaması tablo 5’de gösterilmiştir (74).

Tablo 5. *Candida* Skorlaması

Risk Faktörleri	Skorlama Puanı
Total parenteral beslenme	1
Cerrahi girişim	1
Multifokal <i>candida</i> kolonizasyonu	1
Ağır sepsis	2

**Candida* skorlaması için risk faktörleri ve puanlar

Kandidoz üç biçimde gerçekleşebilir;

1. Yerleşik floradaki bakteriler, besin maddelerini hızla tüketerek, çevre koşullarını *candidalar* için uygun olmayacak şekilde değiştirir veya toksik maddeler üreterek *candidaların* çoğalmasını engeller. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması sonucunda florada bulunan mantarlar sayıca artış gösterip kolonize olur ve sonrasında enfeksiyon meydana gelebilir (77).

2. Normal mukoza ve/veya cilt bariyerinin bozulduğu durumlarda gerçekleşebilir. Konak savunma mekanizmasında yüzeysel savunma yani sağlam deri bütünlüğü ilk savunma mekanizmalarındandır. Deri yaralanmasına neden olan olaylar sağlıklı bireylerde dahi kutanöz kandidoza neden olabilir. Yüzeysel kandidozlarda, *candida* deri ve mukoza bütünlüğünün bozulduğu bölgeden yalancı hifleri ile doku içerisine girer ve tomurcuklanma ile oluşan blastokonidyumları aracılığıyla dokuya yayılır

(19,77).

3. Başışıklık sisteminin baskılandığı, nütropeni gibi fagositer fonksiyonların bozulduğu derin veya sistemik kandidozlarda çoğu kez önce gastrointestinal sistemde kolonizasyon meydana gelir ve buradaki mukozayı geçerek kana ulaşan *candida*, fagositik etkinliği yetersiz olan hastalarda hemen hemen her organ ve sisteme yerleşebilir (19).

Dermisi invaze ederek sistemik dolaşıma katılan *Candidalar*; polimorfonükleer lökositler, monosit ve eozinofiller ile karşılaşılır. Bu hücreler blastokonidya ve yalancı hif formlarını fagosite etme yeteneğine sahiptir. Derideki keratinize doku, epidermal langerhans hücreleri, dermal dendritik hücreler, keratinositler ve mikrovasküler endotel hücreleri infeksiyondan korunmada görev alan yapılardır. Ek olarak trombositlerin de antikandidal aktivitesi bulunmaktadır (7).

Mantar hücre duvarı, mantara fiziksel koruma sağlar, onu kompleman aracılı lizis gibi konak savunmalarına karşı dirençli kılar. Doğumsal bağışık savunma, mantar hücre duvarı komponentlerini tanımak ve yanıt geliştirmek için, β -glukan reseptörü, mannoz reseptörleri ve toll-like reseptörleri (TLR) taşır (78).

Myeloperoksidaz, hidrojen peroksit ve süperoksit anyon sistemi fagositlerin *Candidaları* öldürmede kullandıkları başlıca mekanizmalardır. Ayrıca fagositler kimotripsin benzeri katyonik proteinler üretip membran geçirgenliğini arttırarak etki gösterirler. Oponizasyon, ısıya duyarlı ve dirençli serum opsoninleri, IgG ve kompleman sistemiyle olmaktadır. *Candida* hücreleri, özellikle de yalancı hif formları insan kompleman reseptörleri CR2 ve CR3 ile benzer yüzey molekülleri içermektedir (7).

Doğal bağışıklık, dissemine kandidoza karşı baskın olan koruyucu mekanizmadır. Kantitatif ve kalitatif olarak nütrofil ve monositlerdeki anormallikler sistemik kandidiyazisle birlikte dir. Lenfoma, lösemi, kronik granülo matöz hastalık ve nütropeni ile sonuçlanan yoğun kanser kemoterapisi alanlar, dissemine infeksiyon için artmış risk altındadırlar (78).

Fagositer hücreler tarafından salgılanan TNF- α , IL-1 ve IL-6 inflamatuvar yanıtı başlatarak mikrobisidal etkiyi arttırır. T lenfositler ise bu sürece çeşitli sitokinler salgılayarak etki ederler: Th1; IFN- γ ve TNF- α salgılayarak hücre sel bağışıklık yanıtını aktive ederken, Th2; IL-4 ve IL-10 salgılayarak antifungal yanıtı inhibe

eder. Bu nedenle *Candida* infeksiyonlarında Th1 ve Th2 arasındaki denge önemlidir (79).

Candidalara karşı hümmoral ve hüccresel bağışıklık yanıtı gelişmekle birlikte hüccresel bağışıklığın rolü daha büyüktür. Genel olarak yüzeysel deri infeksiyonlarında hüccresel bağışıklığın, sistemik infeksiyonlarda ise doğal direncin yanında hümmoral bağışıklığın öne çıktığı söylenebilir (7).

Candida enfeksiyonlarının patogeneğinde, belirtilen konak faktörlerinin yanı sıra; adezyon yeteneği, maya-hif dimorfizmi ve de asit proteinaz ve fosfolipaz aktivitesine sahip hidrolitik enzimlerin üretilmesi gibi mantara ait virülans faktörlerinin rolleri de çok önemlidir (37).

2.7. Virülans Faktörleri

Candida türlerinin virülans faktörleri; çimlenme borusu oluşturması, “slime” faktörü, ekstrasellüler matriks proteinlerine adezyonu sağlayan yüzeysel integrin benzeri moleküller, sideroforları kullanabilme özelliği, proteaz, fosfolipaz, hyalüronidaz, kondroitin fosfataz, kitinaz, esteraz ve lipaz enzimleri, endotoksin benzeri aktivite, morfolojik dimorfizm, antijenik çeşitlilik, fenotipik değişim ve hücre duvar bileşenleridir (1,80). Bu virülans faktörleri *candida* enfeksiyonlarının oluşmasında önemlidir. Ancak fırsatçı mantar infeksiyonlarında konağa ait faktörler daha ön plana çıkmaktadır (77).

2.7.1. Adezyon

Candidaların oral ve vaginal epitel hüccrelerine, fibronektine, endotele, trombosit fibrin pıhtılarına ve plastik materyale adezyonu patogeneğinde önemlidir (7,25).

Adezyon, hüccrelerin yüzeysel özellikleri ile ilişkilidir ve mukokutanöz kandidozun bu yapışma ile başladığı kabul edilmektedir. *Candidaların* mukoza epitel ve endotel hüccrelerine yapışması kolonizasyonun da ilk aşamasıdır. *Candidalar* içerisinde en sık görülen tür olan *C. albicans*'ın önemli özelliklerinin başında da mukoza yüzeysel yapışmayı sağlayan adezyon yeteneği gelir (81).

Adezyon karmaşık bir işlem olup birden fazla adezinin ve birden fazla bağlanma

mekanizmasının etkisi ile gerçekleşir. *Candidaların* adezinleri; integrin analogları, fibronektin reseptörü, adeziv mannopteinler (hücre duvarının en dışında mannopteinlerden oluşan radyal uzantılı fibriller), N-asetilglukozamin ve sialik asit gibi bağlayıcı yapılar vardır. Ayrıca mantarlar konakta bulunan serum proteinleri (serum albumin, fibrinojen, komplemanın C3 kısmı) ve hücre dışı matriks proteinlerini (laminin, fibronektin, kollajen, entaktin ve vitronektin) de tanır (77). Karbon kaynağı olarak yüksek konsantrasyonda şeker, özellikle galaktoz içeren ortamlarda üreyen *C. albicans* kökenlerinin epitelyum hücrelerine daha iyi bağlandığı ve bu kökenlerin daha virulan olduğu gösterilmiştir (50).

2.7.2. Slime Faktör ve Biyofilm Oluşturma

Slime faktörü ilk kez 1982'de Christensen tarafından *Staphylococcus epidermidis* için tanımlanmıştır (81). Slime, visköz, ekstrasellüler bir madde olup, mikroorganizmanın plastik yüzeylere yapışmasında ve prostetik materyallerde kolonizasyon oluşturmasında görev alır ve *candidalar* tarafından da oluşturulduğu gösterilmiştir. Tıbbi gereçlerin implantasyonundan sonra ilk olay, tükürük, mukus, serum veya kan gibi gereci çevreleyen farklı vücut sıvılarındaki çeşitli makromoleküllerin (fibrinojen, fibronektin, kollajen ve laminin vb.) yüzey üzerinde birikerek "conditioning film- hazırlayıcı film" oluşturmalarıdır. Mikroorganizmalar genellikle çıplak gerecin yüzeyine değil, bu film tabakasına tutunurlar. İlk adezyon geri dönüşümlü gevşek bir tutunma tarzındadır. Bu, ekzopolimer üretimi ile sıkı bir tutunmaya dönüşür. Ekzopolimerler, makromoleküllerin oluşturduğu film tabakasını saran slime (glikokaliks) tabakasını oluşturur. Mikroorganizmalar, bu slime tabakası içinde çoğalarak ve ekstrasellüler matriks salgılamaya devam ederek kalın bir film tabakasına yol açarlar, buna biyofilm denir (82, 83).

Candida türlerinin yabancı cisimlere slime faktörü aracılığı ile tutunması sonucunda hem sürekli bir enfeksiyon odağı gibi rol oynaması hem de vücudun savunma mekanizmalarından ve antifungal tedavinin etkisinden kurtulabilmesi nozokomiyal mantar enfeksiyonları açısından önemli bir durumdur (84).

Olgun biyofilmin yaklaşık %15'i hücrelerden, %85'i ise matriks materyalinden oluşur. Biyofilm matriksinin yapısında, oranları *candida* türüne göre farklılık

göstermekle birlikte, karbonhidrat, protein, heksozamin, fosfor ve üronik asit bulunur (85).

Candida türlerinin nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan ana etkenler arasında sıklığı artmakta olup, enfeksiyonlarından çoğunlukla implante gereçler sorumludur ve gerecin yüzeyinde biyofilm saptanabilmektedir (83).

Candida enfeksiyonlarıyla kuvvetle ilişkili bulunan tıbbi gereçler, santral venöz kateterler (SVK), üriner kateterler, endotrakeal tüpler, periton diyaliz kateterleri, yapay kalp kapakçıkları, pacemaker, eklem protezleri, ventriküloperitoneal şantlar, vasküler bypass greftleri, oküler lensler, kırık fiksasyon aletleri olarak sayılabilir (86).

Farklı *Candida* türlerinin, hatta farklı *C. albicans* suşlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri farklıdır. Bununla birlikte, biyofilm oluşumu ile en çok ilişkilendirilen tür *C. albicans* olmakla birlikte, *C.parapsilosis*, *C.glabrata* ve *C.kefyr*'in de *slime* ürettiği saptanmıştır (87).

Ortamdaki artmış glukoz miktarının biyofilm oluşumunu hızlandırdığı görülmüştür. Özellikle intravenöz hiperalbuminasyon uygulanan hastalarda *C.parapsilosis*'in SVK'e kolonize olma kapasitesinin artmasıyla, kateter enfeksiyonlarına yol açması buna örnektir. Hafif akımın olduğu ortamlarda (dolaşım ve üriner sistem gibi) statik ortamlara kıyasla biyofilm oluşumu daha fazladır. Ayrıca, yüzeyin kimyasal yapısı biyofilm oluşum hızını etkilemektedir. PVC'ye kıyasla lateks yüzeylerde daha fazla, poliüretan ve %100 silikon da ise azalmış olarak saptanmıştır (83).

Birçok çalışma *candida* biyofilmlerinin klinik olarak önemli antifungaller olan amfoterisin B, flukonazol, flusitozin, itrakonazol, ketokonazol, nistatin, terbinafin ve yeni azollere (vorikonazol ve ravukonazol) dirençli olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte amfoterisin B (AMB)'nin lipid formülasyonları (lipozomal AMB ve AMB lipid kompleks) ve ekinokandinler (kaspofungin ve mikafungin) biyofilme karşı etkili bulunmuştur (83,88).

2.7.3. Siderofor Üretimi

Candida türlerinin bir diğer virülans faktörü sideroforları kullanma yeteneğidir. Mantarlar üremeleri için demire ihtiyaç duyarlar. Demir eksikliği durumunda, demir

şelatörü olarak bilinen düşük molekül ağırlıklı sideroforları üretirler. Böylece patojenik özelliklerini arttırmış olurlar (89).

2.7.4. Sekretuvar Aspartik Proteinaz (Sap)

Candida türleri dokulara yayılmalarını kolaylaştıran enzimler salgırlar. Bu enzimlerden proteinaz ve fosfolipazın patojenitede önemi fazladır. İlk olarak Staib ve arkadaşları tarafından saptanan hücre dışı proteazı, moleküler yöntemlerin kullanılmaya başlanması ile araştırılmış ve sekretuvar aspartik proteinazı (Sap) salgılanmasının on üyeden oluşan SAP adı verilen bir gen ailesi tarafından kontrol edildiği ortaya konmuştur. SAP gen ailesinin *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis* ve *C.dublinskiensis* gibi patojen türlerde bulunması, *Saccharomyces cerevisiae* gibi patojen olmayan mayalarda bulunmaması patojenite ile ilgisini göstermektedir (90).

AIDS hastalarının tedavisinde kullanılan HIV- proteaz inhibitörlerinin, Sap enzimlerini inhibe ederek, *C. albicans*'ın adezyonunu azalttığı gösterilmesi ve bu tedaviyi alan AIDS hastalarında orofaringeal kandidoza daha az rastlanması, Sap enzimlerinin önemini vurgulamaktadır (91).

Yapılan bir başka çalışmada, semptomatik AIDS hastalarının oral kavitelelerinden elde edilen *C.albicans* izolatlarının salgıladığı aspartik proteinazın, sağlıklı kişilerden elde edilen izolatların salgıladığı miktardan sekiz kat daha fazla olduğu bulunmuştur (92).

Sap enziminin temel işlevlerinden biri, konak proteinlerini parçalayarak nitrojen sağlamaktır. Bu enzimlerin konak hücre yüzey yapılarını ve hücreler arası yapıları parçalayarak mikroorganizmanın adezyon ile invazyonunda ve konak immun sistem hücrelerini parçalayarak konak savunmasından çıkışında rol aldığı bildirilmektedir. Keratin, kollojen, laminin, fibronektin, müsin gibi hücre dışı ve hücre yüzey proteinlerinin; laktoferrin, α -makroglobulin makrofaj enzimleri gibi konak savunma proteinlerinin ve immunglobulinlerin özellikle Sap 2 enzimi tarafından parçalandığı belirtilmektedir (80,91).

2.7.5. Fosfolipaz

Dokulara yayılmayı kolaylaştıran bir diğer enzim olan fosfolipaz, konak hücre zarındaki fosfolipitleri hidrolize ederek hücreye zarar verir. Fosfolipaz aktivitesi en çok *C. albicans*'ta görülmekle birlikte, *C.glabrata*, *C. parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C. lusitaniae* ve *C. krusei* türlerinde de saptanmıştır (93).

2. 7. 6. Diğer Enzimler

Candida türlerinde proteinaz ve fosfolipaz başta olmak üzere, hyalüronidaz, kondroitin fosfataz, kitinaz, esteraz, glukoamilaz, lipaz ve çeşitli glukolitik enzimler dokuya invazyonda rol alan önemli virülans faktörleridir (94,95).

2. 7. 7. Çimlenme Borusu (Germ Tüp)

İnfekte dokularda *C. albicans*'ın hem maya hem de miçelli şekli bulunsa da, hif şeklinin aktif semptomlu infeksiyonlarla ilişkili olduğu, saprofit *C. albicans*'ın hemen daima maya şeklinde olduğu, çimlenmekte olan miçelli hücrelerin daha virülanslı oldukları da belirtilmiştir. Çimlenme borusu oluşturan hücrelerin dokuya blastosporlardan 50 kez daha fazla yapıştıkları gösterilmiştir (81). Bu morfolojik değişim yeteneği *candida* türlerine avantaj sağlamaktadır. *C.albicans*'ın hücre yüzey antijenlerinde değişiklik oluşması da virülansında önemli rol oynar. Nötrofillerin *C.albicans* blastosporlarını fagosite etme yeteneği germ tüp ve uzun hiflere göre daha iyidir (77).

2. 7. 8. Toksinler

C. albicans 'ın maya fazında endotoksin benzeri maddeler ve hemolizin ürettiği gösterilmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı toksinler; glikoprotein toksinler ve kanditoksindir. Glikoprotein toksinler, toksik bileşik olarak glikoz, mannoz gibi karbonhidratlar ve protein içeren maddelerdir (94).

2. 8. Epidemiyoloji

Candida türlerinin insan florasındaki yerleşim ve dağılımı değişik özellikler gösterir. Deri florasında *C. albicans* sık bulunmaz (%2). Daha çok nemli kat yerlerinde olmak üzere *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* ve daha az sıklıkta *C. tropicalis* ve *C. krusei*'ye rastlanır. Sıkı giyim ve lokal antibiyotik kullanımı *Candida* kolonizasyonunu artırır. *C. albicans*'ın deride bulunabildiği yerler daha çok ağız çevresi, anorektal bölge gibi mukokutanöz birleşme yerleri ve parmak aralarıdır. Sindirim sistemindeki *Candidalar*ın sayısı üzerinde diyet, sindirim sistemi bakteri florası ve laktik asitin denetleyici etkisi vardır. *Candida* türlerinin en önemli kaynağı sindirim sistemi olup sağlıklı bireylerin ağızda %30, jejunum ve ileumda %55, dışkılarında %60 oranında *Candida* türlerine rastlanır. Ağız florasında en çok bulunan tür *C. albicans* (%75) olup bunu *C. tropicalis* (%8), *C. krusei* (%3-6) ve *C. glabrata* (%2-6) izler. Oral *candida* kolonizasyonu, ağız hijyeninin bozulması, diyabetik hastalarda, takma diş kullananlarda, sigara içilmesi durumlarında, kanser hastalarında ve HIV pozitif olgularda artış gösterir. HIV pozitif hastalarda non-*albicans candidalar* da (%21) yüksek oranda görülmektedir (96). Geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süre kullanılması gastrointestinal kolonizasyonu artırır.(75). Gebe olmayan kadınların %5-11'inde, gebe olmayan ve vaginal akıntısı olan kadınların %18'inde, oral kontraseptif kullanan kadınların %20-30'unda ve gebe kadınların %30'unda vaginal *candida* kolonizasyonu vardır. Başta *C. albicans* olmak üzere sıklık sırasına göre *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* izole edilir (97).

Nozokomiyal *candida* enfeksiyonları, kişinin kendi oral veya sindirim sistemindeki maya florasının aşırı üremesi sonucu meydana gelir ve bu da temel mekanizmayı oluşturur. Tüm nozokomiyal fungal enfeksiyonlar içinde *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlar %80 oranında bildirilmektedir ve kan kültürlerinden izole edilen en sık dördüncü etken olarak gösterilmektedir (98, 99).

Nozokomiyal *candida* enfeksiyonlarında son yıllarda görülen artıştan bir takım faktörler sorumlu tutulmuştur. Kanser, diyabet ve AIDS gibi hastalıklar nedeni ile bağışıklık sistemi baskılanmış hasta popülasyonunun artması en önemli nedenlerden birisidir. Sitotoksik kemoterapötik ajanların ve geniş etki spektrumu olan antibiyotiklerin yaygın kullanımı, yoğun bakım ünitelerindeki yaşam destekleyici

sistemlerin giderek artması diğer faktörler arasında sayılabilir (100).

Karın içi cerrahi işlemler de kandidiyazis açısından risk faktörüdür. Buradaki mekanizmanın geniş etki spektrumlu antibiyotik kullanımı ile gastrointestinal ve kütanöz bakteriyel floranın azalıp *candida* florasının artması ve cerrahi işlemin de penetrasyonda ve yayılımında kolaylaştırıcı olduğu düşünülmektedir (70,101). Diğer risk faktörleri arasında santral venöz kateter kullanımı, yoğun bakımda uzun süreli yatış, mekanik ventilasyon, hemodiyaliz, nötropeni, idrar kateteri varlığı ve parenteral beslenme sayılabilir (70,102).

Non-albicans candida sıklığı 1990'lardan itibaren artış göstermeye başlamıştır. Bu artıştan azol grubu ilaçların kullanıma girmesi sorumlu tutulmuştur. Öncesinde azol grubu ilaçla tedavi gören veya azol profilaksisi alan kişilerde *C.albicans* enfeksiyonlarında nisbi azalma görülürken *C.krusei* ve *C.glabrata* enfeksiyonlarında artış görülmüştür (103,104).

Flukonazole olan doğal direnci nedeni ile *C.krusei* özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan merkezlerde sorun oluşturmaktadır. Bu türe bağlı enfeksiyonlar en sık nötropenik kanser hastalarında görülüp bunlar içinde lösemiler ilk sırayı almaktadır. Bazı *candida* türleri bazı klinik sendromlar ile ilişkili bulunmuştur. Örneğin *C.albicans* ve *C.tropicalis*'in lösemili, *C.krusei* ve *C.lusitaniae*'nin kemik iliği transplantasyonlu hastalarda daha sık enfeksiyon oluşturduğu gösterilmiştir (105).

2. 9. *Candida* Türlerinin Klinik Önemi ve Yaptığı Enfeksiyonlar

Candidalar fırsatçı patojenler olarak çevresel ve bireysel koşulların konak aleyhine geliştiği durumlarda hafif yüzeysel enfeksiyonlardan ağır sistemik enfeksiyonlara kadar çeşitli klinik tablolara yol açabilirler. Fizyolojik koşulların değişmesi (aşırı terleme, vajende pH değişikliği vb.), hormonal denge değişimleri, kortikosteroid gibi immün sistemi baskılayıcı ilaçların kullanımı, kanser veya AIDS gibi immün yetmezliğe yol açan hastalıklar *candida* enfeksiyonlarının gelişimini kolaylaştırır (7,106,107).

Yüzeysel enfeksiyonlar daha çok toplum kökenli enfeksiyonlar olduğu halde, derin yerleşimli sistemik enfeksiyonlar en sık yoğun bakım ünitelerinde olmakla birlikte hastanede diğer servislerde yatan hastalarda da sık görülmektedir (107).

2. 9. 1. Yüzeyel Kandidozlar

2. 9. 1. 1. *Candida* Dermatiti

Candida türlerine bağlı gelişen deri enfeksiyonları sık görülür ve değişik klinik tablolarla ortaya çıkabilir. İntertrigo, paronişi, özellikle HIV ile enfekte hastalarda gelişen *candida* onikomikozu, bebeklerde alt bezi ile temas eden bölgelerde oluşan deri lezyonları, en sık oluşan deri enfeksiyonları olup, diğer deri tutulumları arasında, folikülit, balanit, perianal kandidiyazis ve generalize kutanöz erüpsiyonlar sayılabilir (68).

2. 9. 1. 2. Ağız Kandidozu

Farklı klinik tablolar oluşabilir. Pamukçuk (Akut pseudomembranöz kandidiyazis) en çok süt emen bebeklerde ve yaşlılarda görülür. Bunun dışında CD4⁺ hücre sayısı <400 hücre/ olan HIV (+) hastalarda, kanserlilerde ve steroid inhaler kullananlarda ortaya çıkabilir. En sık *C.albicans* ve *C.dublinsiensis* tarafından oluşturulur. Kandidozun mukokütanöz şekilleri çoğu kez hücresel bağışıklık defektlerine, sistemik yayılım ise genellikle nötropeniye bağlıdır (7,37).

Akut atrofik kandidoz, kronik atrofik kandidoz, angular cheilitis, *candida* lökoplakisi diğer klinik formlardır (108).

2. 9. 1. 3. *Candida* Özofajiti

Oral kandidoz ile birlikte veya ondan bağımsız olarak oluşabilir. Özofagusta gelişen *candida* enfeksiyonu, sıklıkla malignite tedavisi ve AIDS ile ilişkilidir (108).

2. 9. 1. 4. *Candida* Vajiniti

Kadınların %75'inin yaşamları boyunca en az bir kez *candida* vulvovajiniti geçirdikleri belirtilmektedir (7,37). Olguların %80'inden *C.albicans* sorumludur.

Diabetes mellitus, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve gebelik en önemli risk faktörleridir (108).

2. 9. 1. 5. Kronik Mukokutanöz Kandidoz (KMK)

Genellikle erken çocukluk döneminde ortaya çıkan, deri ve mukozalarda yaygın lezyonlarla karakterize ender görülen hastalık tablosudur. T lenfositlerin *Candida* türlerine yetersiz bir yanıtı söz konusudur. Bu hastalarda şiddetli seyreden ve sürekli bulunan mukokutanöz *Candida* lezyonları vardır ve buna yaygın tırnak tutulumu ve vaginit de eşlik eder. Lezyonlar şekilsiz bir granümatöz görünüm alacak kadar irileşebilir (108).

2. 9. 2. Derin (Sistemik) Kandidozlar:

Derin/sistemik kandidoz, kandidemiye izler. Konak savunmasının normal olduğu durumlarda, kandidemi geçici olup vücut kısa sürede mantarı uzaklaştırır. Buna karşılık yetersiz fagositik etkinlik durumlarında *candida* kandan uzaklaştırılmaz, mantar kanda çoğalıp herhangi bir organ veya sisteme yerleşerek infeksiyon odakları oluşturur. En sık tutulan organlar; böbrekler, deri, göz, kalp, karaciğer, dalak ve beyin zarlarıdır (19).

Sistemik kandidoz en sık uzun süreli kortikosteroid veya başka immünosüpresif ilaç kullanan; lösemi, lenfoma ve aplastik anemi gibi hematolojik hastalıkları olan ve kronik granümatöz hastalıklı kişilerde görülür (19).

2.9.2.1 Kandidemi:

Kandidemi, klinik olarak enfeksiyonun belirti ve bulguları olan hastada en az bir kan kültüründe bir *Candida* türünün izole edilmesidir. Genel durumu düşkün, üremik veya kortikosteroid tedavisi alan hastalarda klinik belirti ve bulgu olmadan da kandan bir *Candida* türünün izole edilmesi anlamlı kabul edilmelidir (69).

Candida enfeksiyonları nozokomiyal enfeksiyonlar içerisinde dördüncü, YBÜ'lerde üçüncü sırada yer almaktadır. YBÜ'lerindeki *Candida* enfeksiyonu

görülme sıklığı dahili ve cerrahi kliniklere göre 10 kat daha fazladır (111).

Kandidemi için 1 yaş altı ve 65 yaş üstü hasta grubunun, kanser hastalarının, diyabet hastalarının ve santral venöz kateter (SVK) taşıyan hastaların daha fazla risk altında olduğu belirlenmiştir. *Candidaların* kan dolaşımına ulaşmaları başlıca gastrointestinal sistem (GİS) mukozasından, damar içi kateterler yoluyla veya pyelonefrit gibi lokalize enfeksiyon odağından olmaktadır (109). Bunların içinde en önemli giriş kapısı GİS'tir. Hastanede yatan hastada, hücresel bağışıklığı baskılayan bir enfeksiyon veya travma ile birlikte geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, mukozal yüzeylerde *candidanın* aşırı çoğalmasına neden olur. Daha sonra nötrofil migrasyonu ve mikrobisidal aktivitesinin baskılanması ve GİS mukozasının bütünlüğünün bozulması, enfeksiyonun yayılımıyla sonuçlanır (109,110,112).

Özellikle SVK'li hastalarda, *candidanın* damar içi kateter yüzeyinde kolonizasyonu da kan dolaşımına önemli bir geçiş yoludur. İmmün sistemi baskılanmış ve yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar kandidemi yönünden en riskli iki hasta grubunu oluşturur (109).

Nozokomiyal kandidemili hastalarda yapılan bir çalışmada en güçlü risk faktörü olarak uygulanan antibiyotik sayısı saptanmıştır. Üçten fazla antibiyotik alanlarda kandidemi riski hiç antibiyotik almayan veya en fazla iki antibiyotik alanlara göre 12.5 kat yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada kandan başka vücut bölgelerinden *candida* izole edilmesi, hemodiyaliz ve "Hickmann" kateteri diğer anlamlı risk faktörleri olarak saptanmıştır (110). *Candida* türleriyle gelişen nozokomiyal fungeminin hastanede yatış süresini ortalama 30 gün uzattığı ve tek başına %38 mortaliteye neden olduğu gösterilmiştir (113).

C. albicans kandidemi etyolojisinde en sık etkindir. İkinci sırada görülen türler değişiklik göstermekle beraber ABD'de *C. glabrata*, Avrupa'da *C. tropicalis* veya *C. parapsilosis* etken olmaktadır. *C. tropicalis* kandidemileri daha çok nötropenisi ve mukoziti olan, özellikle flukonazol profilaksisi almamış olan hastalarda görülmektedir. *C. glabrata* flukonazolün profilakside kullanıldığı hastalarda ve yaşlılarda artan sıklıkta görülmekte ve bu türe bağlı enfeksiyonlar daha ağır ve ölümcül seyretmektedir. *C. parapsilosis* daha çok deri ve mukozadan kaynaklanan kandidemiye yol açmaktadır. *C. krusei*'ye bağlı kandidemiler daha çok hematolojik malignitesi olanlarda ve/veya kemik iliği ve kan alıcılarında, özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan

hastalarda görülür (109).

Kandidemi tedavisinde, izole edilen *candida* türü antifungal ilacın seçimi yönünden yol gösterici olmakla birlikte, zaman içinde direnç geliştirebileceğinden antifungal duyarlılık testlerine duyulan ihtiyaç giderek artmaktadır. Tedavinin geç başlaması, etkenin dirençli olması, dozun ve tedavi süresinin uygun olmayışı kandidemilerde ölüm riskini arttıran faktörlerdendir (109).

2. 9. 2. 2. Santral Sinir Sistem Kandidozu

Santral sinir sistem kandidozu, hematojen hastalığa sekonder olarak gelişebileceği gibi nöroşirürji girişimleri ve ventriküloperitoneal şantlar ile de ilişkili olabilir. Bu tablo bakteri menenjitini taklit edebilir (108).

2.9.2.3. Solunum Sistemi Kandidozu

Candida solunum sistemini mukozal membranın kolonizasyonu, derin dokuların invazyonu yoluyla etkileyebilir. Kanser veya HIV enfeksiyonu için immunosupresif tedavi alan hastalarda, yaygın oral kandidiyazis ve laringoskopide vokal kordlarda plaklar gösterilmiştir (114).

*Candida*ya bağlı pnömoni ağır bir enfeksiyondur, başlıca immunsuprese hastaları etkiler ve sıklıkla fatal sonuçludur. Pnömoni genellikle hematojen yayılıma sekonder gelişir. Fakat kanserli hastalarda yalnızca akciğerlere sınırlı primer *Candida* pnömonili olgular bildirilmiştir (115).

Yaşamın ilk ayında pulmoner kandidiyazis insidansının %8.6 ve doğum ağırlığı 1250 gr'dan az olan ventile pretemlerde *C.albicans* ve *C.parapsilosis*'in pulmoner kandidiyazisin başlıca nedenleri olduğu gösterilmiştir. Parankim invazyonu ile birlikte olan pulmoner kandidiyazisde lokalize veya diffüz pnömoni, nodüler lezyonlar, apseler veya ampiyem bulunabilir (115).

2. 9. 2. 4. *Candida* Endokarditi

Candida türlerine bağlı kalp tutulumunun çoğu hematojen yolla protez veya hasar görmüş bir kalp kapağına, miyokarda veya perikardiyal boşluğa etkenin yerleşmesi sonucu ortaya çıkar. Klinik tablo bakteriyel endokardite benzer, ateşin yanı sıra yeni ya da değişen bir kalp üfürümü vardır. Vejetasyonlar klasik olarak iri ve kolayca dağılabilir olduğundan, *Candida* türlerinin yaptığı endokarditlerde embolik olaylar bakteri endokarditlerine göre daha sık görülür. Endokardit için diğer risk faktörleri intravenöz ilaç bağımlılığı ve santral venöz kateterizasyondur. Eroin bağımlılarında *C. parapsilosis* en yaygın etkindir (108).

2. 9. 2. 5. *Candida* Osteomyeliti

Candida türlerine bağlı kemik ve eklem enfeksiyonları hemen hemen her zaman kandidemi sekeleridir. Bu enfeksiyonlar sık olarak, kandideminin başarıyla tedavi edilmesinden birkaç ay sonra ortaya çıkarlar. Benzer şekilde gizli veya geçici kandidemiler iskelet sisteminde klinik olarak sonradan kendini gösteren bir enfeksiyon odağı oluşturabilir. Vertebral osteomyelit sık görülen bir tablodur, lokal ağrı ve hafif ateş vardır (108).

2. 9. 2. 6. *Candida* Endoftalmiti

Hematojen kandidoz gelişen hastalarda göz tutulumu sık olur, enfeksiyon koriyoretinit ve endoftalmit şeklinde ortaya çıkar. Bu nedenle, kandidemi riski taşıyan tüm hastalar dikkatli bir şekilde ve sık olarak oftalmolojik muayeneden geçirilmelidir (108).

2. 9. 2. 7. Gastrointestinal *Candida* Enfeksiyonları

Candida türleri GİS'te herhangi bir bölgede mukozayı infekte edebilir. Özofagustan sonra en çok infekte olan bölge midedir. İnce ve kalın barsaklarda ülser ve psödomembran oluşumu sıktır. *Candida* türleri periton, karaciğer, dalak, safra kesesi

ve pankreasta da enfeksiyona neden olabilir. Karaciğer, dalak ve pankreas enfeksiyonları genellikle kemoterapiye bağlı nötropenisi gelişen bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda görülür. Safra kesesi ve safra kanallarında tıkanıklığa yol açan fungus topları, karaciğer ve dalakta apseler gözlenebilir (68).

2. 9. 2. 8. Kandidüri ve Üriner Sistem Kandidoza

Hastanede yatan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların %5-10'unu *candida* türleri oluşturmaktadır. Hastanede yatan ve 14 günden uzun süreli üriner kateteri olan hastalarda kandidüri sık görülür. 7 günden daha uzun süreli üriner kateteri olan yoğun bakım ünitesi hastalarında kandidüri oranı %22 olarak bulunmuştur (116).

Candida böbrek, mesane, üreter ve üretra enfeksiyonlarına neden olabilir. Antibiyotik alan veya üriner kateterli immun suprese hastalarda idrarda *Candida* bulunması sıktır. Mesane kolonizasyonu olan hastalarda, mesaneden retrograd olarak yayılan veya hematogen yayılımla üst üriner sistem enfeksiyonlu hastalarda, idrarın toplanması esnasında kontamine olan idrarda *candida* türleri görülebilir. Kolonizasyonu enfeksiyondan ayıran güvenilir tanısal testler yoktur (117).

Semptomlar bakteriyel enfeksiyonlara benzer. Sistoskopi ile sistitli mesane mukozasında oral monilyazise benzer lezyonlar görülebilir. Renal mikroapseler, papiller nekroz, kaliksiyel distorsiyon, perinefritik apseler ve fungus toplarına bağlı obstruktif lezyonlar *Candida*ya bağlı gelişebilir. Çocuk kandidürili hastaların çoğunda alta yatan üriner sistem anomalisi vardır (114).

2. 9. 2. 9. *Candida* Peritoniti

Candida peritoniti ayaktan kronik periton diyalizi koşullarında ya da gastrointestinal cerrahi sonrası anastomoz sızıntısı veya bağırsak perforasyonunda ortaya çıkar. Bu enfeksiyonlar batında lokalize kalabilir, komşu organları tutabilir veya hematogen kandidoza yol açabilirler (108).

2. 10. Risk Grubu Hastalarda *Candida* Türleri Dışındaki Mayalar

2. 10. 1. *Trichosporon* Türleri

Trichosporon türleri gastrointestinal sistem, üriner sistem, deri normal florasında ve doğada bulunmaktadır. Taksonomide yapılan son değişikliklerle insanlarda yüzeysel enfeksiyonlara neden olanlar *Trichosporon asteroides* ve *Trichosporon cutaneum*; beyaz piedraaya neden olanlar ise *Trichosporon ovoides* ve *Trichosporon inkin* olarak isimlendirilmiştir. İnvaziv enfeksiyonlara neden olanlar *T.asahii* ve *T.mucooides* olarak ayrılmıştır. Ancak halen klinik laboratuvarlarda, çoğunlukla *T.beigelii* olarak tanımlanmaktadır (1,118).

Bu türün yol açtığı nadir rastlanan invaziv enfeksiyonlar, özellikle akut lösemili nötropenik hastalar ve kortikosteroid kullanan hastalarda görülmektedir. Bunun dışında aplastik anemi, organ transplantasyonu, AIDS ve solid tümörü olan immun baskılanmış hastalarda; intravenöz ilaç bağımlıları, kronik ayaktan periton diyalizli, prostatik kalp kapağı olan immun baskılanmanın olmadığı ancak çok düşük hastalar arasında da gelişmiş olgular bulunmaktadır (19,118).

2.10.2. *Malassezia* Türleri

Malassezia türleri normal deri florasında bulunan, lipofilik özelliği olan maya benzeri mantarlardır. İmmun sistemi normal olan kişilerde tinea versicolor enfeksiyonuna neden olurlar. *Malassezia furfur* ve daha nadir olarak *Malassezia pachydermatis*, özellikle yoğun bakım ünitelerinde uzun süre kalan yenidoğanlarda, santral venöz kateter ile lipit içeren solüsyonların verilmesi nedeniyle fungemiler yapar. Seyrek olarak akciğer, periton ve diğer organlarda da tutulum olur. Bu mantar, immun sistemi baskılanmış kişiler ve kanser hastalarında fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilir (1,25,112).

2. 10. 3. *Geotrichum candidum*

Doğada ve insanların %30'unun barsaklarında bulunabilen, maya benzeri bir

mantardır. Nadiren fungemi ve fungemi sonrası yaygın sistemik enfeksiyon yapar. Dolayısıyla patojenitesi oldukça düşüktür (25,112).

2. 10. 4. *Cryptococcus* Türleri

Cryptococcus neoformans geniş polisakkarit kapsülü ile karakterize bir maya mantarıdır. Özellikle kuru güvercin dışkılarının bulunduğu yerlerden vücuda solunum yoluyla alınmasıyla kriptokokkoz hastalığına neden olur. Sağlıklı kişilerde hafif gribe benzer bir enfeksiyon şeklinde seyrederek. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda ise etken akciğerde çoğalarak en sık santral sinir sistemi olmak üzere deri, böbrek, böbrek üstü bezi, kemik, barsak, karaciğer, dalak, kalp ve göz gibi organlara da yayılabilmektedir. Konak savunmasında T hücrelerine bağlı immünolojik tepkimelerin yeterli olması gereklidir. Bu nedenle HIV enfeksiyonlu hastalarda görülen ciddi T hücre defektleri yaygın kriptokokkoza zemin hazırlar (1,25).

C.neoformans dışındaki kriptokok türleri de nadir olarak enfeksiyonlara yol açabilmektedir. *C.laurentii* ve *C.albidus*'a bağlı enfeksiyonlar bildirilmişse de bunlarla ilgili ayrıntılı bilgi henüz yoktur (1,25,119).

2.10.5. Diğer Maya ve Maya Benzeri Mantarlar

Hansenula, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* gibi maya ve maya benzeri mantarlar yatağa bağımlı ve düşükün hastalarda fırsatçı enfeksiyonlar oluşturduğuna ilişkin bilgiler olmakla birlikte, sayıları son derece azdır. Tanımlamak için karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon testlerine ihtiyaç vardır. Tedavi kriterleri ise kesin olarak saptanamamıştır (25,112).

2. 11. *Candidaların Tanısı*

Mantarların kültürde üretilmesi enfeksiyonun tanısının konmasında ve etkenin belirlenmesi için çoğu zaman şarttır. *Candida* türleri hem normal floranın üyesi hemde patojen olarak bulunabilmelerinden dolayı tüm kültür sonuçlarının hastanın klinik, histopatolojik ve radyolojik bulgularla birlikte değerlendirilmesi

önemlidir (120).

2. 11. 1. Direkt Mikroskopik İnceleme

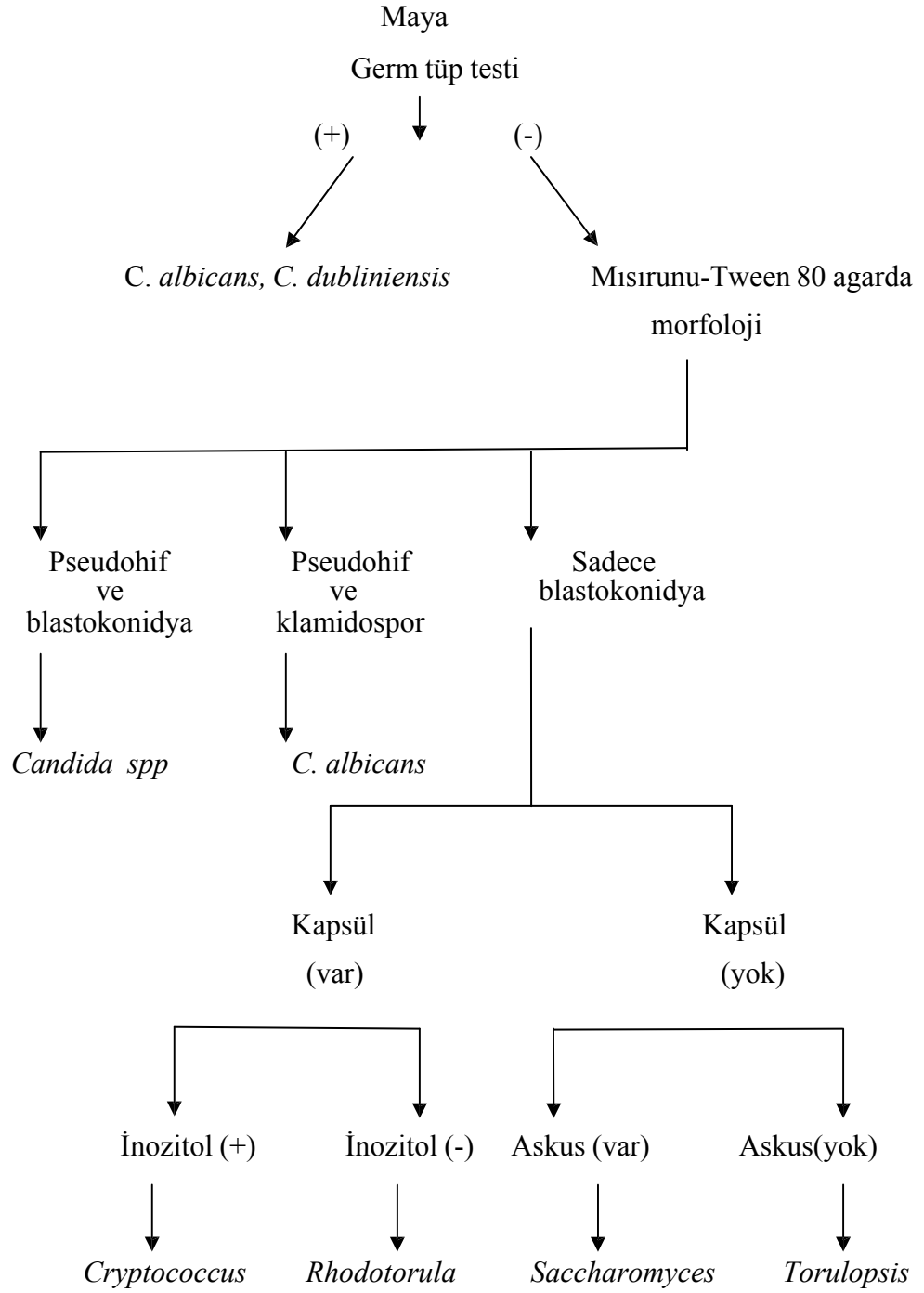
Deri ve tırnak kazıntısı gibi sert örnekler %15'lik potasyum hidroksit (KOH) ile preparat hazırlandıktan sonra direkt olarak incelenir. BOS, idrar gibi sıvı örnekler santrifüjlendikten sonra, diğer yumuşak örnekler direkt olarak preparat hazırlanarak Gram boyası ile boyandıktan sonra incelenir (19).

Mikroskopik direkt incelemede, tomurcuklanan hücreler ve yalancı hifler, gram boyası ile yapılan preparatlarda gram pozitif, 8-10 µm boyutunda oval veya yuvarlak maya hücreleri görülebilir. Preparatlarda yalancı hiflerin görülmesi *candidanın* doku içerisine girdiğinin ve enfeksiyonun göstergesi olarak kabul edilir (19,38).

2. 11. 2. Kültür

2. 11. 2. 1. Primer İzolasyon

Primer izolasyon için laboratuvarlarda en sık kullanılan besiyeri Sabauroud Dekstroz Agar (SDA)'dır. Primer izolasyon besiyerlerinin bileşimine bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremesini baskılayarak seçicilik sağlamak üzere antimikrobikler eklenebilir (sikloheksimid, gentamisin, kloromfenikol gibi). Kültür için alınan örnekler uygun besiyerine ekildikten sonra 26°C ve 37°C'de ayrı ayrı inkübe edilirler. *Candida* türleri genellikle 24 saat içinde koloni oluştururlar, ancak 48 saatte kolonileri daha belirginleşir. Oluşan kolonilerden Gram boyası yapılarak, Gram pozitif maya hücresi olup olmadığı kontrol edilir. Patojen *candidaların* çoğu 26 ve 37°C'de birkaç günde ürerler. 37°C'de üreyememe saprofitliği ortaya koyan bir özelliktir (19,38).



Şekil 5. Maya ve Maya Benzeri Mantarların İlk İdentifikasyonunda Pratik Yaklaşım (25)

2. 11. 2. 2. İdentifikasyon

Geleneksel olarak *candidaların* tanımlanması makroskopik ve mikroskopik olarak morfolojik karakterlerinin incelenmesi ve biyokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi ile yapılır. Morfolojik olarak koloni rengi ve görünümü, hif veya yalancı hif üretimi, germ tüp veya klamidospore oluşturma yetenekleri, blastosporların yapısı veya yerleşim şekilleri gibi özellikleri değerlendirilir. Şekil 5’de izlenecek yol kısaca gösterilmiştir. Biyokimyasal olarak ise karbonhidrat fermantasyon ve asimilasyonu, üre hidrolizi ve nitrat asimilasyonu değerlendirilir (121).

2.11.2.2.1. Germ Tüp Testi

Candidaların tanımlanmasında ilk adımdır. Reynolds-Braude belirtisi olarak da adlandırılan, *candidaların* serumlu ortamda germ tüpü (çimlenme borusu) oluşturma özelliği incelenir. Hızlı sonuç veren, uygulaması kolay, *C. albicans’* in diğer *candidalardan* ayırmayı sağlayan basit ama çok değerli bir testtir. Ancak *C. albicans* suşlarının hepsinde pozitif olmadığı gibi yalancı pozitiflik de olabilmektedir. *C. albicans* suşlarının %95-97’si germ tüp oluşturur (122).

Germ tüp testi için insan serumu, yumurta albumin, sığır serum albumin, koagüle tavşan plazması, koyun serumu gibi çeşitli peptonlu besiyerleri kullanılabilir. Geleneksel yöntemlerde en sık insan serumu tercih edilir. Germ tüp oluşumunu incelemek için, test edilecek suş, insan ya da tavşan serumu içerisine ekilir ve 37°C’de maksimum 3 saat süreyle inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası, bu süspansiyondan bir damla alınarak lam-lamel arasında 40X objektif ile incelenir (19,121,123).

Germ tüp, blastospordan kaynak alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca hiç kabarıklık yapmayan bir ipliksi yapı olarak gözlenir. En önemli özelliği, maya hücresinden çıkış noktasında boğum olmamasıdır. Boğum olmaması, germ tüpün psödohiften ayrımını sağlar. Yalancı germ tüpte ise daha büyük bir blastospor vardır ve hif ile bağlantı bölgesinin daha belirgin olduğu gözlenir (1,19).

Germ tüp oluşturan *candida* türleri *C. albicans* ve *C. dubliniensis*’tir. *C.dubliniensis*, fenotipik özellikleri *C. albicans*’a benzeyen ve *C. albicans*’tan kesin

ayrımı moleküler yöntemlerle mümkün olabilen bir türdür. İzolasyon oranı çok düşüktür (123). Bu nedenle, germ tüp oluşturan suşlar rutin mikoloji laboratuvarlarında *C. albicans* olarak tanımlanabilir (121,129).

Diğer taraftan, *C. stellatoidea* da germ tüp üretir. *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr* de yalancı germ tüp oluşumu görülebilir (1,19,25).

2.11.2.2.2. Hif, Blastospor ve Klamidospor Yapımı

Hif, yalancı hif, blastospor ve klamidospor üretme özellikleri mikroskopik olarak değerlendirilir. Mısır unlu agar gibi besin açısından fakir ortamlarda mayaların oluşturduğu blastospor, yalancı hif, gerçek hif ve klamidospor varlığı *candidaların* tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bunun için Pirinç ekstresi-Tween 80 agar, Mısır unlu-Tween 80 agar besiyerlerinden birisinde incelenen maya kolonisinden bir parça alıp, iğne öze ile birbirine paralel çizgiler şeklinde ekim yapılır. Ekim alanı steril bir lamelle kapatılarak besiyeri 26°C'de 24-72 saat inkübe edilir (1,19,124).

Besiyeri üzerine kapatılan lamelin, ortamın oksijenini azaltması ve Tween-80'in yüzey gerilimini düşürmesi klamidospor ve yalancı hif üretimini artırır. *C.albicans*'ın oluşturduğu klamidosporlar yalancı hiflerin ucunda, ortasında ya da yanında yerleşmiş; yuvarlak düzgün duvarlı, sitoplazması yoğunlaşmış, çevre koşullarına dirençli bir yapıdadır. Uzun yıllar sadece *C.albicans*'ın tanımlanmasında kullanılmış olan mısır unlu agarda diğer maya türleri de mikroskopik morfolojik özelliklerine göre tanımlanabilmektedir (1,19).

2.11.2.2.3. Karbonhidrat Asimilasyon Testi

Karbonhidrat asimilasyon testleri, mayayı, oksijen varlığında spesifik bir karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilmesi esasına göre tür düzeyinde tanımlamaya yardımcı olur. Karbonhidrat asimilasyon testi Wickerham-Burton yöntemi, oksanografik yöntem ve ticari tiplendirme kitleri gibi değişik yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. *Candida* türlerinin tiplendirilmesinde kullanılan ticari kitler daha kısa sürede sonuçlanması ve kolay uygulanabilmesinden ötürü sık tercih

edilmektedir (1,25).

Hem sık, hem de az rastlanan türleri 4- 72 saat gibi kısa sürede tanıya eden bu sistemlerin her biri biyokimyasal testleri farklı bir prosedürle kullanır. Bunlardan bazıları API 20C AUX (bioMérieux, Fransa), API ID 32C (bioMérieux, Fransa) ve BBL Minitek Yeast Set (Becton Dickinson, ABD), API Yeast identification System (Analytab product), Uni Yeast Tek (Row Laboratories), Abott Yeast identification System (Abott Diagnostic), RapID Yeast Plus system (Innovative Diagnostics Systems), API Candida (bioMerieux) gibi pek çok ticari kit olarak sayılabilir (1,124). Bunlardan en yaygın kullanılan geleneksel yöntemlerle %95 benzerlik gösteren API 20 C AUX sistemidir (51).

2.11.2.2.4. Nitrat Asimilasyon Testi

Nitrat asimilasyon testi karbonhidrat asimilasyon testine benzer bir testtir. Mayaların nitrojen kaynağı olarak nitratı kullanma yeteneklerini ortaya çıkarmaktadır (1).

2.11.2.2.5. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri

Fermantasyon, karbonhidratların CO₂ ve etanol üretimiyle sonuçlanan anaerobik kullanımıdır. Karbonhidrat fermantasyonu Modifiye Wickerham Yöntemi ile yapılabilmektedir. Gaz oluşumu ve pH'da değişiklik olmaması fermantasyonu gösterir. Durham tüpünde gaz kabarcığının gözlenmesi ile ortaya konulmaktadır. Test, birçok *candida* türünün *Cryptococcus* ve *Rhodotorula* gibi non-fermantatif türlerden ayrılmasında kullanılmaktadır (1).

Maya mantarlarının mikroskopik morfoloji ve biyokimyasal özellikleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

2.11.2.2.6. Üreaz testi

Mayaların üreyi hidroliz etmeleri üreaz aktivitesini gösterir. *Candida* türlerinin, diğer mayalardan ayrımında kullanılır. *Trichosporon* türlerinin büyük çoğunluğu,

Cryptococcus ve *Rhodococcus* türleri üreaz pozitif iken, klinik örneklerde rastlanan *candida* türlerinin hemen hemen tamamı; *C. lipolytica* ve *C. krusei*'nin bazı suşları hariç, üreaz negatiftir. Uygun substratların varlığında, üreaz enzimi, üreyi parçalayarak amonyak oluşturur. Oluşan amonyak pH'ın yükselmesine neden olur, bu da renk indikatörünün (fenol kırmızısı) kehribardan, pembeye renk değiştirmesi ile anlaşılır (1).

2.11.2.2.7. Hızlı Trehaloz Testi

Hızlı trehaloz testi, flukonazole azalmış duyarlılığı nedeniyle hızlı tanımlanmasının önem kazandığı *C.glabrata*'nın 3 saat içerisinde identifikasyonuna olanak sağlayan bir testtir. CLSI (The Clinical and Laboratory Standarts Institute), *C. glabrata*'nın trehalozu asimile etmesine dayanan hızlı bir test prosedürünü, M35-A dokümanı adı altında yayınlamıştır. SDA dışında kullanılan besiyerlerinden alınan numunelerde yanlış pozitif sonuçlar alınabilir, ancak *C. glabrata*'nın morfolojik olarak germ tüp ve psödohif oluşturmaması ve küçük hücre boyutlarıyla desteklenirse, bu olasılık azaltılabilir. GLABRATA RTT (Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret, France) trehaloz ve maltoz hidrolizini birlikte yapan bir testtir. *C.glabrata* trehalozu saatler içerisinde hidroliz ederken, çoğu *Candida* türü tarafından hidrolize edilen maltozu hidroliz etmez. GlabrataQuick (Hardy Lab, USA), Trehalose Test=RAT Test (Scientific Device Lab, USA) 30 saniyede sonuç veren diğer ticari kitlerdir (1).

2.11.2.2.8. Kromojenik Besiyerleri

Kromojenik agar besiyeri kullanılarak bir veya birkaç *candida* türünün olası tanısı belirlenebilmektedir. Bu besiyerleri, farklı *candida* türlerinin ürettiği enzimlerle reaksiyona giren türe özgü kromojenik substratlar içerir ve üreyen kolonilerin rengi türe göre değişir. CHROMagar *Candida* (CHROMagar France; Paris, France), Candida ID (bioMerieux) CandiSelect (Bio-Rad, France) ticari kromojenik besiyerlerinden bazılarıdır (1).

2.11.3. Kültür Dışı Tanı Yöntemleri

2.11.3.1. Serolojik Yöntemler

Mantar infeksiyonlarında serolojik testlerin rutin tanıda kullanımı henüz tam olarak yaygınlaşmamıştır. Serolojik testler, mantar infeksiyonlarının tanısı yanında, hastanın tedaviye cevabının değerlendirilmesinde, hastalık ilerlemesinin gösterilmesinde kullanılabilir. Serolojik testlerin bir kısmı mantar antijenlerine karşı oluşan antikorların gösterilmesine yöneliktir. Diğerleri ise mantar antijenlerinin ve metabolik ürünlerin gösterilmesi esasına dayanır. Antijen ve antikorların birlikte araştırıldığı yeni kombine testler daha özgül sonuçlar verir. Kandidozun tanısında tek başına kullanılacak bir test bulunmamaktadır. Tek örnekten elde edilen sonucun duyarlılığının düşük olması nedeniyle literatürde bir anlaşma oluşmamıştır. Bu nedenle birden çok ardışık örneğin test edilmesi gereklidir. Serolojik testlerden elde edilen sonuçlar, klinik bulgular ve kan kültür sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir (125).

Antikorların Gösterildiği Testler: *Candida*ya karşı oluşan antikorlar tüm hücre aglütinasyonu, Lateks aglütinasyonu, indirekt immün floresans, RIA ve EIA ile araştırılabilir. Başlıca hedef alınan antikorlar, anti-mannan antikorları olmuştur (125). İnvaziv kandidozların serolojik tanısında mannan (CAND-TEC, Ramco Laboratories, Inc. Houston) ve mannoproteininin (Bichro-latex albicans) antikorlarını tespit eden testler kullanılmış ancak bu antikor arama testleri yüz güldürücü sonuçlar vermemiştir. Sadece kolonizasyon olması durumunda bile antikorların saptanması ve immünsüprese hastalarda invaziv kandidozda bile antikor oluşmaması mannan antikorunun dalak ve karaciğer tarafından hızla kandan uzaklaştırılması nedeniyle antikor aranması testlerinin duyarlılığı düşüktür (126). Enolaz, aspartik proteinaz ve metalloproteinaz gibi *candida* antijenlerine karşı oluşan antikorlar da arama için kullanılacak diğer hedeflerdir (125).

Antijenlerin Gösterildiği Testler: Vücut sıvılarında veya serumda mantar antijenlerinin veya metabolitlerinin aranmasına yönelik testler daha değerlidir. Bu amaçla ısıya duyarlı antijen, mannan ve enolaz kullanılmaktadır (125).

İnvaziv kandidoz tanısında en fazla kullanılan antijenik yapı mannanıdır. Mannan, *Candida* hücre yüzeyinin, enfeksiyon sırasında, dolaşıma geçen karbonhidratıdır. Sağlıklı bireyde antikorlar tarafından mannan kandan hızla temizlenir. Bu nedenle immünsüprese kişilerde daha kullanışlıdır, sık örnekleme gerekir. Mannan testinin sensitivitesi %31-92, spesifitesi ise %68-100 oranında saptanmıştır. Mannan düzeylerinin >2-3ng/ml olmasının invaziv *Candida* enfeksiyonları için kuvvetli bir belirteç olduğu gösterilmiştir (127).

Isıya duyarlı antijen duyarlılığı %6-71 arasındadır. Enolaz biraz daha ümit verici bir antijen testidir. Ardışık alınan kanlarda aranmasının duyarlılığı artıracağı kabul edilmektedir. Ayrıca enolaz *Candida* türlerine oldukça özgül olup yüzeysel kandidozlarda serumda saptanmaması bir avantajdır. Enolaz duyarlılığı %54- 75 arasındadır. En çok kullanılan yöntem ELISA yöntemidir. Mantar hücre duvarı komponentlerinden β -glukan antijeninin serumda aranması son zamanlarda önem kazanan bir testtir. İnvazif kandidozda, yüksek konsantrasyonlarda bulunmakla birlikte, sadece mantar varlığını gösterebilen türe özgü ayırım yapamayan bir yöntemdir (128).

Fungal Metabolitlerin Gösterildiği Testler: D-arabinitol aslında bazı *Candida* türlerinin metabolik ürünüdür. Serumda dolaşır ve idrarda toplanır. Sistemik kandidozlu hastaların idrarında düzeyi artar. İdrarda D-arabinitol/L-arabinitol oranının tespit edilmesi tanıda yardımcıdır. Test birden çok tekrarlanırsa, duyarlık ve özgüllük artar. Duyarlılığı %50'dir (126). Ayrıca gaz likid kromatografisi gibi ileri yöntemler gerektirir. İkinci bir yaklaşım, D-arabinitol/kreatinin oranının serumda bakılmasıdır (125,128). *C.krusei* ve *C.glabrata* bu metaboliti üretmediklerinden bu iki etkenin enfeksiyonlarında saptanmaz (129). Salgısal aspartik proteinazların kandidozda taranması yeni bir tanısal yaklaşım olup, kolonizasyon ve enfeksiyon ayırımı yapabilecekleri bildirilmiştir (125).

2.11.3.2. Moleküler Tanı Yöntemleri

Fungal DNA'nın belirlenmesi, antikor belirleyen testlere göre immün sistem fonksiyonundan bağımsızdır ve antikor yanıtı oluşmadan önce erken tanıyı sağlayabilir.

Moleküler biyolojik testlerin diğeri bir avantajı, birden fazla etkenin neden olduğu infeksiyonlarda organizmaları tür düzeyinde tanıma yetenekleridir (130).

Polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) kan örneklerinde 1CFU/ml'ye kadar mantarları belirlemede duyarlı olduğu bildirilmektedir (130). Mikolojide moleküler yöntemlerin mantarın klinik örneklerde varlığını saptama ve/veya tanımlama çalışmalarında, epidemiyolojik amaçlarla izolatlar arasındaki genotipik farklılıkların ortaya konmasında, antifungal direnç gibi virülans faktörlerinin varlığının genotipik olarak saptanmasında, genom baz dizisi ve mutasyon analizlerinde, klinik örnekte bulunan fungusun canlılığının ortaya konmasında ve filogenetik (taksonomik) incelemelerde kullanıldığı görülmektedir. Fungal yükün az olduğu, kültür ve serolojik tanının henüz yetersiz olduğu evrede, PCR temelli tanı yöntemlerinin çok daha etkin olacağı öngörülmektedir (131).

Mikolojide, moleküler tanı yöntemlerinin her laboratuvarında bulunmaması ve yüksek maliyeti kullanımını sınırlamakta, mikroskopik inceleme ve kültürün yerini tamamen almasını engellemektedir (132).

Yapılan ilk moleküler tanımlama çalışmaları olan ribozomal DNA tekrar bölgesinin Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analizi ile *Candida* türlerinin farklı büyüklükte bantlar oluşturduğu gösterilmiştir. İşaretlenmiş DNA problemlerinin kullanıldığı southern blot yöntemi ile RFLP'nin duyarlılığı artırılmıştır. 1990'ların başından itibaren Polymerase Chain Reaction (PCR) tekniği ile çok az miktardaki DNA çoğaltılıp agaroz jelde görüntülenebilmektedir. Bu yöntemle türe özgül DNA ürünlerinin çoğaltılması ve birbirine çok yakın türlerin ayrılabilmesi sağlanmıştır. 2000'li yılların başından itibaren geliştirilen real time (eş-zamanlı) cihazların kullanımıyla 10 pg/ml DNA gösterilebilmekte ve örnekteki fungal yük miktarı belirlenebilmektedir (132).

Candida türlerinin tanısında kullanılan PCR testi için hedef bölgeler; ön çoğaltma ve ileri tanımlama için kullanılanlar olarak iki gruba ayrılabilir. Ön çoğaltmada tüm mantarlar için ortak, çok tekrarlı ve ileri derecede korunmuş 18S, 5.8S ve 28S rDNA alt üniteleri veya mitokondri DNA'sı (mDNA) kullanılır. İleri tanımlamada Internal Transcribed Spacer (ITS1, ITS2), sitokrom p-450 lanosterol-alfa-demetilaz, aspartik proteinaz, aktin, kitin sentetaz ve ısı şok proteini kodlayan gen bölgeleri hedef olarak kullanılmaktadır. Tür tanısında duyarlılığı arttırmak için; nested

PCR ve multipleks PCR teknikleri kullanılmaktadır. PCR ile çoğaltılan ürünler restriksiyon enzim analizi (RFLP), PCR-hibridizasyon ve baz dizi analizi teknikleri kullanılarak tür ayırımına gidilmektedir (132).

2.12. *Candida* Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungaller

Mantar hücrelerinin memeli hücreleri gibi ökaryot yapıda olması; protein, DNA veya RNA, biyosentezini inhibe eden antifungal ilaçların insanlar için toksik özellikte olması antifungal sağaltım alanındaki gelişmeleri yavaşlatmış olup, hala kısıtlı sayıda antifungal ilaç kullanılmaktadır (133).

1950'li yıllara kadar iyot, fenol türevleri, salisilik asid ve türevleri, benzoik asid gibi karbonik asidler kullanılmış, 1951 yılında hem oral hemde topikal etkili polyen antibiyotik olan nistatin bulunmuştur. 1956'da polyen bir antibiyotik olan amfoterisin B'nin bulunması sistemik antifungal tedavide dönüm noktası olmuştur. Ardından sitostatik bir madde olarak üretilen flusitozin mantar tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Monoterapi olarak uygulandığında flusitozine hızla direnç geliştiğinden, kullanımı, amfoterisin B ile kombinasyon tedavisi şeklinde kısıtlanmıştır. Amfoterisin B ve 5- flusitozin'in uygulamalarının zor olması ve toksik olmalarından dolayı, birçok yeni antifungal ilaçlar geliştirilmiş veya eski ilaçların yeni formülleri yapılmıştır. 1958'de oral antifungal olan griseofulvin, 1969'da imidazol türevlerinden klotrimazol ve mikonazol, 1977'de ketokonazol ve 1980'li yıllarda geniş etki alanına sahip flukonazol ve itrakonazol piyasaya sürülmüştür. Antifungal ajanlar sistemik ve topikal ajanlar olarak iki grupta incelenirler. Bu ajanlar Tablo 6'da gösterilmiştir (134,135).

Yirminci yüzyılda, antifungal ilaç keşfinde son aşama, glukon sentezinin inhibisyonu ile hücre duvarı hasarına yol açan lipopeptid moleküller olan Ekinokandinlerin keşfidir. Fungal hücre duvarının yaşamsal önemi ve bir hedef olarak memeli hücrelerinde bulunmayışı nedeniyle, ekinokandinler, iyi tolere edilen ve düşük toksisiteli antifungal ajanlar olarak görünmektedir (136).

Bugün için *candida* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan sistemik ajanlar, amfoterisin B, azoller (ketokonazol, itrakonazol, flukonazol, vorikonazol), kaspofungin ve flusitozindir. *Candida* enfeksiyonlarının tedavisi, enfeksiyonun

anatomik lokalizasyonuna, hastanın immün durumuna ve altta yatan hastalığı olup olmamasına, risk faktörlerine, enfeksiyondan sorumlu *candida* türüne ve antifungal ajanlara duyarlılığına bağlı olarak değişiklik gösterebilir (136).

Funguslar, pek çok karmaşık mekanizma ile antifungallere direnç geliştirebilirler. Antifungal direnç, üç başlık altında incelenir: Primer (intrinsik), sekonder (kazanılmış) ve klinik direnç. Primer direnç antifungal temas öyküsü yokken kalıtımla gelen dirençtir. Sekonder direnç uzun süreli bir antifungal kullanım sonucu olarak, önceden duyarlı olan bir izolatın dirençli bir fenotip geliştirmesiyle ortaya çıkar (137).

Klinik direnç laboratuvar testlerine göre hassas olduğu bilinen antifungal kulanıma rağmen hastalığın ilerleyici olması ya da relaps göstermesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Bu durum tipik olarak persistan, derin immün yetmezlik durumları (AIDS, nötropeni gibi) enfekte prostetik materyal varlığında söz konusu olmaktadır (137).

2. 12. 1. Polyen antifungaller

Hücre membranındaki ergosterolü hedef alan ajanlardır. Bu ajanların hidrofobik ve hidrofilik kısımları vardır. En önemli iki üyesi Amfoterin B ve nistatindir (136).

2. 12. 1. 1. Amfoterisin B

1950'li yılların sonlarına doğru kullanıma giren amfoterisin B, *Streptomyces nodosus*'un bir suşundan elde edilen bir haptendir. Hayatı tehdit eden mantar enfeksiyonlarında ilk tercih edilen ilaçlardır (135).

Suda çözünürlüğü az olduğundan oral ve intramüsküler emilmez. Genellikle kullanılan formu, intravenöz kullanım için uygun olan amfoterisin B deoksikolat formudur (136).

Amfoterisin B, mantar hücre membranındaki ergosterole bağlanır ve osmotik dengeyi bozar. Hücre duvarında porlar oluşturup hücrenin geçirgenliğinin artmasına neden olur. Bunun sonucunda intrasellüler potasyum, magnezyum, şeker ve

metabolitlerinin membrandan sızmasına ve hücre ölümüne neden olur (fungisidal) (135).

Amfoterisin B, memeli hücrelerin membranında bulunan kolesterole de daha az bir affinite ile bağlanır. Bu özellik amfoterisin B'nin insanlardaki toksisitesinden sorumludur. Lipozomal amfoterisin B de aynı mekanizmayla etki gösterir (136).

Candida guilliermondii, *Candida krusei*, *Candida lusitanae* ve *Candida rugosa* da amfoterisin B'ye karşı azalmış duyarlılık ya da potansiyel direnç olabileceği bildirilmektedir (136).

Amfoterisin B, akciğer, dalak, böbrek gibi birçok organ ve dokuya geçebilir fakat beyin omurilik sıvısına geçişi zayıftır. Bu sebeple santral sinir sistemi infeksiyonlarında intratekal kullanılabilir. Amfoterisin B nefrotoksik bir ilaçtır. Bunun yanında ateş, miyalji, hipotansiyon, bronkospazm gibi yan etkiler oluşturabilir. Lipit Amfoterisin B bileşiklerinin, konvansiyonel amfoterisin B'ye göre in vivo aktivitesinin daha iyi olduğu bilinmektedir. Bunun nedeni, sadece bu bileşiklerin daha iyi tolere edilmeleri değil, enfeksiyon bölgesine konvansiyonel formülasyona göre daha yüksek düzeylerde ulaşmasıdır (136).

Uzun yıllar intrensek dirençli kabul edilen *C. lusitanae* izolatlarının çoğunun primer olarak amfoterisin B'ye duyarlı olduğu ve duyarlı fenotipten, dirençli fenotipe geçmesine yol açan bir mekanizmanın bulunduğu bildirilmiştir (138).

Amfoterisin B'ye direnç, hedef membran lipidlerinin, özellikle sterollerin değişimi veya hücre zarındaki ergosterol miktarının düşmesi nedeniyle amfoterisin B'nin bağlanmasında bir azalma sonucu meydana gelmektedir. Sterollerin değişimi, daha çok ergosterol biyosentezi ile ilgili mutasyonlara sekonder olarak ortaya çıkmakta, fungus ergosterol yerine benzeri bileşikler yapmaktadır. Diğer direnç mekanizmaları olarak, fosfolipidlerinin yapısının bozulması, değişimi ve katalaz aktivitesinin artması bildirilmiştir (138).

2. 12.1.2. Nistatin

İlk bulunan polyen grubu antifungal ilaçtır. Başlıca *candida* cinsi mayaları etkiler. Ağız ve barsak kandidiyazın lokal tedavisinde kullanılır (138).

Tablo 6. Sistemik ve topikal antifungal ajanlar (136).

Kimyasal grup	Antifungal ajanlar	Formulasyonları	
Allilamin	Naftilin	Topikal	
	Terbinafin	Oral, topikal	
Antimetabolitler	Flusitozin	Oral	
Azol (imidazol)	Bifonazol	Topikal	
	Butokonazol	Topikal	
	Klotrimazol	Topikal	
	Econazol	Topikal	
	Ketokonazol	Oral, topikal	
	Mikonazol	Topikal	
	Oksikonazol	Topikal	
	Sulkonazol	Topikal	
	Terconazol	Topikal	
	Tiokonazol	Topikal	
	Azol (triazol)	Flukonazol	Oral, İV
		İtrakonazol	Oral, İV, oral süspansiyon
		Varikonazol	Oral, İV
Casposfungin		İV	
Ekinokandin	AmfoterisinB	İV, topikal	
Polyenler	Nistatin	Topikal, oral süspansiyon	
	Diğerleri	Amorolfine	Topikal
	Butenafine HCL	Topikal	
	Ciclopirox olamine	Topikal	
	Griseofulvin	Oral	
	Haloprojin	Topikal	
	Tolnaftat	Topikal	

2. 12. 2. Azoller

Azol grubu antifungal ajanlar hem yüzeysel hem de derin mikozların tedavisinde başarıyla kullanılmakta olan ilaçlardır (136). Bunlar, fungal plazma membranının önemli bir komponenti olan ergosterol sentezini, sitokrom p450'ye bağımlı C-14 α lanosterol demetilaz enzimini inhibe ederek engellerler. Klinik kullanımdaki azoller, azol halkasında iki ya da üç nitrojen bulunmasına göre imidazoller (örn. ketokonazol, mikonazol, klotrimazol) ve triazoller (örn. flukonazol, itrakonazol vorikonazol) olarak sınıflandırılır. İmidazol grubu içerisinde sadece ketokonazol sistemik etkili iken, triazol grubundakilerin tümü sistemik etki gösterir. Azol grubu ilaçlar, fungal hücre gelişimini engelleyerek (fungostatik) veya fungal hücreyi öldürerek (fungusidal) etki gösterirler (136,139).

Triazollerin imidazollerden üç noktada üstünlükleri vardır;

- 1) Daha yavaş metabolize edilirler ve daha uzun süre etkilidirler.
- 2) İnsan hücreesindeki sterollere daha az etkilidirler, direk toksik etkileri zayıftır.
- 3) Endokrin yan etkileri yoktur (135,136,139).

Azol grubu antifungallerin hedefi ERG11 geni tarafından kodlanan 14- α -demetilaz enzimidir (139).

Candida türlerinde azol direnci, çeşitli mekanizmalarla gelişmektedir;

1) Hücre içinde ilaç birikiminde azalma: Teorik olarak hücre içinde ilaç birikiminde azalma, ilacın hücreye alınımında bozukluk ya da ilacın pompa sistemleri ile atılımının artması sonucu ortaya çıkmaktadır (139).

a) Membran sterollerindeki ve/veya fosfolipitlerindeki değişim nedeni ile membran geçirgenliğinde ve dolayısı ile hücre içine ilaç alınımında azalma olması

b) İlaç pompa sistemlerinde artma olması. Funguslarda ilaç direncine yol açan ATP bağlayan kaset ("ATP binding cassette" (ABC)) süper ailesi ve "major facilitator" süper ailesi (MF_s) olmak üzere iki tip aktif atılım pompa sistemi söz konusudur. *C.albicans* suşlarındaki azol direnci ile ABC taşıyıcılarını kodlayan CDR (*Candida* "drug resistance") genlerinin ilişkili bulunduğu belirtilmiş, dirençli suşlarda CDR₁ ve CDR₂'nin fazla eksprese edildiği gösterilmiştir. CDR genlerinin azollere çapraz dirençten ve birçok metabolite dirençten (çoklu ilaç direnci) sorumlu olduğu saptanmıştır (138).

MF_s proteinleri ise çeşitli yapısal bileşiklerin transportu ile ilişkili olup, membrandaki proton farkı ile taşımayı sağlar. MF_s'ler arasında MDR1 (multidrug resistance) geninin (benR, BENr) fazla ekspresyonunun azol direnci ile korele olduğu ve bunun flukonazol için spesifik olduğu saptanmıştır (138).

2) Erg11p'nin azollere afinitesinde azalma: ERG11 geninde ilaç bağlanmasını bozan yapısal değişikliklere yol açan, Erg11p'nin afinitesini azaltan nokta mutasyonları saptanmış ve klinik *C. albicans* suşlarında flukonazol direncine yol açtığı bildirilmiştir (138).

3) Erg11p'nin hücresel içeriğinde artma: ERG11 geninin fazla ekspresyonu ile ilişkili olan bu durumda, 14- α -demetilaz enziminin sentezi aşırı miktarda artmaktadır. Bu şekilde ilaç etkin bile olsa enzimin fazlalığı ile ergosterol sentezi devam etmekte ve ilacın etkisi kaybolmaktadır (138).

4) Ergosterol biyosentezinde değişiklik: Azollere dirençli mayaların sterol yapılarının incelenmesi sonucu, ERG3 ile kodlanan ve ergosterol biyosentezinde 14- α -demetilaz'dan daha erken bir basamakta etki eden $\Delta^{5,6}$ desaturaz enziminin inaktivasyonu ile biyosentez yolunun değiştirildiği izlenmiştir. Bu enzimdeki mutasyonlar, membran sterolünün yapısında değişikliğe yol açmaktadır. Bunun sonucunda, ergosterol yerine, 14- α metil fekosterol birikimi ile azol direnci ortaya çıkmaktadır (138).

2.12.2.1. Ketokonazol

1978'de keşfedilen ketokonazol oral emilimi normal mide asidifikasyonunda iyi olan geniş spektrumlu bir ilaçtır. Enterohepatik sirkülasyonda metabolize edilir. *Candida*larda maya şeklinin lökositler tarafından fagositoza daha az elverişli olan pseudohif şekline dönüşümünü azaltarak da antifungal etki yapar. Aktif üreme dönemindeki mantarlara etkili olduğundan yeterli süre tedavi yapılmamışsa nüks kaçınılmazdır. Hepatotoksik olabilmektedir. Ayrıca testesteronu, ACTH uyarımına bağlı kortizol yanıtını ve sentezini baskılayarak endokrin yan etkilere neden olabilmektedir (impotans, oligospermi, libido azalması, jinekomasti, menstruel düzensizlik) (140).

Daha az toksik ve daha etkili antifungallerin kullanıma girmesiyle günümüzde

nadir kullanılan antifungaldir. Diğer azollere dirençli *Candida* suşlarının bazılarında ketokonazole çapraz direnç görülebilir (135).

2.12.2.2. Flukonazol

1981 yılında imidazol çekirdeğinin değiştirilmesiyle elde edilen flukonazol suda çözünen bir bileşiktir. Oral alımı takiben emilimi çok iyi düzeylerde olur. Oral ve intravenöz formları bulunur. Günlük tek dozla yüksek plazma seviyesine ulaşılır. BOS dahil tüm dokulara iyi dağılan düşük toksisiteli, birinci kuşak triazol türevi antifungaldir (136).

Flukonazol, birçok *Candida* türüne etkilidir. Bununla birlikte *C. krusei* flukonazole doğal dirençlidir. *C. glabrata* suşlarının flukonazole duyarlılığı ise önemli ölçüde değişkenlikler gösterir. Bazı *C. glabrata* suşları flukonazole doza bağlı duyarlıdır (S-DD). Bazı *Candida tropicalis*, *Candida norvegensis*, *Candida dubliniensis* ve *Candida inconspicua* suşlarına karşı da yüksek flukonazol MİK değerleri saptanabilmektedir (142). Bu türlerin dışında da, her *Candida* türü içinde flukonazole dirençli suşların var olması mümkündür. AIDS olgularında gözlenebildiği gibi, uzun süreli flukonazol profilaksisi sonrasında *Candida albicans* suşlarında bile flukonazole direnç gelişebilir (141). Bulantı-kusma (<%5), eksfoliyatif döküntü, Stevens Johnson Sendromu, AST ve ALT yükselmesi ve %1-7 oranında hepatit görülebilir. Uzun süreli tedavilerde karaciğer fonksiyon testleri takibi yapılmalıdır (140).

2.12.2.3. İtrakonazol

1986'da keşfedilen itrakonazol, lipofilik triazol grubundan olup kapsül veya solüsyon içinde oral ve intravenöz olarak kullanılır. *Candida* türleri, *Criptococcus neoformans*, *Aspergillus* türleri, dermatofitler, *Sporothrix schenckii* ve endemik dimorfik patojen mantarları içine alan geniş bir antifungal aktiviteye sahiptir. İtrakonazol, midenin asit ortamında absorpsiyonu artar. Lipofilik olduğundan dolayı pürülan eksudalara ve yağ dokusunda yüksek konsantrasyonlara ulaşırken, beyin omurilik sıvısına geçişi zayıftır (140).

İtrakonazole bağlı yan etkiler flukonazolle benzerdir ancak itrakonazole bağlı

gelişen gastrointestinal yan etkiler, flukonazol ile gözlenenlere göre daha fazladır. Yüksek dozlarda hipokalemi, ödem ve hipertansiyon yapabilir. Hepatotoksik etkisi nadirdir (136).

2.12.2.4. Vorikonazol

Vorikonazol, flukonazol çekirdeğinde yapılan değişikliklerin sonucunda daha güçlü, daha geniş spektrumlu oral ve parenteral kullanıma uygun yeni bir ikinci kuşak triazol antifungaldir. Vorikonazolun oral ve intravenöz formları mevcuttur. Ayrıca itrakonazol ve flukonazolün aksine emilimi mide içi pH değişikliklerinden etkilenmemektedir. Santral sinir sistemi de dahil olmak üzere bir çok dokuya dağılım gösterir. Vücuttaki vorikonazolun büyük bir kısmı (%80'i), karaciğer yoluyla atılır (135,136).

Azoller arası çapraz direncin görülebilmesi nedeniyle, flukonazole dirençli *Candida* izolatlarının önemli bir kısmı, ketokonazole ve itrakonazole olduğu gibi, vorikonazole de dirençlidir. Vorikonazol, özofageal kandidiyazis ve nonnötropenik kandideminin tedavisinde endikedir. Bunun yanı sıra, hepatosplenik kandidiyazis de dahil yaygın *candida* infeksiyonlarında vorikonazol ile başarılı sonuçlar bildirilmiştir (136,143). Vorikonazol kullanımı sırasında en sık gözlenen yan etkiler geçici görme bozuklukları (%30) ve karaciğer enzimlerinde yükselmedir. Deri reaksiyonları, halusinasyonlar veya konfüzyona da neden olabilir. Genelde iyi tolere edilebilen bir ajan olmakla beraber vorikonazol dozunun ayarlanabilmesi için plazma vorikonazol konsantrasyonunun ölçülmesi önerilmektedir (136).

2.12.3. Antimetabolitler

2.12.3.1. Flusitozin (5-florositozin, 5FC)

Flusitozin florlanmış bir pirimidin olup antimetabolit olarak etki gösteren tek antifungal ajandır. Antifungal aktivitesini, pirimidin metabolizmasını bozarak, fungal hücrelerdeki DNA, RNA ve protein sentezini engelleyerek gösterir. Flusitozin, sitozin permeaz enzimi sayesinde fungal hücre içerisine girer ve sitoplazmada 5-florourasile

(5FU) çevrilir. 5FU'nun fosforlanması sonucunda 5-florouridilik asit oluşur. (FUMP). FUMP tekrar fosforlanır ve RNA'nın yapısına girer. FUMP'un RNA'nın yapısına girmesi, protein sentezinin durmasına yol açar. Aynı zamanda 5FU'nun 5-florodeoksiüridin monofosfata dönüşmesi de, mantar DNA'sının sentezinde ve çekirdek bölünmesinde görev alan timidilat sentaz enziminin inhibisyonuna neden olur (136).

Flusitozin'in suda çözünürlüğü iyi olduğundan oral biyoyararlanımı yüksektir. Yüksek dozlarda serum, BOS ve diğer vücut sıvılarına geçebilir. Serumdaki konsantrasyonu 100 µg/ml'yi geçtiğinde kemik iliği supresyonu, hepatotoksisite ve gastrointestinal intolerans görülür. Flusitozin böbrek yoluyla atılan bir antifungal ilaçtır. Bu nedenle amfoterisin B gibi nefrotoksik bir ilaç ile birlikte kullanılıyorsa toksisiteyi önlemek için serum ilaç konsantrasyonunu takip etmek gerekmektedir. Antifungal etki spektrumu dar olup, flusitozine primer direnç olasılığı, hem de sekonder direncin kolayca gelişmesi nedeniyle tedavide tek başına kullanılmaması gereken bir antifungal ilaçtır. Flusitozin, tedavide en çok amfoterisin B ile kombine edilerek kullanılmaktadır (136).

Direnç gelişimi önemli bir problem olup en önemli nedeni ilacın tek başına kullanımınıdır. Flusitozine iki türlü direnç bilinmektedir. Birincisi, ilacın hücre içine alınmasında görevli olan sitozin permeaz enziminin aktivitesinde azalma olmasıdır. İkinci mekanizma ise flusitozinin 5-florourasile dönüşümünü katalizleyen sitozin deaminaz enziminin aktivitesindeki azalmadır (136).

2.12.4. Glukan Sentez İnhibitörleri

Glukan sentez inhibitörleri, β -(1,3)-glukan sentetaz enzimini inhibe ederek, mantar hücre duvarında bulunan glukan sentezini bozar. Memeli hücre yapısında β -(1,3)-glukan olmadığından dolayı insan hücrelerine toksik olmayan mantarlar için selektif bir ilaçtır. Akulasinler, ekinokandinler ve papulokandinler bu gruba ait ilaçlardır. Güvenirliği, etkisi ve tolere edilebilir özelliğinden dolayı günümüzde sadece ekinokandinler klinik uygulamalarda kullanılır (108).

2.12.4.1. Ekinokandinler

Ekinokandinler yeni üretilen, oldukça selektif, semisentetik lipopeptid bir antifungaldir. Kaspofungin, mikafungin ve anidulafungini içeren ekinokandinler, kimyasal olarak modifiye edilmiş mantar moleküleridir. Bunlar içerisinde lisans alan tek ilaç kaspofungindir. Azollere ve amfoterisin B'ye duyarlı *Candida* kökenlerinin yanı sıra, bu ilaçlara dirençli kökenlere de etkili olmaları, klinikte ekinokandin kullanımına ilişkin en önemli avantajlardan birisidir (144). Azollere dirençli olanlar dahil olmak üzere, *candida* türlerinin çoğuna fungisidal etki gösterirler. Hücre duvarında glukana içermeyen *Cryptococcus neoformans*'a ve *Zygomycetes*'lere etkileri yoktur. En sık yan etkileri, flebit, transaminaz ve ALP yüksekliği, hemoglobin düşüklüğüdür. Oral biyoyararlanımlarının sınırlı olması nedeniyle sadece intravenöz formları mevcuttur. Ekinokandinlerin diğer *candida* türlerine göre *C. parapsilosis* suşlarına daha az etkin olduğu belirlenmiştir (138,145).

2.12.5. Allilaminler

Allilaminler "squalen epoksidaz" enzimini inhibe ederek ergosterol sentezini engellerler. Bu etki sonucunda, ergosterol eksikliğinden ziyade, skualenin yüksek konsantrasyonlarda birikmesine bağlı olarak ortaya çıkan, membran permeabilitesindeki artış sonucunda mantar hücresinin ölümü gerçekleşir. Bu grupta oral ve topikal kullanılan terbinafin ve sadece topikal kullanılan naftilin yer alır. Özellikle terbinafinin etki spektrumu geniştir (136).

2.12.5.1. Terbinafin

Terbinafin, yaygın olarak kullanılan lipofilik bir antifungal ilaçtır. Terbinafin azollerle kombine edildiğinde, azollere azalmış duyarlılık gösteren bazı *candida* kökenlerine karşı sinerjistik etki gösterebileceği gözlenmiştir. Terbinafin deri, tırnak, ve yağ dokusunda yüksek konsantrasyonlara ulaşır (136). Son yıllarda elde edilen veriler, flukonazole dirençli *Candida* enfeksiyonlarında, flukonazol-terbinafin kombinasyonuna yanıt alınabileceğini göstermektedir (136,146).

2.12.6. Griseofulvin

Griseofulvin dermatofit infeksiyonlarında kullanılan oral bir antifungaldir. Mantar hücrelerinin mikrotübüler proteinlerine bağlanıp mitozu baskılayarak etki gösterir. İlacın bulantı, baş ağrısı, diyare, hapatotoksisite, döküntü ve nörolojik belirtiler gibi yan etkileri vardır (108,136).

2.12.7. Yeni Antifungal Ajanlar

Günümüzde birçok antifungal ajan araştırma aşamasındadır. Bunlar nistatinin lipozomal formu, yeni triazol grubu ajanlar (ravukonazol, albokonazol), ekinokandinler (mikafungin), kitin sentez inhibitörü (nikomisin Z) ve sordarin ve azasordarin derivelere dir. Yeni ilaç geliştirilmesi çalışmalarında bu ilaçların daha az toksik olmasına, ilaç-ilaç etkileşiminin olmamasına ve belirli patojenlere karşı daha etkin olmalarına dikkat edilir (108,136).

2.13. *Candida* Türlerinde Antifungal Duyarlılık Testleri

Mantarlar için standart antifungal duyarlılık testlerinin geliştirilmesi için ilk çalışmalar 1982 yılında NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) tarafından başlatılmıştır. Bu adımın antibiyotik duyarlılık testlerine oranla çok daha geç atılmış olmasının ve 1980’li yıllardan itibaren antifungal duyarlılık testlerine ihtiyaç duyulmaya başlanmasının başlıca nedenleri şunlardır:

1) Mantar infeksiyonları, özellikle fırsatçı mikozlar, 1980’li yıllara kadar çok nadir görülmekteyken, daha sonraki yıllarda bağışıklık sistemi baskılanmış hasta popülasyonundaki göreceli artışla birlikte büyük önem kazanmıştır.

2) Tedavide kullanılacak antifungal ilaçlar bu yıllara kadar sadece birkaç tür iken, sonraları yeni ilaçlar geliştirilmiş ve kullanılacak antifungal ilaçların çeşitliliği artmıştır. Bu çeşitlilik, hangi ilacın hangi durumlarda kullanım endikasyonu olacağını belirlenmesini gerektirmiştir.

3) Bu gelişmeler, daha önceleri bilinmeyen ya da düşünülmeyen “antifungal ilaçlara direnç” kavramını da beraberinde getirmiş, tıpkı bakteri ve antibiyotikler için

olduğu gibi mantarlar ve antifungal ilaçlar için de primer ve kazanılmış (sekonder) direncin söz konusu olabildiği anlaşılmıştır (146).

CLSI (NCCLS)'nın antifungal duyarlılık testleri alt komitesi tarafından, 1997'de candida türleri için M27-A rehberi hazırlanmıştır. Yine 2002'de değişikliklerle M27-A2 rehberi yayınlanmıştır. Bu metodoloji, makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemlerini içermekte ve standardize etmektedir (147). Son olarak 2008 yılında M27-A3 yönergesi kullanıma girmiştir (148).

Mayalar İçin Antifungal Duyarlılık Deneyleri

Antifungal duyarlılığı belirlemek amacıyla kullanılan yöntemler tablo 7'de verilmiştir (149).

Tablo 7. Antifungal duyarlılık testleri (149)

Dilüsyon temeline dayanan	Difüzyon temeline dayanan	Diğer yöntemler
<ul style="list-style-type: none">• Makrodilüsyon*• Mikrodilüsyon*• Spektrofotometrik yöntemler• Kolorimetrik yöntemler• Agar dilüsyon	<ul style="list-style-type: none">• Disk difüzyon• E test	<ul style="list-style-type: none">• Ergosterol sentezinin kantitasyonu• Flovritometrik yöntem

* : CLSI'in referans kabul ettiği yöntemler

2.13.1. Dilüsyon Temeline Dayalı Yöntemler

2.13.1.1. Buyyon Makrodilüsyon Yöntemi

Bu amaçla genellikle pH indikatörlü RPMI 1640 besiyeri kullanılmaktadır. Antifungal ilaçlar önce kendilerine uygun çözeltiler içerisinde sulandırılır, filtrelerden süzülerek steril edilirler. Antifungal duyarlılık deneyi yapılacak olan mayanın steril SF içerisinde süspansiyonu yapılır. Deneyler tüplerde çalışılır. Deney tüplerine son konsantrasyonları hazırlanmış antimikotiklerden 0.1 mL konur, üzerine 0.9 mL maya içeren solüsyondan eklenir. Tüpler karıştırıldıktan sonra 35°C'de 46-50 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda ilaçlı besiyeri tüpleri, üreme kontrol tüpleri ile kıyaslanarak görsel olarak değerlendirilir. Buyyon makrodilüsyon testleri, mantar izolatlarına karşı tüm antifungal ajanları test etmek için yeterli bir yöntemdir. Örnek sayıları az olan küçük laboratuvarlar için uygundur. Bu yöntem yalnızca *candida* türleri, *Candida glabrata* ve *Cryptococcus neoformans* için standardize edilmiştir. Dimorfik mantarların maya şekillerine ve filamantöz (küf) mantarlarına uygulanmamıştır (150). Testin uygulanmasında önce ilaç stok solüsyonları hazırlanır. Stok solüsyonları hazırlanırken ilacın özelliğine göre su, dimetil sulfoksit (DMSO), dimetil formamit (DMF), etil alkol, polietilen glikol ve karboksimetilselüloz kullanılabilir. Steril stok solüsyonları, steril tüpler içerisinde küçük miktarlarda -20 °C ile -60 °C arasında 3-6 ay saklanabilir. Bu yöntem için kullanılacak besiyeri; glutamin ve pH indikatörü içeren, bikarbonatsız RPMI 1640 sentetik besiyeridir. Bu besiyeri, 0,165 M MOPS (3-N-morfolinopropan sulfonik asit) ile pH 7'ye ayarlanır. Bu besiyeri içerisinde hazırlanan maya inokulumunun 1/2000 sulandırılması yapılır. Hazırlanan maya inokulumu, test besiyeri ile 1/10 oranında sulandırılan antifungal ilaçların bulunduğu tüplere bırakılır ve tüpler karıştırılır. 35°C'de 46-50 saatlik inkübasyondan sonra görsel olarak değerlendirilir (150).

2.13.1.2. Buyyon Mikrodilüsyon Testi

Buyyon mikrodilüsyon testi, M27-A belgesine göre antifungal duyarlılık testleri içerisinde çok sık kullanılan test olmuştur. Prosedür olarak buyyon makrodilüsyon

yöntemine benzer ve test sonuçları arasında uyum görülür. 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. 2002 yılında NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) antifungal duyarlılık yöntemleri için M27-A2 kodu ile yöntem standardizasyonuna gitmiştir Bu yöntemde de makrodilüsyon yönteminde olduğu gibi önce ilaçların ve maya mantarlarının uygun sulandırılmaları hazırlanır. Deneyler U tabanlı 96 çukurlu steril mikropaklarda çalışılır. Kuyucuklara 100'er µL ilaç solüsyonu ve 100'er µL maya solüsyonu dağıtılır. Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 24-48 saat inkübe edilir. Test çukurları üreme kontrol çukuru ile görsel olarak karşılaştırılır. Buna göre elde edilen bulanıklık 0'dan 4'e kadar rakamla ifade edilir:

0: Bulanıklık yok

1: Hafif bulanık (kontrole göre % 0-25 bulanıklık olması)

2: Bulanıklıkta belirgin azalma (kontrole göre %25-50 bulanıklık)

3: Bulanıklıkta hafif azalma (kontrole göre %75-100 bulanıklık)

4: Bulanıklıkta azalma yok (kontrole göre %100 bulanıklık)

Bu kriterler göz önüne alınarak MİK değerleri amfoterisin B için hiç bulanıklığın olmadığı 0 değeridir. Azoller için ise 2 değeridir (150).

MİK direnç sınırları flukonazol, itrakonazol ve 5-flusitozin için kesin olarak belirlenmiştir. Buna göre flukonazol için MİK ≤ 8 µg/ml duyarlı, 16-32 arası doza bağımlı duyarlı, ≥ 64 dirençli olarak bildirilmiştir. Itrakonazol için MİK ≤ 0.125 µg/ml duyarlı, 0.25 - 0.5 arası doza bağımlı duyarlı, ≥ 1 ise dirençli olarak bildirilmiştir. 5 - flusitozin içinse MİK ≤ 4 µg/ml duyarlı, ≥ 32 dirençli olarak bildirilmiştir. Amfoterisin B, kaspofungin ve yeni azoller için kesin olarak bir MİK direnç sınır değeri belirlenememiştir. CLSI (Clinical and Laboratory Standarts Institute) ilaç MİK değerleri Tablo 8'de gösterilmiştir (150).

Tablo 8. CLSI Antifungal ilaç MİK değerleri

	S	I	R
Flusitozin	≤ 4	8- 16	≥ 32
Amfoterisin B	BELİRSİZ	BELİRSİZ	BELİRSİZ
Flukonazol	≤ 8	16- 32	≥ 64
Itrakonazol	≤ 0.125	0.25- 0.5	≥ 1

2.13.1.3. Kolorimetrik MİK Testleri

Mikrodilüsyon yöntemini esas alan, ancak MİK okunması için kolaylık ve daha objektif bir sonuç elde edebilmek amacıyla ortama bir oksidasyon - redüksiyon indikatörü ilave edilen yöntemlerdir. RPMI 1640 sıvı ortamına kolorimetrik indikatör eklenir ve geri kalan basamaklar ise mikrodilüsyon yöntemine benzer bir şekilde yapılır. Oksidasyon- redüksiyon indikatörü olarak birçok araştırmacı ticari Alamar mavisini kullanmıştır. Başlangıçta mavi olan bu madde mantarın üremesi ile kırmızı renge dönüşmektedir. MİK değeri kırmızı rengin oluşmasını önleyen en düşük ilaç konsantrasyonudur. İndikatör olarak tetrazolyum tuzları ve sodyum resazurin de kullanılabilir. Kolorimetrik MİK testleri üremenin görsel değerlendirildiği yöntemlere göre daha üstündür (150).

2.13.1.4. Ticari Olarak Geliştirilen Antifungal Duyarlılık Sistemleri

Günümüzde antifungal duyarlılık testlerinin hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılmasını amaçlayan, kullanıma hazır ticari sistem ve kitler geliştirilmektedir. Bu testler; VITEK Compact System, ATB Fungus (bioMerieux, Fransa), Candifast (International Microbio/Stago Group, İtalya), Fungitest (Bio-Rad SDP, Fransa) mikrodilüsyon yöntemini esas alan ticari sistemlerdir. Aralarında kullanılan besiyerleri ve denenen antifungal ilaçlar yönünden farklar vardır. M27-A metoduna uygun şekilde tasarlanmıştır (150).

2.13.1.5. Agar Dilüsyon Yöntemi

Agar dilüsyon testi, hem mayalar hem küfler için uygulanabilse de, mayalardan ziyade küfler için uygun bir yöntem olarak önerilmektedir. Flusitozin ve imidazollerin bu test ile verdikleri sonuçlar yüksek oranda inokulum büyüklüğüne, inkübasyon zamanına ve testte kullanılan besiyerine bağlıdır. Bu test *C.albicans* suşlarında imidazollere direnci göstermeyebilir. Bu yöntemde ilaç dilüsyonları agar besiyeri hazırlanırken içerisine 1/10 oranında ilave edilir. Üreme kontrolünün yapılabilmesi için de ilaçsız besiyeri

hazırlanır. Maya solüsyonu diğer yöntemlerdeki gibi hazırlanır. Bu solüsyonlardan besiyerine 1-3 µL ekim yapılır. Yapılan ekimler 30°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirme yapılır. MİK değerleri makroskopik olarak koloninin üremesini inhibe eden en düşük ilaç konsantrasyonu olarak belirlenir (150).

2.13.2. Difüzyon Temeline Dayalı Yöntemler

2.13.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Kolay, hızlı ve ucuz bir yöntemdir. *Candida* ve diğer maya cinslerine karşı flukonazol ve vorikonazol için dirençlilik belirlemede yararlıdır (147).

2.13.2.2. E Test

E test ticari olarak uygulanabilen antifungal duyarlılık testidir. Plastik stripler üzerine çeşitli konsantrasyonlarda emdirilen antifungal ilaçların 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. 1996 yılında yapılan çalışmalarda E testinin MİK değerleri, referans makrodilüsyon MİK değerleri ile amfoterisin B, itrakonazol, flukonazol ve flusitozin için %86 ile %100 oranında uyumlu bulunmuştur. Ketokonazolde uyum daha düşük oranlardadır (150,151).

2.13.3. Antifungal Duyarlılık Saptamada Kullanılan Diğer Yöntemler

a) Ergosterol biyosentezinin önlenmesini ölçen test, azoller için kullanılır ve CLSI ile yüksek uyumludur.

b) Üreme olması ya da olmamasına göre XTT, MTT gibi tetrazolyum bromür, tetrazolyum hidroksit boyalarının kolorimetrik ayıraç olarak renk değiştirmelerine dayanan testlerdir.

c) Hücre içi ATP yoğunluğunu ölçerek ilacın etkinliğini belirleyen bir testtir (147).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 04-049 sayılı ve 24.02.2011 tarihli kararı ile etik kurul onayı alınmıştır.

Bu çalışmada, 1 Mart 2009- 1 Temmuz 2011 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin değişik kliniklerinden Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 175 *candida* suşu, tür tanımlanması ve antifungal duyarlılıkların saptanması için değerlendirmeye alınmıştır. Hastaların, yaşı, cinsiyeti, yattığı klinik, *candida* enfeksiyonu için risk faktörleri gibi bazı epidemiyolojik bilgileri kaydedilmiştir.

Çalışmada kontrol suşları olarak *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. krusei* ATCC 6258 kullanılmıştır. Suşlar Refik Saydam Hıfzıssıhha Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Bu çalışmada hassas terazi, cam mezür, otoklav, steril petri kutuları, buzdolabı, -80 °C' lik derin dondurucu, öze, pipet, ışık mikroskobu, lam, lamel, etüv, enjektör, vortex, Mc Farland cihazı, VITEK cihazı gibi araç ve gereçler kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

Kanlı agar, EMB agar, Sabouraud dekstroz agar, mısır unu tween 80 agar, distile su, insan serumu, CAN2 (chromID, bioMérieux), API 20C AUX (bioMerieux, Inc) maya identifikasyon sistemi, ATB FUNGUS 3 (bioMerieux, Fransa) antifungal duyarlılık sistemi, VITEK 2 Compact System (bioMérieux, Inc.) ve VITEK 2 Compact System Antifungal duyarlılık kartları (bioMérieux, Inc.) kullanıldı.

3.2.1. Boyalar ve Kimyasal Çözeltiler (151)

a. Kristal Viyole Eriği:

Kristal viyole	1 gr
Asit fenik kristal	2 gr
%96' lık etil alkol	10 ml
Saf su	100 ml

Kristal viyole bir havan içerisinde ezilerek üzerine yavaş yavaş etil alkol ve asit fenik kristalleri ilave edildi. Karıştırılarak eritilirken saf suyun 2/3' ü eklendi. Eriyik dereceli bir mezüre konuldu. Artan su ile havan çalkalanarak mezüre aktarıldı ve hacim 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan eriyik 24 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra süzgeç kağıdından süzülerek şişelere konuldu.

b. İyot Eriği

İyot kristalleri	1 gr
Potasyum iyodür	2 gr
Saf su	300 ml

İyot kristalleri ve potasyum iyodür bir havan içerisinde ezilerek karıştırıldı, üzerine saf su eklenerek eritildi. Süzgeç kağıdından süzülerek şişelere konuldu.

c. Sulu Fuksin Eriği

Fenollü karbol fuksin	20 ml
Saf su	180 ml

Fenollü karbol fuksin ve saf su karıştırıldı, şişelere aktarıldı.

3.2.2. Besiyerleri:

a) KanlıAgar Besiyeri (Blood Agar, HiMedia):

Tryptose	10 gr
Sodium Chloride	5 gr
Agar	5 gr

Distile su	1000 ml
Defibrine insan kanı	%7

1000 ml distile su içerisinde 40.0 gram kanlı agar besiyeri eklendi. Besiyeri prosedüre uygun olarak hazırlandıktan sonra besiyeri pH=7.3'e ayarlanarak, 121°C' de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C' ye soğutulduktan sonra yoğunluğu %7 olacak şekilde defibrine insan kanı eklendi ve 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C' de saklandı.

b) Eosine-Metilen-Blue Agar (EMB Agar, Himedia):

Pepton	10 gr
Dipotasyum fosfat	2 gr
Lactose	10 gr
Eosin-Y	0.4 gr
Methylene blue	0.065 gr
Agar	15.00 gr
Distile su	1000 ml

1000 ml distile su içerisinde 37.5 gram EMB agar besiyeri eklenir. Besiyeri prosedüre uygun olarak hazırlandıktan sonra, pH=7.2'e ayarlanarak, 121°C' de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C'ye soğutulduktan sonra, 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C' de saklandı.

c) Sabouraud Dextrose Agar Besiyeri (SDA, Oxoid)

Mycological Pepton	10 gr
Glucose	40 gr
Agar	15 gr
Saf su	1000 ml

1000 ml distile su içerisinde 65 gram Sabouraud Dextrose Agar besiyeri eklendi. Besiyeri, pH=5.6' ya ayarlanarak, 121°C' de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C' ye soğutulduktan sonra, 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C' de saklandı.



Resim 1. EMB Agar Besiyerinde *C.kefyr* Türlerinin Metalik Yeşil Röfle Oluşturması

EMB agar besiyerinde *C.kefyr* türlerinin metalik yeşil röfle oluşturduğu ve bu özelliğin tür tanımında kullanılabileceği bildirilmiştir (152) .Çalışmamızdaki üç adet *C. kefir* izolatu EMB agar besiyerine ekilerek, röfle oluşumu gösterilmiştir.

d) Corn Meal (Mısır-unu) Agar Besiyeri (Oxoid)

Corn Meal Extract 2 gr

Agar 15 gr

1000 ml distile su içerisine 17.0 gram corn meal agar eklendi. 65°C’de besiyeri eritildi. İçerisine 10 ml Tween 80 eklenerek 121°C’de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C’ ye soğutulduktan sonra, 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılmaya kadar +4°C’ de saklandı.

3.3. İzolasyon ve İdentifikasyon

3.3.1 Primer İzolasyon

Mikrobiyolojik inceleme amacıyla laboratuvarımıza gönderilen örnekler, rutin besiyerlerine ekildi. Etüvde 24-48 saat inkübe edilen örneklerden, gram boyaması

yapılarak, gram (+) maya hücreleri saptanan kültürlerden SDA besiyerine pasaj yapıldı. Bactec (bioMerieux) otomatize kan kültürü sisteminde üreme gösteren kan kültürü şişelerinden yapılan ekimler sonucu maya üremesi gösteren örnekler aynı şekilde SDA besiyerine pasaj yapıldı. İnkübasyon sonunda krem-sarı renkli, hamurumsu-mukoid yapıdaki, kendine özgü maya kokusu veren ve saf olduğundan emin olunan koloniler %15 gliserinli triptik soy broth agar içeren eppendorflara ekim yapıldı ve -80°C’de saklandı. Saklanan suşlar kullanılacakları zaman, tekrar SDA’ya pasajlanarak saf olduklarından emin olduğunda çalışmaya dahil edildi.

3.3.2 İdentifikasyon

İzole edilen *candida* türlerinin tanımlanması amacıyla koloni görünümü ve yapısı, germ tüp testi, mısır unu (Corn Meal) tween 80 agardaki morfolojik görünümü değerlendirildi. Daha sonra hızlı identifikasyonu sağlayan API 20C AUX ticari sistemi ile VITEK 2 Compact System kullanıldı.

3.3.2.1 Germ Tüp (Çimlenme Borusu) Testi

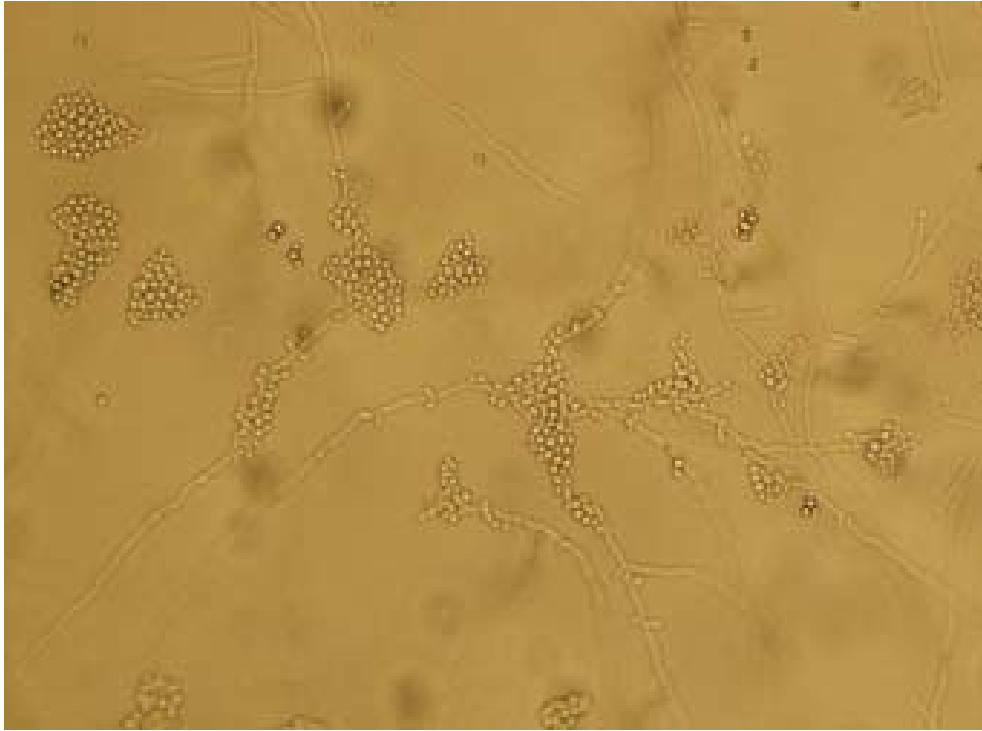
Test edilecek olan *candida* kolonisinden öze ile bir miktar alınarak 0.5 ml insan serumu içerisinde süspansiyon yapıldı. 37°C’de maksimum 3 saat inkübe edildikten sonra süspansiyonundan bir damla alınarak lam-lamel arasında ışık mikroskopunda X40 lık büyütmede incelendi. Maya hücresinden çıkan, maya hücresinin yarısı kadar genişlikte, 3-4 katı uzunlukta olan, başlangıç noktasında boğumlanma olmayan ve uzunluğu boyunca belirgin kabarıklık göstermeyen filament şeklindeki uzantılar germ tüp olarak değerlendirildi. Germ tüp oluşturan maya suşları *C. albicans* olarak tanımlandı (123).

3.3.2.2 Mısır unu-Tween 80 Agar Besiyerinde Mikroskopik Görünümün İncelenmesi

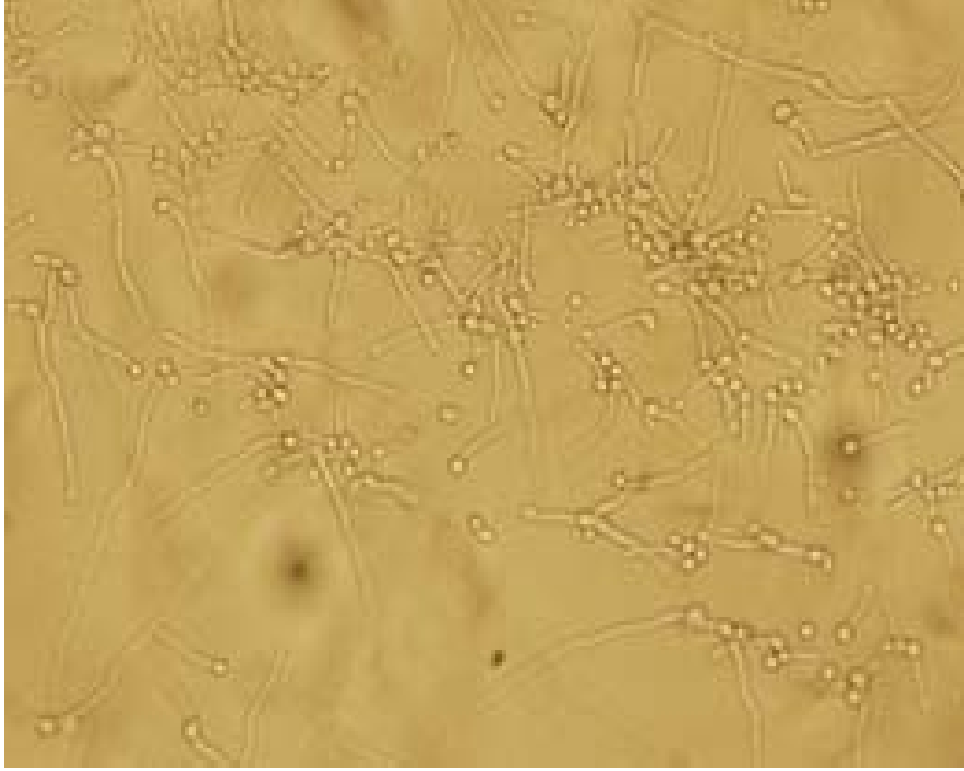
Mısır unu-Twen 80 agara (Oxoid, England) Dalmau tekniğine uygun olarak ekim yapıldı. İğne uçlu öze ile saf maya kolonilerinden bir miktar alınarak birbirine

paralel 3-4 cm uzunluğunda dört çizgi şeklinde ince bir çizgi ekimi yapıldı. Ekim yapılırken özeyi dibe kadar batırmamaya ve besiyerini yırtmamaya özen gösterildi. Ekim çizgilerinin üzerine alevde steril edilip soğutulmuş lamel kapatılarak 26°C'de 72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda ekimler ışık mikroskobunda 10x ve 40x objektif ile incelendi (153).

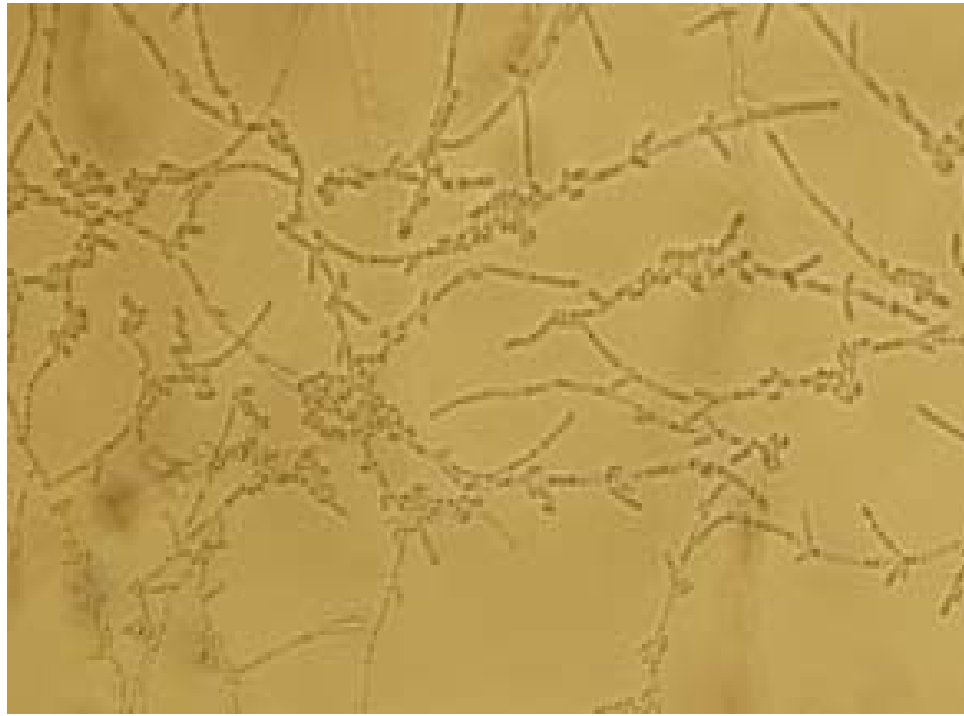
Yalancı ve gerçek hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler oluşturmuş yuvarlak blastokonidyumlar ve hif uçlarında türe özgü kalın duvarlı, tek veya birkaç klamidospor görülmesi *C. albicans*, yalancı hif boyunca tek tek veya bazen küçük kümeler yapacak biçimde dizilmiş blastokonidyumlar ve arada iri hifler *C. parapsilosis*, yalancı hifler ve uzun ağaca benzer dizilim gösteren blastokonidyumlar *C. krusei*, yalancı hif boyunca tek tek veya küçük kümeler oluşturmuş yuvarlağımsı blastokonidyumlar, bazen yalancı hif uçlarında klamidospora benzer ancak ince duvarlı hücreler *C. tropicalis*, yalancı veya gerçek hif oluşturmayan, küçük, oval, tomurcuklanan blastokonidyumlar *C. glabrata* lehine değerlendirildi (19).



Resim 2. *C. albicans* (çalışmamızdan)



Resim 3. *C. tropicalis* (çalışmamızdan)



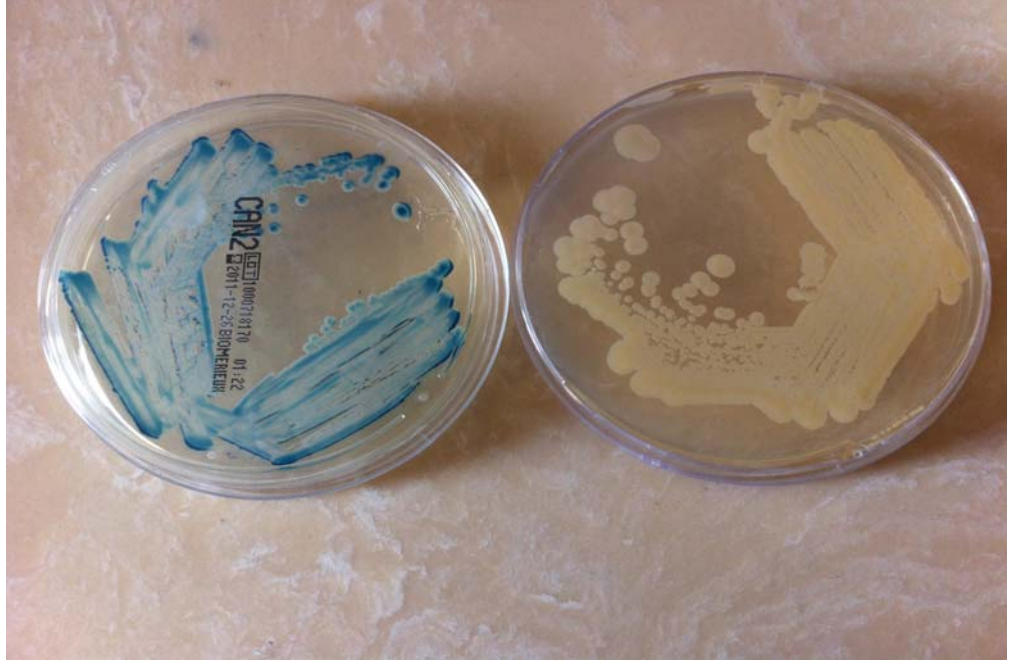
Resim 4. *C. krusei* (çalışmamızdan)



Resim 5. *C. glabrata* (çalışmamızdan)

3.3.2.3 Kromojenik Besiyeri

Kromojenik besiyeri olarak, CAN2 (chromID, bioMérieux, Marcy l'Étoile, France) agar besiyeri kullanıldı. Test edilecek *candidalar* kromojenik agar besiyeri üzerine ekildi ve 37°C'de 10 güne kadar inkübe edildi. Günlük olarak kolonilerdeki renk değişimi takip edildi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, mavi koloniler *C. albicans*, pembe renkli koloniler *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* ve *C. kefyr* olarak değerlendirildi. Beyaz renkli koloniler diğer türler olarak değerlendirildi.



Resim 6. Solda kromojenik besiyerindeki, sağdaki SDA besiyerindeki *C. albicans*

3.3.2.4. BactiCard® *Candida* (Remel)

BactiCard® *Candida* testi sadece *C. albicans* tarafından üretilen L-prolin aminopeptidaz ve β -galaktozaminidaz enzimlerinin saptanması ilkesine dayanmaktadır ve 30 saniyede yanıt alınabilmektedir. BactiCard® *Candida* 2 ayrı test halkasından oluşmaktadır. Üstteki PRO çerçevesi L-proline- β -naphtylamide substratı içermektedir. İncelenen *Candida* izolatında L-proline aminopeptidaz enzimi var ise substrat hidrolize olur. Color Develpor reaktifi damlatıldığında kırmızı renk haline gelir. Altta bulunan MUGAL halkası 4-methylumbelliferyl-N-acetyl- β -D-galaktozaminidine substratını içermektedir. Eğer incelenen *Candida* izolatında β -galaktoz-aminidaz enzimi var ise 4-methylumbelliferone ortama salınır. Mugal Reagent damlatıldığında uzun ultraviyole ışık altında flöresan röfle verir (12, 155).

Kullanım Bilgileri

BactiCard® *Candida* kartına incelemek suş numarası yazılır. Bir damla BactiCard® *Candida* rehidrate sıvısından her iki çerçeveye damlatılır. İncelemek izolat aplikatör ile her iki çerçeveye inoküle edilir. Beş dakika oda ısısında inkübe edilir. Bir

damla BactiCard® *Candida* Color Develpor PRO çerçevesine damlatılır. 30 saniye içerisinde kırmızı renk görülmesi pozitif olarak değerlendirilir. Bir damla BactiCard® *Candida* Mugal Reagent MUGAL halkasına damlatılır. Karanlık bir odada ultraviyole ışık altında mavi flöresan vermesi pozitif kabul edilir. Sadece *C.albicans* ve *C.dublinsiensis* türlerinde her iki test pozitifdir. Diğer maya türlerinde PRO ya da MUGAL testlerden birisi pozitif olabilir. Bu tür maya izolatlarının identifikasyonu için daha ileri testler gerekmektedir.



Resim 7. BactiCard® *Candida* kartında üstte bulunan çerçevede solda PRO (+), sağda PRO (-) *Candida* suşları



Resim 8. BactiCard® *Candida* kartında altta bulunan çerçevedeki solda MUGAL (+), sağda MUGAL (-) *Candida* suşları UV ışığı altındaki görüntüleri

3.4. API 20C AUX İdentifikasyon Sistemi İle İnceleme

API 20C AUX sık karşılaşılan 43 maya türünü 48-72 saat tanımlanmasını sağlayan bir sistemdir. Bu sistem 20 mikrokuyucuk içerir. Bu kuyucukların ilki kontrol kuyucuğu olup diğer 19 kuyucuk karbonhidrat asimilasyon testlerini kapsar. Test edilen karbonhidratlar: glukoz, gliserol, calcium 2-keto-D-glukonat, L-arabinoz, D-ksiloz, adonitol, ksilitol, galaktoz, inozitol, sorbitol, α -metil-D-glukosid, N-asetil-D-glukozamin, selobiyoz, laktoz, maltoz, sükroz, trehaloz, melibiyoz ve rafinozdur. Mayalar inoküle edildikleri mikro kuyucuktaki karbonhidratı karbon kaynağı olarak kullanıyorsa, o kuyucukta üreme olur. Karbonhidrat asimilasyon yetenekleri 24,48 ve 72 saatte değerlendirilerek sonuç verilir.

Tablo 9. API 20C AUX Test Strip İçeriği

Testler	Aktif Maddeler	Miktar (mg/küpül)
0	Boş	-
GLU	D-Glucose	1.2
GLY	Glycerol	1.2
2KG	Calcium 2-Keto-Gluconate	1.2
ARA	L-Arabinose	1.2
XYL	D-Xylose	1.2
ADO	Adonitol	1.2
XLT	Xylitol	1.2
GAL	D-Galactose	1.9
INO	Inositol	2.36
SOR	D-Sorbitol	1.2
MDG	Methyl- α D-Glucopyranoside	1.2
NAG	N-Acetyl-Glucosamine	1.2
CEL	D-Celiobiose	1.2
LAC	D-Lactose	1.2
MAL	D-Maltose	1.2
SAC	D-Saccharose (sucrose)	1.2
TRE	D-Trehalose	1.2
MLZ	D-Melezitose	1.2
RAF	D-Raffinose	1.9

Kullanım Bilgileri

Stripin hazırlanması

- Bir inkübasyon kutusu hazırlandı (kap ve kapak) ve nemli bir atmosfer oluşturmak için bu kabın peteklerine yaklaşık 5 ml distile su dağıtıldı.
- Kabın tabanı üzerine suş numarası kaydedildi.

- Strip, paketten çıkartıldı ve inkübasyon kutusuna yerleştirildi.

Ekimin hazırlanması

- Kit içerisinde mevcut olan API Suspension Medium (2 ml) ampülü açıldı.
- Bir pipet kullanılarak 18-24 saatlik taze kültürlerden bir miktar maya kolonisi alındı.
- Türbiditesi 2 McFarland'a eşdeğer bir süspansiyon yapıldı.
- API C Medium ampülü (damlatıcı kapağı olmayan ampul) açıldı. Türbiditesi 2 McFarland olan süspansiyondan 100µl alınıp, API C Medium ampülüne aktarıldı. Baloncuk oluşması engellenerek yavaşça pipet ile homojenize edildi.

Stribin inokülasyonu

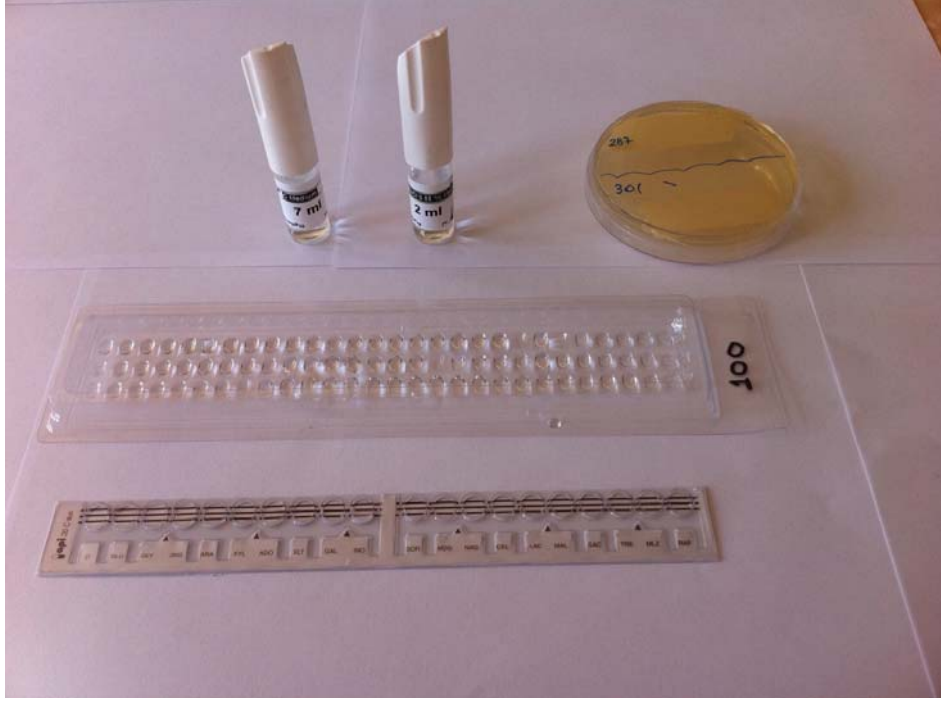
- Kúpüller API C Medium içinde elde edilen süspansiyon ile dolduruldu. Kúpüllerin yetersiz ya da aşırı doldurulmuş olmamasına dikkat edildi.
- Kapak kapatılıp, 48-72(± 6 saat) süreyle 29°C (± 2°C)'de inkübe edildi.

Stribin okunması

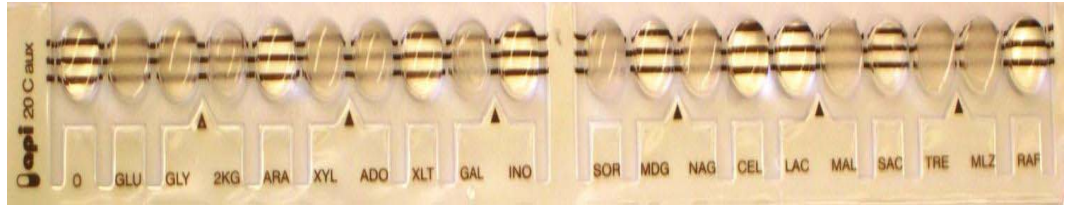
48 saat inkübasyondan sonra 0. kúpüle göre her kúpül karşılaştırıldı. 0 kúpülü negatif kontrol olarak kullanılır. Kontrol kúpülden daha bulanık olan kúpül pozitif olarak değerlendirilir. Eğer testler özellikle glukoz 48 saat sonra belirgin değil ise okuma için 72. saat beklenir. Mısır unu-tween 80 agardaki morfolojik görünümüne göre hif veya pseudohif saptanması pozitif kabul edildi.

Değerlendirme

Test prosedürüne göre değerlendirme için Apiweb™ tanımlama yazılımı kullanıldı. Bilgisayar klavyesi üzerinden + ve - değerler girilerek sonuçlar değerlendirildi.



Resim 9. API 20C AUX (*Candida* İdentifikasyon) Test Stribi



Resim 10. API 20C AUX Test Stribindeki Kuyucuklardaki Bulanıklık

3.5. ATB Fungus 3 Antifungal Duyarlılık Testi

ATB FUNGUS 3 (bioMeriux, Fransa) sistemiyle *candida* türleri ve *Cryptococcus neoformans* gibi mayaların antifungal duyarlılık testleri yapılmaktadır. Bu test sistemi, içerisinde antibiyotiklerin bulunduğu yarı katı besiyerlerinden oluşur. EUCAST ve CLSI önerilerindeki referans mikrodilüsyon metodlarına benzer bir testtir.

Prensibi

ATB FUNGUS 3 sribinde 16 çift küpül bulunur. İlk çift antifungal ajan içermez ve pozitif üreme kontrolü olarak görev yapar. Diğer 15 çiftte MİK ve/veya klinik duyarlılık kategorisi saptayabilen çeşitli konsantrasyonlarda 5 antifungal ajan bulunur. (5 flusitozin, amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol) içermektedir.

Değişik oranlarda antifungal ajanlar içeren kuyucuklardan 5-flusitozin için 2, amfoterisin B için 6, flukonazol için 8, itrakonazol için 6 kuyucuk ve vorikonazol için 8 kuyucuk ayrılmıştır. Testte antifungaller için belirlenen MİK değer aralıkları sırasıyla; flusitozin için 0.5-64, amfoterisin B için 0.5-16, flukonazol için 1-128 ve itrakonazol için ise 0.125-4 ve vorikonazol için 0.06-8 mg/l'dir.

Kullanım Bilgileri

Strip ambalajından çıkarıldı, üzerine test edilecek maya suş numarası yazıldı.

İnokulumun hazırlanması

- API Süspansiyon Medium ampülü açıldı
- Pipet kullanılarak 18-24 saatlik taze kültürlerden bir miktar maya kolonisi alınır, türbiditesi 2 McFarland'a eşdeğer bir bulanıklık seviyesine sahip süspansiyon hazırlanır.
- Bir pipet kullanarak hazırlanan süspansiyondan 20µl ATB F2 Medium ampülüne eklenir.

Stripin inokulasyonu

- Kabarcık oluşumundan kaçınılması için ATB Elektronik Pipet ile ATB F2 Medium homojenize edildi.
- Her bir küpül içine 135µl ATB F2 Medium (yaklaşık 4×10^3 maya/küpül) dağıtılarak strip inoküle edildi.
- Stripin üzerine kapağı kapatıldı. 35 °C(± 2°C)'de 24 saat(± 2 saat) aerobik

koşullarda inkübasyona bırakıldı.

Okuma ve Yorumlama

- Kontrol küpülünde üremenin yeterli olup olmadığı kontrol edildi.
- Kuyucuklardaki üremeyi daha kolay görebilmek için stripin altına siyah renk bir kağıt bırakıldı.

MİK saptanması (AMB, FCA, ITR, VRC)

Kontrol kuyucuklarındaki üremeye göre diğer kuyucuklardaki üremeler görsel olarak değerlendirildi ve kuyucuklardaki üremeler yüksekten düşüğe göre skorlanarak, 4- 3- 2- 1- 0 gibi değerler verildi (Tablo 10).

Tablo 10. ATB FUNGUS 3 sisteminde skorlama

Tanım	Puan
Üremede azalma yok	4
Üremede hafif azalma	3
Üremede belirgin azalma	2
Çok düşük üreme	1
Üreme yok	0

Flusitozin (5FC) değerlendirmesi

Her küpüldeki üreme gözlenir.

Tablo 11. Flusitozin Değerlendirmesi

Üreme Puanı		Sonuçlar		Suş
c	c	c	c	
0/1/2	0/1/2	-	-	S Duyarlı
3/4	0/1/2	+	-	I Orta Duyarlı
3/4	3/4	+	+	R Dirençli

Bu skorlamaya göre 5- flusitozin, flukonazol ve itrakonazol için üremenin en düşük olduğu (skor:“2”, “1”veya “0”) kuyucuğa denk gelen MİK değeri, amfoterisin B de ise üremenin tamamen inhibe olduğu (skor: “0”) kuyucuğa denk gelen MİK değeri dikkate alındı. Böylece çalışılan *candida* türlerinin antifungallere karşı MİK değerleri belirlendi. Sonuçlar CLSI (NCCLS)’in belirlediği MİK değerleri doğrultusunda duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) şeklinde verildi (Tablo 12). Amfoterisin B için MİK aralığı belirlenmezken MİK \geq 2 mg/l değerler dirençli kabul edildi.

Tablo 12. *Candida* türleri için CLSI/ NCCLS’in belirlediği sınır MİK değerleri (mg/l)(150)

Antifungal	Duyarlı (S)	Orta Duyarlı (I)	Dirençli (R)
Flusitozin	≤ 4	8- 16	≥ 32
Amfoterisin B	Belirsiz	Belirsiz	Belirsiz
Flukonazol	≤ 8	16- 32	≥ 64
Itrakonazol	≤ 0.125	0.25- 0.5	≥ 1
Vorikonazol	≤ 1	2	≥ 4



Resim 11. ATB FUNGUS 3 (Antifungal Duyarlılık) Test Stribi

3.6. VITEK 2 Compact System

İzole edilen *candidalar*ın tanımlanması ve antifungal duyarlılık tespiti amacıyla ikinci yöntem olarak VITEK 2 Compact System (bioMérieux, Inc.) kullanıldı.

Sistemde, identifikasyon amacıyla 64 kuyucuk içeren identifikasyon kartlarında (YST) karbon kaynağı kullanımı, azot kaynağı kullanımı ve enzimatik aktiviteleri ölçen 46 biyokimyasal test mevcuttur. Sonuçlar yaklaşık 18 saat içinde elde edilir.

Cihaz identifikasyon kartlarında, her kuyu için 15 dakikada bir optik okuma gerçekleştirir. Bu ham değerler (test kuyularının ışık yansımalarına oranı) cihazın ilk kartı okumasına (temel okuma) oranlanarak yüzde değişimi bulunur. Her kuyu için bu değişim oranı, o kuyuya ait eşik değeriyle karşılaştırılarak testin pozitif olup olmadığını ortaya çıkarır. Yüzde değişim oranı eşik değere eşit veya daha büyük ise test pozitifdir. Pozitif ve negatif sonuçlar biyolojik sayıya çevrilir. Organizma identifikasyonu, test edilen kimyasalların cihazın veritabanında yer alan biyolojik sayıya yaklaşıma olasılığına çevirmesi ile gerçekleştirilir.

Tablo 13. Vitek 2 Compact System Yeast İdentifikasyon Kart İçeriği

Kuyucuk	Test	Miktar/ Kuyucuk
3 LysA	L-Lizin-Arilamidaz	0.0228 mg
4 IMLTa	L-Malat asimilasyonu	0.15 mg
5 LeuA	Lösin-Arilamidaz	0.0234 mg
7 ARG	Arginin	0.15 mg
10 ERYa	Eritritol asimilasyonu	0.3 mg
12 GLYLa	Gliserol asimilasyonu	0.16 µL
13 TyrA	Tirosin arilamidaz	0.0276 mg
14 BNAG	Beta-N-Asetil Glikozaminidaz	0.0408 mg
15 ARBa	Arbutin asimilasyonu	0.3 mg
18 AMYa	Amygdalin asimilasyonu	0.3 mg
19 dGALa	D-Galaktoz asimilasyonu	0.3 mg
20 GENa	Gentibiyoz asimilasyonu	0.3 mg
21 dGLUa	D-Glikoz asimilasyonu	0.3 mg
23 LACa	Laktoz asimilasyonu	0.96 mg
24 MAdGa	Metil-A-D-Glukopiranosid asimilasyonu	0.3 mg
26 dGELa	D-Selobiyoz asimilasyonu	0.3 mg
27 GGT	Gama-Glutamil-Transferaz	0.0228 mg
28 dMALa	D-Maltoz asimilasyonu	0.3 mg
29 dRAFa	D-Rafinoz asimilasyonu	0.3 mg
30 NAGA1	PNP-N-Asetil-BD-galaktozaminidaz	0.0306
32 dMNEa	D-Mannoz asimilasyonu	0.3 mg
33 dMELa	D-Melibiyoz asimilasyonu	0.3 mg
38 ISBEa	L-Sorboz asimilasyonu	0.3 mg
39 IRHAa	L-Ramnoz asimilasyonu	0.3 mg

Tablo 13. Vitek 2 Compact System Yeast İdentifikasyon Kart İçeriği (devamı)

40 XLTa	Ksilitol asimilasyonu	0.3 mg
42 dSORa	D-Sorbitol asimilasyonu	0.1875 mg
44 SACa	Sakkoaroz/ Sükroz asimilasyonu	0.3 mg
45 URE	Üreaz	0.15 mg
46 AGLU	Alfa-glikosidaz	0.036 mg
47 dTURa	D-Turanoz asimilasyonu	0.3 mg
48 dTREa	D-Trehaloz asimilasyonu	0.3 mg
49 NO3a	Nitrat asimilasyonu	0.03 mg
51 IARAA	L-Arabinoz asimilasyonu	0.3 mg
52 dGATa	D-Galakturonat asimilasyonu	0.15 mg
53 ESC	Eskülin hidroliz	0.225 mg
54 IGLTa	L-Glutamat asimilasyonu	0.15 mg
55 dXYLa	D-Ksiloz asimilasyonu	0.3 mg
56 LATa	DL-Laktat asimilasyonu	0.15 mg
58 ACEa	Asetat asimilasyonu	0.15 mg
59 CITa	Sitrat (Sodyum) asimilasyonu	0.15 mg
60 GRTas	Glukuronat asimilasyonu	0.15 mg
61 IPROa	L-Prolin asimilasyonu	0.15 mg
62 2KGa	2-Keto-D-Glukonat asimilasyonu	0.15 mg
63 NAGa	N-Asetil-glikozamin asimilasyonu	0.15 mg
64 dGNTa	D-Glukonat asimilasyonu	0.15 mg

Bu tabloda belirtilmeyen 1 ile 64 arasındaki diğer kuyucuk numaraları boştur.

3.6.1. VITEK 2 Compact System Antifungal Duyarlılık Kartları

VITEK 2 Compact System antifungal duyarlılık kartları (AST-YST01); bir dizi çift dilusyonda **Flukonazol** 1, 4, 8, 16 µg/ml kuyularına sahip olarak, MİK 1 - 64 µg/ml raporlanabilir aralığı, **Amfoterisin B** 1, 4, 16, 32 µg/ml kuyularına sahip olarak, MİK 0.25-16 µg/ml raporlanabilir aralığı, **Flusitozin** 4, 8, 16, 64 µg/ml kuyularına sahip olarak, MİK 1 - 64 µg/ml raporlanabilir aralığı ve **Vorikonazol** 0.5, 1, 4, 8 µg/ml kuyularına sahip olarak, MİK 0.12- 8 µg/ml raporlanabilir aralığı içerir. VITEK 2 okuyucusu, 0 ile 15 saat arasında 15 dakikalık zamanlarda her bir kuyudan geçen ışık miktarını ölçer. Kuyulardaki üreme ışığın daha az geçmesine sebep olur, her bir değişiklik hafızaya alınarak 16-18 saatlik inkubasyon sonunda MİK sonuçları saptanır. VITEK 2 sistemi MİK değerini CLSI'e göre yorumlar.

Bu çalışmada daha önceden izole edip endorflara sakladığımız saf kültürlerden Sabouraud-Dekstroz agar plaklarına pasaj yapıldı. 18-72 saat arası kültür yaşı olan kolonilerden VITEK 2 Compact System için inokulum süspansiyonu, polistrene tüplerde 2.5 ml steril serum fizyolojik içinde 2.0 McFarland (1.80- 2.20 aralığı) olacak şekilde bioMérieux DensiChek ile ölçülerek hazırlandı. Plastik (polistren) tek kullanımlık test tüpleri 12 mm X 75 mm boyutlarında olmalıdır. Hazırlanan süspansiyonlar 30 dakika içerisinde kullanılmalıdır. İnokulumlu tüpler tek numaralı kartuşlara yerleştirildi. Çift numaralı kartuşlara boş tüp konuldu. Tek numaralı tüplere VITEK YST kartları, çift numaralı tüplere VITEK 2 AST-YST antifungal duyarlılık kartları yerleştirildi. Sırayla kartların barkodları okutulduktan sonra cihaza yerleştirildi. Cihaz otomatik olarak kartlara vakum yaparak dolum yaptırır ve kartları inkubatöre transfer eder. İnkubasyon süresi 18 saattir.



Resim 12. VITEK 2 Compact System İdentifikasyon ve Antifungal Duyarlılık Kartları



Resim 13. VITEK 2 Compact System

3.7. RapID™ Yeast Plus System (Remel)

Rapid Yeast Plus sistemi sık karşılaşılan maya türlerinin 4 saatte tanımlanmasını sağlayan konvansiyonel ve renk veren substratları içeren 18 kuyucuktan oluşan bir paneldir. Tanımlanması istenen suşun kültürü 3 McFarland standart bulanıklığında hazırlanarak kuyucuklara dağıtılır. Panel 30°C’de 4 saat inkübe edildikten sonra bazı kuyucuklara reagent damlatılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda oluşan renk değişiklikleri gözle okunur, pozitif ve negatif olarak değerlendirilir. Bilgisayar ortamında veriler değerlendirilir (156).

Tablo 14. RapID™ Yeast Plus System Test İçeriği

Kuyucuk	Test kodu	Aktif Maddeler
1	GLU	Glukoz
2	MAL	Maltoz
3	SUC	Sükroz
4	TRE	Trehaloz
5	RAF	Raffinoz
6	LIP	Yağ asit esteri
7	NAGA	ρ -Nitrofenil-N-asetil- β ,D-galaktozamin
8	α GLU	ρ -Nitrofenil- α ,D-glukozid
9	β GLU	ρ -Nitrofenil- β -D-glukozid
10	ONPG	σ -Nitrofenil- β ,D-galaktozid
11	α GAL	ρ -Nitrofenil- α ,D-galaktozid
12	β FUC	ρ -Nitrofenil- β ,D-fukozid
13	PHS	ρ -Nitrofenil-fosfat
14	PCHO	ρ -Nitrofenil-fosforilkolin
15	URE	Üre
16	PRO	Prolin- β -naftilamid
17	HIST	Histidin β -naftilamid
18	LGY	Lösil-glisin β -naftilamid



Resim 14. RapID™ Yeast Plus System

3.8. İstatistiksel Analizler

Elde ettiğimiz veriler, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 11.5 paket programı kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel analizlerde ki-kare testi ve Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. İki yöntem arasındaki uyumun düzeyini görmek için Pearson Correlation testi kullanıldı. P değeri sınır düzeyinin (0.05) altında ise değişkenler arasında tesadüfe bağlı olmayan gerçek bir farkın olduğu kabul edildi.

4. BULGULAR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin değişik kliniklerinden Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 175 *candida* suşu, tür tanımlanması ve antifungal duyarlılıkların saptanması için değerlendirmeye alınmıştır.

Hastaların yaş ortalaması 37 ± 31.2 yaş, en küçük yaş 15 günlük ve en büyük yaş 92 olarak saptanmıştır. Her hastaya ait tek bir örnek çalışmaya alınmıştır. 175 *candida* suşunun 93'ü (%53.5) erkek hastalardan, 82'si (%46.9) kadın hastalardan izole edilmiştir. İzole edilen suşların cinsiyet dağılımına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p \geq 0.05$). Yaş dağılımında 50 yaş ve üstü anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). *Candida* suşlarının elde edildiği hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı tablo 15'de gösterilmiştir.

Tablo 15. *Candida* Suşlarının Elde Edildiği Hastaların Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Yaş	Kadın(n=82)		Erkek(n=93)		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-1	17	9.7	12	6.8	29	16.5
1-18	13	7.4	28	16	41	23.4
18-50	22	12.5	10	5.7	32	18.2
50↑	30	17.1	43	24.5	73	41.6

Hastaların 94'ü (%53.7) yoğun bakım ünitelerinden, 47'si (%27) dahili servislerden, 26'sı (%14.7) cerrahi servislerden, 8'i (%4.6) polikliniklerden izlenmiştir. Hastaların buldukları servislere göre dağılımı tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16. Hastaların Servislere Göre Dağılımı

Servisler	Sayı	%
Anestezi yoğun bakım	46	26,3
Çocuk yoğun bakım	33	18,9
Göğüs hastalıkları servisi	19	10,9
Çocuk hastalıkları ve sağlığı serv.	12	6,9
Koroner yoğun bakım	10	5,7
Çocuk hematoloji servisi	8	4,6
Dahiliye servisi	8	4,6
Çocuk cerrahisi servisi	7	4,0
Üroloji servisi	5	2,8
Kadın-doğum servisi	5	2,8
Yenidoğan servisi	5	2,8
Diğer (g.cer ,enf ,KBB) servisler	9	5,1
Poliklinik (k.doğum,üroloji)	8	4,6
Toplam	175	100,0

Çalışmaya alınan 175 *Candida* suşunun 114'ü (%65.1) idrar, 42'si (%24) kan, 8'i (%4.6) balgam, 7'si (%4) trakeal aspirat, 4'ü (%2.3) yaradan izole edilmiştir. İzole edilen *Candida* suşlarının klinik örneklere göre dağılımı tablo 17'de gösterilmiştir.

Tablo 17. İzole Edilen *Candida* Suşlarının Klinik Örneklerle Göre Dağılımı

Klinik örnek türü	İzolat sayısı	%
İdrar	114	65,1
Kan	42	24,0
Trakeal aspirat	7	4,0
Balgam	8	4,6
Yara	4	2,3
Toplam	175	100,0

Kandidoz gelişen tüm hastalar potansiyel risk faktörlerinden en az birini taşımaktaydı; geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı (%95.4), idrar sondası varlığı (%68), endotrakeal entübasyon (%31.4) en sık görülen durumlardandı. %25.7 (45) hastada diabetes mellitus mevcuttur. Hastalara uygulanan işlemler tablo 18’de gösterilmiştir.

Tablo 18. Hastalara Uygulanan İşlemler

Hastaya uygulanan işlemler	Sayı	%
Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı	167	95.4
H ₂ reseptör blokörü	140	80
İdrar sondası	119	68
Nazogastrik uygulama	92	52.5
Endotrakeal entübasyon	55	31.4
Opere	44	25.1
Santral venöz kataterizasyon	41	23.4
Kan transfüzyonu	38	21.7
Total parenteral nutrisyon	25	14.2
Trakeostomi	15	8.5
Kalıcı sonda-katater	5	2.8
Göğüs tüpü	4	2.2
Üreter taşı	3	1.7

Hastaneye yatış ile ilk üreme arasındaki geçen ortalama süre 17.6 ± 20.2 gündür (1-155 gün). Üremeye kadar geçen süre yoğun bakımda yatan hastalarda ortalama 21 ± 22 gün, servislerde yatan hastalarda 13 ± 16 gün bulunmuştur. Yoğun bakımda yatan hastalarda üreme süresi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$).

C. albicans ile non-*albicans Candida* lar arasında yatış süresi ve yatıştan üremeye kadar geçen süre arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p \geq 0.05$). Takip edilen hastaların 81'i (%46.3) ex olmuştur.

Vitek 2 Compact System kullanılarak yapılan *Candida* suşlarının identifikasyonu tablo 19'da gösterilmiştir.

Tablo 19. Vitek 2 Compact System Kullanılarak Yapılan *Candida* Suşlarının İdentifikasyonu

İzole edilen türler	Hasta sayısı	%
<i>C.albicans</i>	98	56.0
<i>C.tropicalis</i>	26	14,9
<i>C.parapsilosis</i>	11	6,3
<i>C.glabrata</i>	13	7,4
<i>C.lusitaniae</i>	5	2,9
<i>C.famata</i>	3	1,7
<i>C.crusei</i>	2	1,1
<i>C.sphaerica</i>	1	0.6
<i>low disc</i>	13	7,4
Tanımlanamayan	3	1,7
Toplam	175	100,0

API 20C AUX kullanılarak yapılan *Candida* suşlarının identifikasyonu tablo 20'de gösterilmiştir.

Tablo 20. API 20C AUX Kullanılarak Yapılan *Candida* Suşlarının İdentifikasyonu

İzole edilen türler	Hasta sayısı	%
<i>C.albicans</i>	102	58,3
<i>C.tropicalis</i>	31	17,7
<i>C.parapsilosis</i>	17	9,7
<i>C.glabrata</i>	13	7,4
<i>C.krusei</i>	3	1,7
<i>C.kefyr</i>	2	1,1
<i>C.sphaerica</i>	1	0,6
<i>C.famata</i>	1	0,6
<i>C.lusitaniae</i>	2	1,1
Tanımlanamayan	3	1,7
Toplam	175	100,0

Vitek Compact System ile API C 20AUX sisteminin karşılaştırılması tablo 21’de gösterilmiştir.

Tablo 21. Vitek Compact System ile API C 20AUX Sisteminin Karşılaştırılması

	API										TOPLAM	
	<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>c.parapsilosis</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.famata</i>	<i>C.sphaerica</i>	<i>C.lusitaniae</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.kefyr</i>	Tanımlanma.		
VITEK	<i>C.albicans</i>	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	98
	<i>C.tropicalis</i>	0	26	0	0	0	0	0	0	0	0	26
	<i>C.glabrata</i>	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	13
	<i>C.parapsilosis</i>	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	11
	<i>C.famata</i>	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	3
	<i>C.sphaerica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	<i>C.lusitaniae</i>	3	0	0	0	0	0	2	0	0	0	5
	<i>C.krusei</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	<i>low disc</i>	1	5	5	0	0	1	0	0	1	0	13
	Tanımlanama yan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
	Toplam	102	31	17	13	1	1	2	3	2	3	175

Ortak tanı alamayan suşlar için cornmeal agardaki hif yapıları, kromojenik agardaki görünümleri ve RapID™ Yeast Plus (Remel) identifikasyon sistemi ile doğrulamaya gidilmiştir. Bu değerlendirmelere göre klinik örneklerden izole edilen *candida* suşları arasında en sık saptanan tür 102 suşla (%58.2) *C.albicans* olup bunu sırasıyla sırasıyla *C. tropicalis* (%17.6), *C. parapsilosis* (%9.6), *C. glabrata* (%7.4), *C. kefyr* (%1.8), *C. krusei* (1.8), *C. lusitaniae* (%1.2), *C. famata* (%0.6) izlemiştir (tablo 22). Her üç yöntem ile üç suş (%1.8) tanımlanamamıştır.

Tablo 22. İzole Edilen *Candida* Türleri

<i>İzole edilen türler</i>	<i>Hasta sayısı</i>	<i>%</i>
<i>C. albicans</i>	102	58.2
<i>C. tropicalis</i>	31	17.6
<i>C. parapsilosis</i>	17	9.6
<i>C. glabrata</i>	13	7.4
<i>C. kefyr</i>	3	1.8
<i>C. krusei</i>	3	1.8
<i>C. lusitaniae</i>	2	1.2
<i>C. famata</i>	1	0.6
Tanımlanamayan	3	1.8
TOPLAM	175	100

İzole edilen *Candida* Türlerinin klinik örneklerle göre dağılımları tablo 23’de gösterilmektedir.

Tablo 23. İzole Edilen *Candida* Türlerinin Klinik Örneklerle Göre Dağılımları

Klinik örnek türü	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. kefyr</i>	<i>C. famata</i>	<i>C. lusitaniae</i>	<i>Tanımlanm.</i>	Toplam
İdrar	72	18	7	10	3	2	0	1	1	114
Kan	15	11	9	3	0	1	1	1	1	42
Balgam	8	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Trakeal Aspirat	4	2	0	0	0	0	0	0	1	7
Yara	3	0	1	0	0	0	0	0	0	4
Toplam	102	31	17	13	3	3	1	2	3	175

Antifungal Duyarlılık Sonuçları

İdentifiye edilen 172 *Candida* türünün hem VITEK 2 Compact System ile hem de ATB Fungus 3 kiti ile antifungal duyarlılıklarına bakıldı. Tanımlanamayan üç suş antifungal duyarlılık testlerine alınmamıştır.

VITEK 2 Compact System ile;

Flusitozin'e (5-FC) %97.6 duyarlı, %1.8 orta duyarlı ve %0.6 dirençli;

Amfoterisin B'ye %96.5 duyarlı, %2.9 orta duyarlı, %0.6 dirençli;

Flukonazol'e %95.8 duyarlı, %2.4 orta duyarlı, %1.8 dirençli;

Vorikonazol'e %99.4 duyarlı, %0.6 orta duyarlı olarak tespit edilmiştir.

ATB Fungus 3 ile;

Flusitozine (5-FC) %97.6 duyarlı, %2.4 orta duyarlı;

Amfoterisin B'ye %100 duyarlı;

Flukonazole % 94.8 duyarlı, % 3.4 orta duyarlı, %1.8 dirençli;

Vorikonazol'e % 99.4 duyarlı, %0.6 orta duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Her iki duyarlılık testinde flusitozin (5-FC), flukonazol ve vorikonazol için aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p \geq 0.05$). Amfoterisin için aralarında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

VITEK 2 Yeast Antifungal Duyarlılık testinde 5 suş (3 *C. glabrata*, 1 *C. crusei*, 1 *C. tropicalis*) doza bağlı duyarlı, 1 *C. glabrata* suşu dirençli kabul edilirken, ATB Fungus 3 antifungal duyarlılık testinde tüm suşlar Amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur.

VITEK 2 Yeast Antifungal Duyarlılık testinde mevcut olmayan, ATB Fungus 3 içerisinde yer alan beşinci ilaç itrakonazol %95.3 duyarlı, %2.9 orta duyarlı ve %1.8 dirençli olarak tespit edilmiştir. Sistemlerin duyarlılık oranları tablo 24'de gösterilmiştir. Çalışmada kontrol suşları olarak kullanılan *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. krusei* ATCC 6258 her iki yöntemle adı geçen antifungallere duyarlı olarak bulunmuştur.

Tablo 24. Sistemlerin Duyarlılık Oranları

n:172	VITEK						ATB Fungus 3					
	Duyarlı	%	Inter	%	Dirençli	%	Duyarlı	%	Inter	%	Dirençli	%
5:FCU	168	97.6	3	1.8	1	0.6	168	97.6	4	2.4	-	-
Amfoterisin	166	96.5	5	2.9	1	0.6	172	100	-	-	-	-
Flukonazol	165	95.8	4	2.4	3	1.8	163	94.8	6	3.4	3	1.8
Vorikonazol	171	99.4	1	0.6	-	-	171	99.4	1	0.6	-	-
Itrakonazol	-	-	-	-	-	-	164	95.3	5	2.9	3	1.8

Tablo 25. *Candida* Türlerinin VITEK 2 Compact System İle Direnç Dağılımı

VITEK		<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. crusei</i>	<i>C. kefyr</i>	<i>C. lusitanae</i>	<i>C. famata</i>	Toplam
5-FCU	Duyarlı	101	31	17	13	-	3	2	1	168
	Orta-duyarlı	-	-	-	-	3	-	-	-	3
	Dirençli	1	-	-	-	-	-	-	-	1
AMF	Duyarlı	102	30	17	9	2	3	2	1	166
	Orta-duyarlı	-	1	-	3	1	-	-	-	5
	Dirençli	-	-	-	1	-	-	-	-	1
FLUK	Duyarlı	98	31	17	13	-	3	2	1	165
	Orta-duyarlı	4	-	-	-	-	-	-	-	4
	Dirençli	-	-	-	-	3	-	-	-	3
VOR	Duyarlı	101	31	17	13	3	3	2	1	171
	Orta-duyarlı	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	Dirençli	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM		102	31	17	13	3	3	2	1	172

Tablo 26. *Candida* Türlerinin ATB Fungus 3 İle Direnç Dağılımı

ATB FUNGUS 3		<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.lusitaniae</i>	<i>C.famata</i>	Toplam
5-FCU	Duyarlı	101	31	17	13	-	3	2	1	168
	Orta-duyarlı	1	-	-	-	3	-	-	-	4
	Dirençli	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMF	Duyarlı	102	31	17	13	3	3	2	1	172
	Orta-duyarlı	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dirençli	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FLUK	Duyarlı	97	31	17	13	-	3	1	1	163
	Orta-duyarlı	5	-	-	-	-	-	1	-	6
	Dirençli	-	-	-	-	3	-	-	-	3
VOR	Duyarlı	101	31	17	13	3	3	2	1	171
	Orta-duyarlı	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	Dirençli	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ITR	Duyarlı	99	31	17	12	-	3	1	1	164
	Orta-duyarlı	3	-	-	-	2	-	-	-	5
	Dirençli	-	-	-	1	1	-	1	-	3
TOPLAM		102	31	17	13	3	3	2	1	172

Candida türlerinin VITEK 2 Compact System ile direnç dağılımı tablo 25’de, ATB Fungus 3 ile direnç dağılımı tablo 26’da gösterilmiştir.

C. albicans ile non-*albicans Candida* türlerinin VITEK Compact System ile antifungal duyarlılık oranları tablo 27’de, ATB Fungus 3 ile direnç dağılımı tablo 28’de gösterilmiştir. İzole edilen *C. albicans* suşları ile non-*albicans Candida* suşları arasında duyarlılık açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p \geq 0.05$).

Tablo 27. *Albicans* ile non-*albicans Candida* Türlerinin VITEK Compact System ile Antifungal Duyarlılık Oranları

VITEK n:172	<i>C. albicans</i>			Non- <i>albicans Candida</i>		
	S	I	R	S	I	R
5-FCU	101 % 99,1	- -	1 % 0,9	67 % 95,7	3 % 4,3	- -
Amfoterisin	102 % 100	- -	- -	64 % 91,4	5 % 7,1	1 % 1,5
Flukonazol	98 % 96,1	- -	4 % 3,9	67 % 95,7	- -	3 % 4,3
Vorikonazol	101 % 99,1	1 % 0,9	- -	70 % 100	- -	- -

Tablo 28. *Albicans* ile non-*albicans Candida* Türlerinin ATB Fungus 3 ile Antifungal Duyarlılık Oranları

ATB FUNGUS n:172	<i>C. albicans</i>			Non- <i>albicans Candida</i>		
	S	I	R	S	I	R
5-FCU	101 % 99,1	1 % 0,9	- -	67 % 95,7	3 % 4,3	- -
Amfoterisin	102 % 100	- -	- -	70 % 100	- -	- -
Flukonazol	97 % 95,1	5 % 4,9	- -	66 % 94,3	1 % 1,4	3 % 4,3
Vorikonazol	101 % 99,1	1 % 0,9	- -	70 % 100	- -	- -
Itrakonazol	99 % 97,1	3 % 2,9	- -	65 % 92,8	2 % 2,9	3 % 4,3

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Candida türleri doğada yaygın görülen mayalar olup birçok bitkide, memelilerin sindirim kanalı normal florasında, insan mukoza ve derisinde bulunurlar. Normalde yenidoğan döneminde ve doğumdan kısa bir süre sonra ağız, boğaz, bağırsaklar ve genitoüriner bölgeye kolonize olur. Endojen florada değişiklikler sonucu, cilt ve mukoza yüzeylerinde çoğalabilirler. Nozokomiyal *candida* enfeksiyonları, kişinin kendi oral veya sindirim sistemindeki maya florasının aşırı üremesi sonucu meydana gelir ve bu da temel mekanizmayı oluşturur (20). Normal florada bulunan *candida* türleri immünitesi bozulmuş hastalarda yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara yol açabilirler. *Candida* enfeksiyonları genellikle endojen kaynaklı olsa da, sağlık çalışanlarının cildinde taşınıp insandan insana geçiş ile hastane ortamından da kazanılabilir. Kolonizasyon, kandidoz gelişimini kolaylaştırır. Ayrıca, *candida* suşlarının genotiplendirmesi esas alınarak yapılan çalışmalarda, pek çok ciddi kandidoz olgusundan endojen kolonizasyonun sorumlu olduğu gösterilmiştir (157). *Candida* türlerinin invazyonunda, sağlam deri en etkili bariyerdir. Cildin bütünlüğünü bozan herhangi bir durum, örneğin intravasküler kateterler, yanık ve ülserasyonlar, sağlıklı bireylerde bile, cildin bu mantarlara karşı geçirgen olmasına yol açar. Antimikrobiyal ajanlar, gastrointestinal kanaldaki bakteriyel mikroflorayı elimine ederek mantarların seçilip çoğalmasına ve sonuçta, hastanede yatan hastada invaziv hastalığın oluşumuna yol açarlar (158).

Son yıllarda *candida* türlerinin neden oldukları enfeksiyonlarda artış olmakla birlikte, bu enfeksiyonlara neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlamıştır. Endojen kaynaklı olması nedeniyle, hala nozokomiyal fungal enfeksiyonlarda ilk sırayı *C.albicans* almakla birlikte, antifungal tedaviye daha zor yanıt verdiği bilinen *C.tropicalis*, *C.lusitaniae*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.glabrata* gibi, non- *albicans* türlerle karşılaşma oranı hızla artmaktadır (159).

Candida türleriyle oluşan mantar enfeksiyonları özellikle immün sistemi baskılanmış olan bireylerde önemli hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri arasındadır.

Mantarların antifungal ajanlara duyarlılığı değişkendir. Bilindiği gibi *C.krusei* flukonazole dirençlidir. Bazı *C.glabrata* suşlarında artmış flukonazol direnci ve bazı *C.lusitaniae* suşlarında artmış amfoterisin B direnci bildirilmiştir. Mantarların tür düzeyinde hızlı identifikasyonu, antifungal duyarlılıkları tespit edilene kadar, uygun ampirik antifungal tedavi açısından önemlidir. Bu nedenle klinik mikrobiyoloji laboratuvarı mantarların tanımlanması için güvenilir, ucuz, kolay uygulanabilir ve hızlı bir sistemi seçmelidir (156).

Bildiğimiz kadarı ile Şanlıurfa Bölgesine ait kandidoz verileri ilk kez bizim çalışmamız ile araştırılmıştır. Çalışmamız iki yıllık bir dönemi kapsadığı için ve geçmiş yıllara ait elimizde veri olmadığından hastanemize ait insidans değişikliği hakkında yorum yapılamamaktadır. Ancak ileriki yıllarda yapılacak olan bir çalışma bu soruyu yanıtlamamızı sağlayacaktır.

Çalışmamızdaki 175 hastanın, 94'ü (%53.7) YBÜ'den, 47'si (%27) dahili servislerden, 26'sı (%14.3) cerrahi servislerden, 8'i (%4.6) poliklinik hastalarından oluşmaktadır. Çalışmaya alınan 175 *candida* suşunun 114'ü (%65.1) idrar, 42'si (%24) kan, 8'i (%4.6) balgam, 7'si (%4) trakeal aspirat, 4'ü (%2.3) yaradan izole edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 175 *candida* suşunun 102'si (%58.2) *C.albicans*, 31'i (%17.6) *C. tropicalis*, 17'si (%9.6) *C. parapsilosis*, 13'ü (%7.4) *C. glabrata*, 3'ü (%1.8) *C. krusei*, 3'ü (%1.8) *C. kefyr*, 2'si (%1.2) *C. lusitaniae*, 1'i (%0.6) *C. famata* olarak izole edilmiştir. Kan, idrar ve trakeal aspirattan izole edilen üç numune tanımlanamamıştır.

Son yıllarda non-*albicans candida* türlerinin sıklığında bir artış olmuştur ki bizim çalışmamızda da buna paralel olarak izole edilen *candida* türleri arasında non-*albicans* türlerinin artışı dikkat çekicidir.

Otağ ve arkadaşları 2003- 2005 yılları arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden konvansiyonel metodlar ve API C20 sistemi kullanarak izole ettikleri 471 hastaya ait 872 maya suşunu, %45.6 *C. albicans*, %18.6 *C. tropicalis*, %10.6 *C. glabrata*, %14.9 *C. parapsilosis*, %3.8 *C. kefyr*, %2.4 *C. krusei*, %0.2 *C. lusitaniae* olarak tiplendirmişlerdir (160).

Cömert ve arkadaşları Zonguldak'ta yaptıkları üç yıllık bir çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 320 suşu konvansiyonel metodlar ve API C20 sistemi

kullanarak tanımlanmış ve dağılımını *C. albicans* %65.6, *C. parapsilosis* %11.3, *C. glabrata* %8.8, *C. tropicalis* %7.8 ve diğer *Candida* türleri %4.4 olarak belirlemişlerdir (161).

Koçoğlu ve arkadaşlarının Ocak 2004- Aralık 2004 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerini araştırdıkları çalışmada en sık *Candida albicans* (%56.8), ikinci sıklıkla (% 7.7) *C. tropicalis*, üçüncü sıklıkla da (%6.8) *C. sake* izole edilmiştir (162).

İris ve arkadaşlarının 2005-2007 yılları arasında yaptığı çalışmada yoğun bakım örneklerinden izole ettikleri 37 *Candida* suşunu %43 *C. albicans*, %22 *C. tropicalis* ve %22 *C. parapsilosis*, %2.7 oranında *C.sake*, *C.famata*, *C.krusei*, *C.glabrata* olarak tespit etmişlerdir (163).

Ünlü ve arkadaşlarının yoğun bakım ve servislere ait nozokomiyal fungal enfeksiyon verilerini derledikleri çalışmalarda, en sık olarak *C. albicans* (%36.6) izole edilmiş, bunu sırasıyla *C. glabrata* ile *C. parapsilosis* izlemiştir (164).

Özer ve arkadaşlarının Eylül 2008-Eylül 2009 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 153 *Candida* izolatının türleri ve antifungal duyarlılıkları Vitek 2 Compact (bioMerieux, Fransa) yöntemi ile araştırılmıştır. Örneklerden en fazla (% 45) *C.albicans*, ikinci sıklıkla *Candida glabrata* (% 22), üçüncü sıklıkta *Candida tropicalis* (% 20) izole edilmiştir. Ayrıca sırasıyla *Candida parapsilosis*, *C.krusei*, *Candida kefir*, *Candida guilliermondii* ve *Candida hypolitica* izole edilmiştir (165).

Kaya ve arkadaşlarının 2010 yılında çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 103 *Candida* suşunda Vitek 2 sistemi ile tür tayini ve antifungal direncinin araştırmasını yaptıkları çalışmada %62.1 (64) *C.albicans*, %21.3 (22) *C.glabrata*, %5.8 (6) *C.tropicalis*, %3.88 *C.parapsilosis*, %2.9 (3) *C.dubliniensis*, 1'er (%0.9) suş *C.kefir*, *C.krusei*, *C.norvegensis*, *C.lusitaniae* olarak tanımlanmıştır (166).

Tulumoğlu ve arkadaşlarının 2006-2008 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 101 maya suşunun tür tanımlanması ve antifungal duyarlılıklarının belirlendiği çalışmada izolatların identifikasyonu API 20 C AUX (Biomérieux, France) kiti ile yapılmış olup suşların türlere göre dağılımında en sık *C. albicans* (%54.46), ikinci sıklıkta *C. parapsilosis* (%33.66), üçüncü sıklıkta *C. famata*

(%6.93), dördüncü sıklıkta *C. tropicalis* (%2.97) ve beşinci sıklıkta *C. pelliculosa* (%1.98) izlemiştir (167).

Ekşi ve arkadaşlarının değişik kliniklerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 *Candida* suşunun değerlendirildiği ve antifungal duyarlılıklarının araştırıldığı bir çalışmada izole edilen 200 *candida* suşunun 106'sı (%53) *C. albicans*, 49'u (%24.5) *C. parapsilosis*, 15'i (%7.5) *C. tropicalis*, 9'u (%4.5) *C. krusei*, 8'i (%4) *C. kefyr*, 4'ü (%2) *C. glabrata*, 4'ü (%2) *C. famata*, 3'ü (%1.5) *C. lusitaniae*, 2'si (%1) *C. guilliermondii* olarak tanımlanmıştır (168).

Onur'un çeşitli klinik örneklerde üreyen maya mantarı suşlarının Vitek 2 Compact (bioMerieux, Fransa) yöntemi ile tanımlandığı çalışmada 129 *Candida* suşunda *C. albicans* %48.06 oranla en sık tanımlanan tür olmuştur. Bunu *C. glabrata* (%17.82), *C. tropicalis* (%11.62), *C. parapsilosis* (%7.75), *C. kefyr* (%6.20), *C. lipolytica* (%3.10), *C. dubliniensis* (%3.10), *C. krusei* (%2.32) izlemiştir (169).

Yücesoy ve arkadaşlarının yoğun bakım ünitelerinden 2001-2004 yılları arasında soyutlanan 490 maya suşunu VITEK veya API 20C AUX sistemi ile tanımladıkları çalışmalarında en sık görülen üç örnek türü idrar (%62.1), kan (%13.6), trakeal aspirat (%8.7) olarak saptanmış, maya mantarlarının tür dağılımı %53.3'ü *C. albicans*, %14.5'i *C. tropicalis*, %12.2'si *C. glabrata*, %6.5'i *C. parapsilosis*, %3.9'u *C. kefyr*, %1.6'sı *C. krusei*, %3.5'i diğer türler olarak açıklanmıştır (170).

Literatürlere baktığımızda elde ettiğimiz verilerin diğer çalışmalarla uyumlu olduğu belirlenmiştir. *C. albicans* tüm klinik örneklerden en çok izole edilen tür olmakla birlikte non- *albicans* türlerinin sıklığı ve dağılımı coğrafik bölge, yıl, hasta profilleri gibi faktörlere bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Non- *albicans* türlerinin sıklık sırası *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* arasında değişmektedir.

İdrarda *candida* varlığı, kontaminasyon, kolonizasyon veya enfeksiyonun yansımaları olabilir; ancak kolonizasyonu enfeksiyondan ayırabilecek güvenilir bir yöntem yoktur. Hastada uzun süreli antibiyotik kullanımı, idrar sondası mevcudiyeti, kalıcı katater, üreter taşı, üriner darlık, gebelik, hastanede uzun süreli yatış gibi durumlar üriner sistem kolonizasyonunu arttırmaktadır. Yüksek çözünürlüklü objektifle yapılan incelemede bir sahada 5 veya daha fazla lökosit varsa piyüri olarak kabul edilir; bu durumda $\geq 10^3$ kol/ml maya varlığı tedavi edilmesi gereken fungüri olarak değerlendirilebilir. Bir başka veriye göre; klinik belirti ve bulguların olduğu

hastalarda işeme olmaksızın (katater idrarı) alınan idrar ile iki kez tekrarlanan kültürde 10^4 - 10^5 kol/ml maya eldesi durumunda, "idrar yolu enfeksiyonu" olarak belirlenmiştir (171). Son 30 yıl içinde, idrarda *candida* varlığı önem kazanmıştır. Bunun en önemli nedenlerinden birisi hastanede yatan hastaların idrarlarından üretilen patojenlerin %10'unu *candida* türlerinin oluşturmasıdır (172). Genel durumu kötü yoğun bakım hastalarında .kandidüri, kandidemi için kuvvetli bir gösterge olarak kabul edilebilir (172). *C.albicans* idrarda en sık izole edilen tür olup, farklı çalışmaların sonuçlarına göre, ikinci sırada *C. tropicalis*, üçüncü sırada ise *C. glabrata* veya *C. krusei* izolasyonu bildirilmektedir (173).

Klinik örneklerin sıklığına göre değerlendirdiğimizde çalışmamızda en sık (%65.1) idrar örneklerinde üreme tespit edilmiştir. Çalışmamızda 114 idrar örneğinin 72'si (% 63.1) *C.albicans*, 18'i (% 15.8) *C. tropicalis*, 10'u (% 8.8) *C. glabrata*, 7'si (% 6.1) *C. parapsilosis*, 3'ü (% 2.6) *C. krusei*, 2'si (%1.8) *C. kefyfyr*, 1'i (% 0.9) *C.lusitaniae* olarak tespit edilmiştir. *C. glabrata* suşlarının %76.9 'u idrar numunelerinden izole edilmiştir.

Kaya K. ve arkadaşlarının 10 aylık periyotta saptanan kandidüri etkenlerinin dağılımını araştırdıkları çalışmalarında *C. albicans* %68.9, *C. glabrata* % 11.1, *C. kefyfyr* %8.9, *C. tropicalis* % 6.7 oranında saptanmıştır (174).

Baysan ve arkadaşlarının Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde 2003-2004 yılları arasında 100 nozokomiyal kandidürili hastadan izole ettikleri suşların dağılımı %44'ü *C. albicans*, %20'si *C. tropicalis*, %18 *C. glabrata*, %6 *C. krusei*, %5 *C.famata*, %2 *C.parapsilosis* ve *C. kefyfyr*, %1 *C. guillermondii* olarak tanımlanmıştır (175). Çalışmamızdaki idrar örnekleri incelendiğinde ilk üç tür dağılımı oranları değişmekle birlikte Otağ (160), Yücesoy (170) ve Baysan'ın (175) yapmış oldukları çalışma ile benzer olarak bulunmuştur.

Candidalara bağlı enfeksiyonlar içinde kan dolaşımı enfeksiyonlarında anlamlı artışlar kaydedilmiştir. Kuzey Amerika ve Avrupa surveyans programları verileri *Candidaların* nozokomial kan dolaşımı enfeksiyonu (KDE) etkenleri arasında, herhangi bir gram-negatif patojenin önüne geçerek, dördüncü sıraya yükseldiğini belirlemiştir. 1980 yılından günümüze kadar, *Candidaya* bağlı kan dolaşımı enfeksiyon sıklığı her büyüklükteki hastanede ve tüm yaş gruplarında sürekli bir artış göstermiştir. Kültürlerden izole edilen *Candidaların* büyük çoğunluğunu *C. albicans* oluşturmakla

beraber, non- *albicans* şuşlarında da artış görülmeye başlanmıştır. *Candida*ya bağlı tüm KDE'nin yaklaşık %95'inden etken olarak dört tür sorumludur: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*. *Candida* 'ya bağlı KDE etkenlerinin geri kalan %5'ini 12-14 tür oluşturur: bunlar *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr*, *C. dubliniensis* ve diğerleridir. Non- *albicans* şuşlarda artış görülmeye başlanmakla birlikte direnç sorunları da ortaya çıkmıştır. Direnç gelişiminde azol grubu antifungallerin ampirik kullanımının önemli etkisi olmuştur. Bu açıdan *Candida*ların tür düzeyinde identifikasyonu ve antifungal duyarlılıkları belirlenmesi önemlidir (108).

Çok merkezli yapılan büyük bir çalışmada, 1990'lardaki kandidemiye neden olan *candida* türlerindeki değişimin yavaşladığını rapor etmiştir. Bu çalışmada 140.000 *Candida* izolatu incelenmiş olup, tüm *Candida* türleri içinde *C. albicans* oranı 1997-2000'lerde %68 iken 2003 yılında %59.5'e düşerken, *C. tropicalis* oranı %4.3'den %7.2'ye, *C. parapsilosis* %4.03'den %6.9'a yükselmiştir. *C. glabrata* ise bu iki dönem için %10 ve %11 olarak saptanmıştır. *C. krusei* türünde de bariz artmalar kaydedilmemiştir. Nadir görülen *Candida* tür sayısında ciddi artışlar kaydedilmiştir (176).

Yine Pfaller ve arkadaşlarının Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Güney Amerika'yı kapsayan 34 merkezde yaptıkları araştırmada tespit ettikleri 306 kandidemi etkeninin, % 53.3'ünü *C. albicans*, diğerlerini sırasıyla *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* ve diğer türler olarak belirlemişlerdir. ABD'de non-*albicans* türler % 43.8 oranında saptanmış ve en sık olarak *C. glabrata* (%18.7)'yi belirlemişlerdir. Kanada'da % 47.5 ve en sık *C. parapsilosis* (%22.9), Güney Amerika'da ise % 59.5 ve ilk sırayı *C. parapsilosis* (%38.1) daha sonra *C. tropicalis* (%11.9)'in aldığını bildirmişlerdir (177).

Latin Amerika ve Asya-Pasifik bölgelerinde daha yaygın bildirilen *C. tropicalis* ülkemizden son yıllarda yapılan bir çalışmada ikinci en sık etken olarak bildirilmiştir (178). Bizim çalışmamızda da *C. albicans*'tan sonra ikinci en sık kandidemi etkeni % 26.1 oranıyla *C. tropicalis* oluşturmuştur. Yazarlar bunu kısmen flukonazol profilaksinin az kullanılmasına ve coğrafik özelliklere bağlamışlardır (179).

Amerika'da ise *C. glabrata* ikinci en sık gözlenen kandidemi etkenidir. Önemli bir özelliği ise antifungal ajanlara azalmış duyarlılık göstermesidir. Yoğun flukonazol kullanımının bu türün sık görülmesinde faktör olduğu ileri sürülmektedir (180). İleri

yaşlarda görülen bir tür olup, kanser hastalarında gastrointestinal sistemde kolonize olarak endojen yolla kandidemiye yol açar. Çalışmamızda 3 kandidemi epizotu (%7.1) *C. glabrata* kaynaklıdır. Bu düşük orandan kısmen hastanemizde profilaktik flukonazol kullanımının çok az olması sorumlu olabilir.

Amerika'da 934 kandideminin değerlendirildiği bir çalışmada, %46.8'i *C. albicans* olarak tespit etmişlerdir. Non-*albicans candida* türlerini %42.3'ü *C. glabrata*, %26.1'i *C. tropicalis*, %21.1'i *C. parapsilosis* olarak saptamışlardır (181).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada 1995-2003 yıllarında 1000 kandidemiden izole edilen türler *C. albicans* %40, *C. tropicalis* %24, *C. parapsilosis* %23, *C. glabrata* %4.4, *C. guilliermondii* %3, *C. rugosa* % 5.25, *C. krusei* ve *C. pelliculosa* %0.6 olarak tespit edilmiştir ki bu çalışma bizim suş dağılımımıza oldukça benzerdir (182).

Yine Brezilya'daki ve bizdeki çalışmaya benzer bir çalışma olan Godoy ve arkadaşlarının Latin Amerika hastanelerindeki kan kültürlerinden izole ettikleri 103 *Candida* suşunun %42'sini *C. albicans*, %24.2 sini *C. tropicalis*, %21.3'ünü *C. parapsilosis*, diğerlerini sırasıyla *C. glabrata*, *C. guilliermondii* ve *C. lusitaniae* olarak belirlemişlerdir (183).

Estrella ve arkadaşları İspanya'da yaptıkları çalışmada kan kültürlerinden izole ettikleri 351 *Candida* suşunun % 51'ini *C. albicans*, % 23'ünü *C. parapsilosis*, %10'unu *C. tropicalis*, diğerlerini sırasıyla *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefyi*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. norvegensis* ve *C. dublinensis* olarak belirlemişlerdir (184).

Mokaddes ve arkadaşları Kuveyt'te yaptıkları 10 yıllık çalışmada kan kültürlerinden elde ettikleri 607 izolatu *C. albicans* %39.5, *C. parapsilosis* %30.6, *C. tropicalis* %12.4, *C. glabrata* %5.6, *C. krusei* %1.6 ve diğerleri %10.2 olarak tespit etmişlerdir (185).

Bakır ve arkadaşlarının 1994-2000 yılları arasında kan kültürlerinden izole ettikleri *candida* türlerinin dağılımını %37.2 oranında *C. albicans*, %32.2 *C. parapsilosis*, %12.2 *C. tropicalis*, %5 *C. glabrata* olarak tespit etmişlerdir (186).

Çelebi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1997-2005 yılları arasında 102 kandidemi olgusundan izole edilen türlerin yıllar içindeki dağılımları değişmekle birlikte genele bakıldığında *C. albicans* %39.2, *C. parapsilosis* %21.6, *C. tropicalis*

%15.7, *C. glabrata* %6.9, *C. krusei* %4.9, *C. lusitaniae* %3.9 ve diğeri %7.8 olarak tespit edilmiştir (187).

Uludağ Üniversitesi Hastanesi'nde 12 yıllık retrospektif bir araştırmada 743 kandidemi epizodu gerçekleşmiş, en yaygın suş olarak *Candida albicans* (%45) izole edilirken, bunu *C. parapsilosis* (%26), *C. tropicalis* (%7), *C. krusei* (%7), and *C. glabrata* (%3.5) izlemiştir (188).

Gültekin ve arkadaşlarının Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *candida* türlerinin retrospektif olarak inceledikleri çalışmalarında 74 suşun % 49'u *C.albicans*, % 23'ü *C.parapsilosis*, % 14'ü *C.tropicalis*, % 12'si *C.glabrata*, % 1'i *C.guillermondii* ve % 1'i *C.krusei* olarak bulunmuştur (189).

Özçelik ve arkadaşlarının 2006 yılında kan kültürlerinden izole ettikleri 120 *Candida* suşunun türleri sırasıyla %59.1'i *C. albicans* (71), %13.3'ü *C. parapsilosis* (16), %10'u *C. glabrata* (12), %7.5'i *C. tropicalis* (9), %6.6'sı *C. kefyr* (8) ve %0.8'i *C. lusitaniae*, *C. spherica*, *C. sake* ve *C. lambria*'dır (190).

Çalışmamızda izolatlar %24 oran ile ikinci sıklıkta kan örneklerinden elde edilmiştir. 42 kan örneğinin %35.7'si *C. albicans*, % 26.1'i *C. tropicalis*, % 21.4'ü *C. parapsilosis*, % 7.1'i *C. glabrata*, % 2.4'ü *C. famata*, % 2.4'ü *C. lusitaniae*, % 2.4'ü *C. kefyr* olarak tespit edilmiştir. *C. albicans* en sık görülen tür olmakla birlikte *C. tropicalis* ikinci sıklıkta görülen *candida* türü olmuştur.

Yapılan birçok çalışmada kandidemi etkenleri ülkeden ülkeye, aynı ülkede yıllar arasında, hastaneler arasında gerek insidansı gerek ise etken spektrumunun değiştiği bilinmektedir. Enfeksiyonlara neden olan *Candida* türlerinin sayı ve tipleri arasındaki farklar; hasta popülasyonu, çalışma süresi, örnek sayısı, yapılan girişimsel tedaviler, altta yatan hastalık, antifungal ilaç alma veya enfeksiyon kontrol uygulamalarındaki farklar gibi çok sayıda faktörden etkilenebilir. Bu faktörlerin her biri, tek başına veya diğer faktörlerle kombine bir şekilde, her kurumdaki farklı *Candida* türlerinin prevalansını etkileyebilir. Örneğin antifungal profilaksi için azollerin kullanılması, azollere duyarlılığı az olan *C. glabrata* ve *C. krusei*'ye bağlı enfeksiyonların ortaya çıkma olasılığını arttırabilir (108). Bu nedenle bu enfeksiyonların iyi yönetilmesi için

hastanelerde mantar enfeksiyonları açısından sürveyans çalışmalarının belirli aralıklarla yapılması gereklidir. Ege Bölgesi'nde Batı Anadolu Mantar Çalışma Grubu'nun yapmış olduğu çok merkezli bir çalışmada kandidemili hastalarda *C. albicans* en sık izole edilen *candida* türü olarak saptanmıştır. Bunu *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* izlemiştir. Yine aynı çalışmaya göre total parenteral beslenme, antibiyoterapi öyküsü ve üretral kateter varlığı *albicans-dışı Candida* enfeksiyonları için risk faktörleri olarak rapor edilmiştir (191). Hastanede yatan hematolojik maligniteli ve/veya nötropenili hastalar, GI cerrahi geçiren hastalar, prematürel ve 70 yaşın üzerindeki hastaların hastanede kandidemiye yakalanma olasılığı; aldıkları her sınıftan antibiyotik için yaklaşık 2 kez, santral venöz katater takılı ise 7 kez, diğer anatomik bölgelerinde *Candida* kolonizasyonu bulunuyorsa 10 kez ve hastaya akut hemodiyaliz yapılmışsa 18 kez daha fazladır (108).

Hastalarımızda en sık görülen durumlar; geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı %95.4, H₂ reseptör blokörü kullanımı %80, idrar sondası varlığı % 68, endotrakeal entübasyon %31.4, santral venöz katater %23.4, total parenteral beslenme %14.3 oranında bulunmaktadır.

Kandidemi gelişen yatan hastaların, *Candidaya* bağlı olmayan KDE gelişen hastalara göre hastanede iki kat daha fazla ölüm riski taşıdıkları gösterilmiştir. Tüm nozokomiyal KDE'lerin %8-10'u *Candida* türlerine bağlı gelişmektedir. Bu hastaların yaklaşık %49'u yakalandıkları enfeksiyon sonucunda, %12'si altta yatan hastalıklar nedeniyle hayatını kaybedecek, %39'u hastanede kaldıkları sürece yaşamını sürdürecektir (108).

Bizim çalışmamızda hastaların %46.3'ü takip edildikleri dönemde hayatlarını kaybetmişlerdir. Mortalite özellikle düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda ve altta yatan ciddi hastalığı olanlarda belirgindir. Çocuklarda yapılan bir değerlendirmede fungal sepsisin, pnömokok sepsisinden sonra en sık fatalite ile seyreden enfeksiyon tablosu olduğunu göstermişlerdir (192). Çocuklarda invaziv *candida* enfeksiyonları için risk faktörleri erişkinler ile benzerlik göstermektedir. Malignensinin primer kendisinin, uygulanan tedavi rejiminin ya da transplantasyon için uygulanan yaklaşımlara bağlı immünsüpresyon invaziv kandidiyazis riskinde belirgin artışa neden olmaktadır. 1 ay ile 14 yaş arasında yoğun bakım ünitesinde 5 günden daha uzun süre takip edilen çocuklarda yapılan bir çalışmada santral kateter bulunması invaziv kandidiyazis için en

önemli risk faktörleri arasında gösterilmektedir (193). 2009 yılında pediatrik yoğun bakım ünitelerinde risk faktörleri tanımlanmış ve santral kateter, total parenteral nutrisyon (TPN), antibiyotik kullanımı, immünsüpresyon (özellikle malignite ilişkili) risk faktörleri olarak belirlenmiştir (194).

C. parapsilosis suşlarının %53'ü kandan izole edilmiştir. *C. parapsilosis*'in kateter kullanımı ve total parenteral beslenme ile ilişkili dolaşım sistemi enfeksiyonlarından sorumlu tür olarak ortaya çıkmaktadır (108). Çeşitli çalışmalarda yaş ilerledikçe *C. parapsilosis* oranının azaldığı, *C. glabrata* izolasyonunun arttığı bildirilmektedir (195,196). Bizim çalışmamız da bu görüşü desteklemiş olup izole ettiğimiz *C. parapsilosis* suşların %47'si 18 yaş altındaki çocuklardan, *C. glabrata* suşlarının %53.9'u 60 yaş üstü hastalardan izole edilmiştir.

YBÜ'de yatan hastalarda mantar enfeksiyonlarının daha fazla görülmesi, mantarlarla gelişen hastane enfeksiyonlarında mortalitenin daha yüksek olması ve antifungal ilaçların terapötik ve toksik sınırlarının yakın olması gibi nedenler, bu hasta örneklerinden izole edilen maya mantarlarında antifungal duyarlılık testlerinin çalışılmasını gerektirmektedir (147,149).

Candida türlerinden *C. krusei* flukonazole dirençli, *C. glabrata* flukonazole dirençli ya da doza bağlı duyarlı olabilmekte, *C. lusitaniae* suşlarında amfoterisin-B direncine daha sık rastlanması tedavide kullanılacak olan ilacın seçimi için tür tanımlamasının önemini bir kez daha vurgulamaktadır (176, 197). Çeşitli çalışmalarda *C. glabrata* ve *C. krusei* suşları arasında amfoterisin B için yüksek minimal inhibitör konsantrasyon değerlerinin saptandığı bildirilmektedir (195,198).

Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *candida* kökenlerinin amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve flusitazine karşı duyarlılıklarını belirlemek amacıyla, mikrodilüsyon yöntemini referans alan VITEK 2 Compact Sistemi ve ATB Fungus 3 yöntemi ile adı geçen antifungallerin MİK değerleri belirlenmiş, sistemler birbiriyle karşılaştırılmıştır. Tanımlayamadığımız üç suş değerlendirmeye alınmamıştır.

Amfoterisin B klinik kullanımda en toksik antimikrobiyal ajanlardan biri olmasına rağmen halen standart tedavi olma özelliğini korumaktadır. *Albicans* dışı *candida* türlerinde, örneğin *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata* ve *C. krusei* türlerinde direnç bildirilmektedir. Amfoterisin B tedavisine klinik yanıtızlık in- vitro dirençten çok konağın bağışıklık sistemi ile ilgili faktörlerin düzelmemesi ile

ortaya çıkmaktadır (199).

Bugün için genelde kabul edilen görüş, *candida* izolatlarının amfoterisin B direncinin nadir olduğudur. Bununla birlikte, ülkemizde amfoterisin B için çok geniş bir çerçevede direnç oranları bildirilmiştir. Hiç direnç gözlenmeyen çalışmalar bulunduğu gibi, %57.8'e kadar direnç bildiren çalışmalar da vardır (199).

Yurtdışında yapılan çalışmalarda, İtalya'dan Barchiesi ve ark. (200) *candida* suşunda, Kuveyt'te Mokaddas ve ark. (185) 607 *candida* suşunda, Latin Amerika'dan Godoy ve ark. (183) 103 *candida* suşunda, İspanya'dan Cuenca-Estrella ve ark. (184) 351 *C. albicans* suşunda amfoterisin B'ye direnç saptamamışlardır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Ay (201), boğaz ve kan kültürlerinden izole edilmiş 211 *candida* suşunda, Bilgin (202) 58 *candida* suşunda, Akkurt (203) 50 *candida* suşunda, Karakoç (153) 88 *candida* suşunda, Özçelik ve arkadaşlarının (190) 120 suş ile yaptıkları çalışmada, Ekşi ve arkadaşları (168) 200 *candida* suşunda, Koçoğlu ve arkadaşları (162) 84 *candida* suşunda amfoterisin B'ye direnç gözlememişlerdir.

Bununla birlikte literatürde *candida* türlerinde amfoterisin B'ye direnç bildiren çalışmalarda mevcut olup genellikle düşük oranda gözlenmektedir. Diekema ve ark. (195), 254 *candida* suşunda %3, Cuenca-Estrella ve ark. (204), İspanya'dan elde edilen 514 *candida* suşunda %2.7 oranında, Zepelin ve ark. (205) 561 *candida* suşunda Amfoterisin B için %0.5 direnç tespit etmişlerdir.

Zer ve Balcı (206), yoğun bakımdan elde ettikleri 205 *candida* suşunda amfoterisin B'ye %19.5 oranında direnç bildirmişlerdir. Kiraz ve ark. (207) 300 *C. albicans* suşunda %6.3, Özer ve ark.ları (165) 153 *candida* suşunda %6, Kaya ve ark.ları (166) 103 suşta %10.7 amfoterisin B direnci bildirmişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmada VITEK 2 Yeast Antifungal Duyarlılık testinde beş suş (3 *C. glabrata*, 1 *C. crusei* ve 1 *C. tropicalis*) doza bağlı duyarlı, 1 *C. glabrata* suşu dirençli kabul edilirken, ATB Fungus 3 Antifungal Duyarlılık testinde tüm suşlar Amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Amfoterisin B tüm suşlar için ATB Fungus 3 yöntemi ile %100 duyarlı bulunurken, VITEK yöntemi ile duyarlılık oranı %96.5 olarak değerlendirilmiştir. *C.lusitaniae* suşlarında artmış amfoterisin B direncinin aksine çalışmamızda mevcut olan iki *C.lusitaniae* suşunda her iki yöntem ile yapılan antifungal duyarlılık testinde dirence rastlanmamış, düşük MİK değerleri

gözlemlenmiştir.

Günümüzde sistemik ve lokal olarak en sık kullanılan antifungaller azol grubu ajanlardır. Sistemik olarak kullanılan azollerden mayalarda en sık kullanılanı flukonazoldür (199). *Candida* türleri arasında, *C. krusei* intrensek olarak flukonazole dirençlidir. Öte yandan, *C. glabrata* suşlarının duyarlılığı da yaygın çeşitlilik gösterir. Bazı *C. glabrata* suşları flukonazole doza bağımlı duyarlı iken, yaklaşık %15 kadarı gerçek direnç göstermektedir. *C. tropicalis*, *C. norvegensis*, *C. dubliniensis* ve *C. inconspicua* suşlarının flukonazol için MİK değerleri bazen artmış olarak bulunabilir. Uzamış flukonazol profilaksisini takiben, *C. albicans* izolatlarında dahi flukonazole kazanılmış direnç gelişebilmektedir (136).

Diekema ve ark. (195) çalışmalarında 254 *Candida* suşunda flukonazol'a %2.8 oranlarında direnç tespit etmişlerdir. Zepelin ve ark.(205) yaptığı çalışmada 561 suşta flukonazol için %3.7 direnç görülmüştür. Mokaddes ve arkadaşlarının (185) Kuveyt'te 607 suş ile yaptıkları çalışmada flukonazol direnci, *C. albicans'* da % 3.8, *C. glabrata'* da %5.8 olarak tespit edilmiştir.

Ülkemizde yapılmış çalışmalarda da direnç oranları oldukça geniş bir aralıkta bildirilmektedir. Bazı çalışmalarda hiç direnç görülmez iken (199,207), yapmış olduğumuz çalışmada her iki yöntem ile direnç %1.8 olarak tespit edilmiş, doza bağlı duyarlılık oranı VITEK ile %2.4, ATB Fungus 3 ile %3.4 bulunmuştur. *C.krusei* suşu flukonazole intrensek olarak dirençli olduğundan in vitro olarak saptanan MİK değerlerine bakılmaksızın flukonazole dirençli kabul edilmiştir. Tüm *Candida* izolatları % 94.8-95.8 arasında flukonazole hassas olarak belirlenmiştir. *C.glabrata* suşlarında flukonazole direnç ya da doza bağlı duyarlılık gelişirken hastanemizde identifiye edilen 13 *C. glabrata* suşu her iki yöntem ile flukonazole duyarlı bulunmuştur. Bu durum toksisitesinin azlığı, kullanım kolaylığı, maliyeti ve elde edilebilirliği ile birleştirildiğinde, flukonazolün *candida* enfeksiyonlarının başlangıç tedavisinde bizim hastanemiz için en uygun ilaç olduğuna işaret etmektedir.

Özçelik ve arkadaşlarının (190) 2006 yılında 120 suş ile yaptıkları çalışmada flukonazol direnci %1.6, Tulumoğlu ve arkadaşlarının (167) 2006-2008 yılları arasında 101 *candida* suşunda flukonazole karşı direnç oranları % 3.63 olarak tespit edilmiştir. Yurtiçinden yapılan bazı çalışmalarda yüksek flukonazol dirençleri açıklanmıştır. Kaya ve arkadaşlarının (208) 2001 yılında maligniteli nötropenik hastalardan izole ettikleri

32 *C. albicans* suşunda %68.7, 106 *albicans* dışı suşta %63.2 oranında flukonazol direnci görülürken, 2010 yılında 103 suşla yaptıkları başka bir çalışmada %5.8 direnci saptamışlardır (166). Gayyurhan (209) *C. albicans* ve *albicans* dışı kökenler arasında flukonazol direnci açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmamış, % 16.5 direnç oranı açıklamıştır.

Zer ve Balcı (206) yoğun bakım hastalarından izole edilen 205 *candida* suşunun %27.3'ünde, Ay (201), boğazdan elde edilen izolatlarda %9.3, kandan izole edilenlerde %27.5 oranında flukonazol direnci saptamıştır.

Kuştimur ve ark. (210) 39 *candida* suşunda %22.5, Özcan (212), 46 *candida* suşunda %21.7, Demirbilek ve ark. (211) 116 *candida* suşunda %28 oranında, Özer ve arkadaşları (165) 153 suşta %7 oranında flukonazole direnç bildirmişlerdir.

Vorikonazol, flukonazolden türetilmiş sentetik bir triazoldür. Flukonazole dirençli *candida* izolatlarının önemli bir kısmı, çapraz direnç sonucu, ketokonazol ve itrakonazolün yanı sıra vorikonazole de dirençli hale gelmektedir (136).

Mokaddas ve arkadaşları (185) 607 *candida* suşunda vorikonazole direnç saptamaz iken, Swinne ve ark. (213), Alexander ve ark. (214), Sabatelli ve ark. (215) yaptıkları üç farklı çalışmada vorikonazol direncini %3.3 olarak saptamıştır. Zepelin ve arkadaşları vorikonazol için %0.4 direnç, %0.5 doza bağlı duyarlı olarak tespit etmişlerdir (205).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Özcan ve ark. (216)'nın 43 *albicans* dışı *candida* suşunun 2'sinde (%4.7), Bilgin (202), 58 *candida* suşunun 1'inde (%1.7), Özer ve arkadaşları (165) 153 *candida* suşunun %2'sinde, Özcan (212) 46 *candida* suşunun 8'inde (%17.3) vorikonazol direnci saptamışlardır. Gayyurhan (209) 200 *candida* suşunda 8 suşu (%4) dirençli 4 suşu (%2) doza bağlı duyarlı olarak saptamış, Karakoç (153) 88 *candida* suşunda, Özçelik (190) 120 *candida* suşunda vorikonazol direnci saptamamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada da her iki yöntem ile 172 *candida* suşunda vorikonazol direnci saptanmamıştır.

Yurtdışında Zepelin ve ark. (205) yaptığı çalışmada 561 suşta flusitozin için %4.5 direnç, Bedini ve ark.larının (217) İtalya'daki bir çalışmaya göre bu oran %4.2 olarak bulunmuştur. Mokaddas ve arkadaşları (185) 607 *candida* suşunda *C.albicans* için % 0.8, *C. tropicalis* için %9.3, *C.parapsilosis* için %6 flusitozin direnci

açıklamışlardır.

Özer ve arkadaşları (165) 153 *Candida* suşunda %12, Kaya ve arkadaşları (166) 103 *Candida* suşunda % 7.8 oranında flusitozin direnci saptamışlar. Özçelik ve arkadaşlarının (190) 2006 yılında 120 suş ile yaptıkları çalışmada flusitozin direncine rastlanmamıştır. Adiloğlu ve ark.(218) API ATB FUNGUS sistemi ile yaptıkları bir çalışmada flusitozin direncini %2.6 oranında bulurken, Kaya K ve ark.(174) idrardan izole edilen 45 *candida* suşunda yaptıkları çalışmada flusitozin direncine rastlamamışlardır.

Koçoğlu ve ark.larının çeşitli klinik örneklerden izole edilen *candida* suşlarıyla yapılan başka bir çalışmada, *C.albicans*'a karşı flusitozin direnci saptanmazken, tüm türlerde toplam direnç % 1.1 bulunmuştur (162).

Yenişehirli ve ark. (219) YBÜ'den gelen kan örneklerinden ürettikleri 68 *C.albicans* suşunda, Yıldız'in 75 tane maya suşunu tanımladığı çalışmada *candida* suşların hiçbirinde flusitozin direncine rastlamamışlardır (220).

Bizim yaptığımız çalışmada bir *C.albicans* suşu Vitek yöntemi ile dirençli bulunurken, aynı suş ATB Fungus 3 yöntemi ile doza bağlı duyarlı olarak tespit edilmiştir. Üç *C.crusei* suşu her iki yöntemle doza bağlı duyarlı olarak tespit edilmiştir. Direnç oranı Vitek yöntemi ile % 0.6, ATB Fungus 3 ile % 0 olarak bulunmuştur. Flusitozin'in etki spektrumunun dar olması, hepatotoksisite ve kemik iliği depresyonu gibi yan etkilerinden dolayı hastanemizde kullanımının kısıtlı olması nedeniyle direnç oranının düşük kalabileceği düşünülmüştür.

VITEK 2 Yeast Antifungal Duyarlılık testinde mevcut olmayan, ATB Fungus 3 içerisinde yer alan beşinci ilaç itrakonazol %95.3 duyarlı, %2.9 orta duyarlı ve %1.8 dirençli olarak tespit edilmiştir.

İtrakonazol, ergosterol sentez inhibisyonu ile etki gösteren triazol türevi antifungal ajandır. Geniş spektrumludur ve *candida* infeksiyonlarında yaygın kullanım alanına sahiptir. Diğer azol türevi ilaçlar gibi yaygın kullanılması, bu antifungale karşı primer ve sekonder direnç gelişimine sebep olmaktadır (135). NCCLS' in itrakonazol için belirlediği direnç sınırı $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ ' dir (150).

Ülkemizde Kuzucu ve ark.(221) tarafından yapılan bir çalışmada tüm *candida* izolatlarında %31 oranında itrakonazol direncine rastlanmıştır. Özçelik ve arkadaşlarının 2006 yılında kan kültürlerinden izole ettikleri 120 *Candida* suşunun

%8.3'ünde itrakonazole orta duyarlılık görülmüştür (190).

2006 yılında yapılan bir çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C.albicans* ve non-*albicans* türlerine karşı itrakonazol direnci sırasıyla %24.7 ve %20.4 bulunmuştur (222). ABD'nin Kuzeybatı ve Güneydoğu bölgelerinde yapılan 1995 yılındaki bir çalışmada itrakonazol direnci sırasıyla %17.2 ve %20 bulunmuştur (223).

Bizim yaptığımız çalışmada 172 suşun 164'ü (%95.3) duyarlı, 5'i (%2.9) orta duyarlı ve 3'ü (%1.8) dirençli olarak tespit edilmiştir. İtrakonazolün direnç oranını mevcut çalışmalara göre oldukça düşük bulunmuştur. Bu durumu hastanemizde itrakonazolün profilaktik olarak kullanılmadığının göstergesi olarak düşünülmüştür.

İn-vitro antifungal duyarlılık testleri; antibakteriyel duyarlılık testleri ile karşılaştırıldığında, standardizasyonu henüz tamamlanmamış testlerdir. Mikrodilüsyon için referans metodlarla benzer yöntemler olan (EUCAST ve CLSI/NCCLS önerileri doğrultusunda) ATB FUNGUS 3 sistemi ile VITEK 2 Compact antifungal duyarlılık testleri MİK değerlerini belirlemede referans sistem olan BMD ile %80'den fazla uyum göstermektedir. Literatürde yöntemlerin birbiriyle uyumunun gösterildiği çalışmalar mevcuttur. Park ve arkadaşlarının 2009 yılında 59 kan numunesinden izole ettikleri *Candida* türlerinin ATB FUNGUS ve VITEK yöntemlerinin CLSI M27 broth mikrodilüsyon yöntemleriyle karşılaştırdıkları çalışmada; Amfoterisin B ve flusitozin için her iki yöntem ile %100 uyumlu, Vitek sistemi ve ATB Fungus ile flukonazole sırasıyla %98.3 ile %83.6, vorikonazole %96.7 ve %83.6 uyum bulunmuştur (224).

102 *Candida* suşunun CLSI M-27 A önerileri doğrultusunda hazırlanan broth mikrodilüsyon yöntemi ile ATB Fungus 3 antifungal duyarlılık metodunun karşılaştırıldığı bir çalışmada Amfoterisin B, itrakonazol ve flukonazol için her iki yöntemde isatatiksel olarak fark bulunmamıştır (225).

Kim ve arkadaşlarının Kore'de 175 kan numunesinden izole ettikleri *Candida* türlerinin CLSI M-27 A önerileriyle hazırladıkları broth mikrodilüsyon yöntemi ile Vitek 2 Yeast antifungal duyarlılık testlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada amfoterisin B için %100, flukonazol ve vorikonazol için sırasıyla %92.6 ve %94.9 oranında uyum bulunmuştur (226).

Pfaller ve ark.larının 426 *Candida* izolatının CLSI önerileriyle hazırlanan broth

mikrodilüsyon yöntemi ve full otomatik antifungal duyarlılık sistemi olan Vitek 2 ile flukonazol duyarlılıklarını araştırdıkları bir çalışmada yöntemlerin 24 saatlik uyumu %97.9, 48 saatlik uyumu %93.7 olarak bulunmuştur ve bu çalışmada sergilenen yüksek uyum nedeniyle FDA, ABD’de flukonazol için VITEK 2 sisteminin klinik olarak kullanımını onaylamıştır (227).

Yine Pfaller ve arkadaşlarının aynı yıl içerisinde yapmış oldukları bir başka çalışmada üç farklı laboratuvarında yapılan broth mikrodilüsyon yöntemi ile VITEK 2 Antifungal duyarlılık testinin amfoterisin B, flusitozin ve vorikonazole duyarlılık sonuçları karşılaştırılmış, 24. Saat ve 48. Saat sonuçları sırasıyla amfoterisin için %99.1 ve %97, flusitozin için %99.1 ve %98.8, vorikonazol için %96.7 ve %96 olarak açıklanmıştır. Laboratuvarlar arasındaki uyum üç ilaç için %98’in üzerinde olmuştur (228).

Cuenca-Estrella M ve arkadaşları VITEK 2 Antifungal duyarlılık sisteminin CLSI ve EUCAST ile benzer sonuçlar veren, çok daha hızlı, güvenilir bir sistem olduğunu açıklamışlardır (229).

VITEK 2 Compact System identifikasyon ve antifungal duyarlılık tespitinin eş zamanlı yapılmasına olanak sağlamakta yaklaşık 18 saatte sonuç verebilmektedir. MİK değerlerinin spektrofotometrik değerlendirilmesi subjektiviteyi ekarte etmektedir. Ayrıca VITEK kurulumu basit, uygulaması kolay, daha az zaman gerektiren bir sistemdir. 48 saate sonuç veren BMD methoduyla karşılaştırıldığına yaklaşık 18 saatte sonuç vermesiyle avantajlı görülmektedir (230). ATB FUNGUS 3 Antifungal duyarlılık testi de basit, objektif, doğru ve referans MİK değerleri ile uyumlu olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte, uygulamasının kolaylığı, ilave cihaz gerektirmeden her laboratuvarında rahatlıkla kullanılabilmesi ve 24 saatte sonuç vermesi ile CLSI metoduna alternatif olabileceği yönünde çalışmalar mevcuttur (231, 232).

Yaptığımız bu çalışmada flusitozin, amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazolun referans metodların önerileri doğrultusunda antifungallerin sınır MİK değerlerini belirleyerek, direnç durumları tespit edilmiştir. Her iki duyarlılık testinde flusitozin (5-FC), flukonazol ve vorikonazol için aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p \geq 0.05$). Amfoterisin için aralarında anlamlı fark bulunmuştur. VITEK 2 Yeast Antifungal Duyarlılık testinde 5 suş (3 *C. glabrata*, 1 *C. crusei*, 1 *C. tropicalis*) doza bağlı duyarlı, 1 *C. glabrata* suşu dirençli kabul edilirken,

ATB Fungus 3 Antifungal Duyarlılık testinde tüm suşlar Amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Amfoterisin B tüm suşlar için ATB Fungus 3 yöntemi ile % 100 duyarlı bulunurken, VITEK yöntemi ile duyarlılık oranı % 96.5 olarak değerlendirilmiştir. Sistemlerin identifikasyon açısından birbiriyle uyumu % 75 olarak saptanmıştır. Yaptığımız çalışmada VITEK 2 Yeast Compact Sistem'de low discrimination oranlarının yüksek olması identifikasyon başarı oranının düşük olmasını açıklamaktadır. Sistemin 18 saatte hem identifikasyon hem de antifungal duyarlılığı sonuçlandırması, otomatik cihazda MİK değerlerinin spektrofotometrik değerlendirilmesi sistemin avantajlı yanlarından. API 20C AUX sisteminde türbiditenin değerlendirilmesinde güçlük olması, 48 saatlik tanımlama oranının düşük olması, tam identifikasyon için 72. saatin beklenmesi bu yöntemin dezavantajlarını oluşturmaktadır. Her iki yöntemde bazı türlerin tanımlanmalarında halen eksiklik olması ve ek testlere ihtiyaç duyulması aşikârdır (233).

Kitch ve ark. (234), Heelan ve ark. (235), Wadlin ve ark. (236) klinik olarak önemli mantarların tanımlanmasında aynı gün içinde güvenli sonuçlar elde ettiklerinden RYP sisteminin rutin laboratuvarında kullanımını önermişlerdir. Aynı şekilde Espinel-Ingroff ve ark. (237) da sık görülen mantar türlerinin bu sistemle % 95 oranında, nadir görülen türlerin ise ancak % 75-79 oranında doğru olarak tanımlanabildiğini bildirmişlerdir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da RYP'in 4 saat gibi kısa sürede sonuç vermesi, sonuçların API 20C AUX 'e benzer olması, uygulamasının kolaylığı yöntemin avantajlarını oluşturmaktadır. Her iki sisteme göre pahalı olması da dezavantajıdır.

Germ tüp testi *albicans* türlerinin belirlenmesi için basit, ekonomik bir tarama testidir. Ancak orta düzeyde uzmanlık gerektirir ve ortalama üç saat daha geç tanı koyar. Ayrıca %5 oranında yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar verebilir. Carrillo-Munoz ve arkadaşlarının 2003 yılında *C.albicans* identifikasyonunda BactiCard *Candida* ve germ tüp testini karşılaştırdıkları bir çalışmada 228 *C. albicans* and 36 *C. dubliniensis* içeren 536 izolat incelenmiş. Her iki test de *C.albicans* ile *C.dubliniensis* ayırımı yapamamaktadır. BactiCard *Candida* testinin sensitivitesi ve spesifitesi sırasıyla %97.8 ve %96.5 olarak bulunmuştur. BactiCard *Candida* 246 (93.2%), ve germ tüp testi 256 (97%) izolatı *C.albicans* olarak tanımlamış. BactiCard *Candida* kiti ile 8, germ tüp testi ile 4 izolat yanlış pozitif olarak tanımlanmıştır (238).

Crist ve arkadaşlarının Pensilvanya’da yaptıkları bir başka çalışmada API 20 C sistemi ile önceden tanımlanan 303 *C. albicans*, 153 *Candida glabrata*, 70 *Candida tropicalis*, 36 *C. parapsilosis* ve diğer *Candida* türlerine ait 13 izolata BactiCard *Candida* (BC)(Remel) test kitleri ile germ tüp (GT) testi uygulanmış. BC yöntemi ile 301 (%99.3), GT ile 287 (%94.7) izolat *C. albicans* olarak tanımlanmış. BC ile bir, GT ile iki izolat yanlış pozitif olarak değerlendirilmiş. Enzimatik metodların hızlı ve daha güvenilir olması GT testine alternatif olarak düşünülmüştür (239).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada BactiCard *Candida* (Remel) test kitleri ile 100 , germ tüp testi ile 85 izolat *C.albicans* olarak tanımlanmıştır. BactiCard *Candida* testinin sensitivitesi ve spesifitesi sırasıyla %98 ve %89.7 , germ tüp sensitivitesi ve spesifitesi sırasıyla %83.3 ve %95.8 olarak bulunmuştur. BactiCard *Candida* kiti ile 8, germ tüp testi ile 3 izolat yanlış pozitif olarak tanımlanmıştır. BactiCard *Candida* kiti ile pozitif ve negatif prediktif değerler sırasıyla %89.2 ve %97.2, germ tüp testi ile pozitif ve negatif prediktif değerler sırasıyla %96.5 ve %80.4 olarak bulunmuştur. Enzimatik testlerin hızlı ve kolay olması, duyarlılığın yüksek olması, klinik durumu riskli hastalarda klinisyene ön bilgi vermek açısından germ tüp testine alternatif olarak kullanılabilmesi düşünülmüştür.

Ekşi ve arkadaşlarının rutin hasta bakımında çalışan sağlık personelinin ellerindeki mikrobiyal kontaminasyonun araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada 154 örneğin 148’inde (% 96) üreme saptanmış. Sağlık çalışanlarının 39’unun (% 25) ellerinden tek ya da birden fazla türde mikroorganizma (n=47) geçici flora elemanı olarak tanımlanmış en sık rastlanan geçici flora elemanı *Candida spp.* (% 7) olarak izole edilmiştir (240).

Çalışmamıza ek olarak hasta bakımında çalışan sağlık personelinin ellerinden ikişer defa üçerli grup olarak aldığımız sürüntülerde *candida* üremesine rastlanmamıştır.

Sonuç olarak; son yıllarda, bir yandan kanser, steroidler, kemoterapi veya AIDS sebebiyle immün sistemi baskılanmış konak sayısı artarken, diğer yandan mantar enfeksiyonu sayısının da arttığı, patojen mantarların tiplerinin ve direnç paternlerinin değiştiği; yoğun bakım gibi yüksek risk altındaki hastaların bulunduğu birimlerde *candida* türlerinin önemli patojenler olarak yüksek oranda mortaliteye sahip oldukları dikkati çekmektedir.

Antifungal ilaçların profilaktik kullanımının artması ile birlikte dirençli *candida* suşlarının sayısında gittikçe artmakta ve invitro antifungal duyarlılık testlerinin önemi anlaşılmaktadır. Ancak antifungal duyarlılık testlerinde laboratuvarlar arası farklılık göstermeyen standart bir yöntem mevcut değildir.

Hastanemizde yoğun bakım yatak sayısının diğer çalışmalara göre düşük sayıda olmasına, kandidemi için risk grubunda bulunan hastaların bulunduğu yanık ve organ nakil üniteleri ile dahiliye onkoloji ve hematoloji gibi bazı servislerin olmamasına rağmen saptanan insidans bildirilen rakamlara yakın bulunmuştur. Aşırı antibiyotik kullanımı, hastane bütçesinin yetersizliği, infeksiyon kontrol önlemlerine yeterince uyulmaması gibi faktörlerin kandidemi insidansını arttırdığı belirtilmiştir (186).

Bizim saptadığımız sonuçlara genel olarak bakıldığında; tüm dünyada ve ülkemizde olduğu gibi *candida* infeksiyonlarında ilk sırayı *C. albicans* alarak, bölgemizde en yaygın görülen tür olmuştur. Ancak non-*albicans candida* türlerinde de artış görülmektedir. Elde ettiğimiz verilere göre duyarlılık oranlarının % 96-100 arasında değişmesi hastanemizde henüz direnç gelişmediğini göstermektedir. Bu durum ampirik tedavilere katkı sağlayacaktır. Ancak hastanemizde non-*albicans* olarak bildirilen suşlarda intrinsek flukonazol direnci olabileceği düşünülerek amfoterisin B kullanımı yaygındır. Yan etkilerinin fazla olması kontrollü kullanımlarını gerektirmektedir ve maliyet açısından da hastanemiz bütçesine ek yük getirmektedir. Bu nedenle yaptığımız çalışma ile *Candida* identifikasyon ve antifungal duyarlılık tespitinin rutin uygulamada kullanılmasının epidemiyolojik çalışmalar yanında flukonazol, itrakonazol gibi antifungal ajanlara karşı gittikçe artan direnç oranları nedeniyle de antifungal duyarlılık testlerinin tedavi planlamasında önemi bir kez daha vurgulanmıştır. Ayrıca ülke ekonomisinde, üniversite kaynaklarının etkin, sonuca yönelik ve sağlıklı kullanılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Ticari tanımlama testlerinin duyarlılığı giderek artmakta, bir çok yeni seçenek test geliştirilmektedir. Her laboratuvar kendi koşullarına uygun testi seçerken; performans, kullanım kolaylığı, inkübasyon süresi ve maliyetini göz önünde bulundurmalıdır. Klasik tanı yöntemlerinin öncelikli kullanımı düşünülmelidir.

Tablo 29.Ülkemizde farklı merkezlerde, farklı yöntemlerle yapılmış çeşitli klinik örneklerden elde edilen *candida* suşlarının dağılımı

Araştırmacı	Çalışma yılı	Suş sayısı	<i>C.albicans</i> (%)	<i>C.tropicalis</i> (%)	<i>C.parapsilosis</i> (%)	<i>C.glabrata</i> (%)	<i>C.krusei</i> (%)	Diğer (%)
Gültekin ve ark. (189)	2001-2002	94	56.4	10.6	3.2	19.1	4.3	6.4
Adiloğlu ve ark.(218)	2001-2002	38	81.3	2.6	2.6	13.2	-	-
Yücesoy ve ark.(170)	2001-2004	490	53.3	14.5	6.5	12.2	1.6	11.9
Otağ ve ark.(160)	2003-2005	872	45.6	18.6	14.9	10.6	2.4	7.9
Cömet ve ark.(161)	2003-2006	320	65.6	7.8	11.3	8.8		6.5
İris ve ark.(163)	2005-2007	37	43	22	22	2.7	2.7	7.6
Yıldız ve ark.(242)	2007	75	54.6	10.6	12	9.3	-	13.5
Tulumoğlu ve ark. (167)	2006-2008	101	54.4	2.9	33.6	-	-	9.1
Ulutürk ve ark.(243)	2008	70	61.4	25.7	4.2	4.2	1.4	3.1
Özer ve ark. (165)	2008-2009	153	45	20	-	22	-	13
Altuncu ve ark.(241)	2000-2010	52	69.2	1.8	23		1.8	4.2
Ekşi ve ark.(168)	2008-2010	200	53	7.5	24.5	2	4.5	8.5
Kaya ve ark.(166)	2009-2010	103	62.1	5.8	3.8	21.3	0.9	6.1
Bu çalışma	2009-2011	175	58.2	17.6	9.6	7.4	1.8	5.4

Tablo 30. Ülkemizde farklı merkezlerde, farklı yöntemlerle yapılmış çalışmalardan elde edilen *Candida* suşlarının antifungal duyarlılık oranları

Araştırmacı	Yöntem	Çalışma yılı	Suş sayısı	5-FCU	AMB	FCA	VRC	ITR
Zer (206)	E-test	1999-2000	205	80	80.5	72.7	-	
Akçam (71)	ATB Fungus	2003-2007	116	99.1	100	92.2	-	89.7
Özcan (212)	E-test	2005	46	93.4	97.8	73.9	78.6	89.7
İris (163)	ATB Fungus	2005-2007	37	95	100	81	100	81
Özçelik ve ark.(190)	Vitek	2006	120	100	100	98.4	100	100
Karakoç (153)	Mikrodilüsyon	2007	88	100	100	85.2	100	-
Yıldız ve ark.(242)	ATB Fungus	2007	75	100	100	85	-	73
Özer ve ark.(165)	Vitek	2008-2009	153	88	94	94.2	92.2	-
Ekşi ve ark. (168)	Mikrodilüsyon	2008-2010	200	-	100	77.5	94	-
Kaya ve ark.(166)	Vitek	2009-2010	103	92.2	89.3	94.2	92.2	-
Rahmanlı (169)	Vitek	2008	129	95.3	86	91.4	99.2	-
Bu çalışma	ATB Fungus	2009-2011	175	97.6	100	94.8	99.4	95.3
Bu çalışma	Vitek	2009-2011	175	97.6	96.5	95.8	99.4	-

6. KAYNAKLAR

1. Hazen KC, Howell SA. *Candida* , *Cryptococcus* ve tıbbi önemi olan diğer mantarlar. Çev. Ed. Başustaoğlu A. Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Atlas Kitabevi, 2009; 1762-1788.
2. Edwards JE, Filler SG: Current strategies for treating invasive candidiasis: emphasis on infection in nonneutropenic patients, Clin Infect Dis 14:106 (1992).
3. Korten V, Kılıc G, Eskiturk A, Soyletir G. M.U: Hastanesinde 1991 yılında tesbit edilen nozokomiyal enfeksiyonlar, Türk Hastane Enfeksiyonları Kongresi Özet Kitabı, İstanbul 182 (1992).
4. Jensen J, Munoz P, Guinea J, Rodriguez-Creixems M, Pelaez T, Bouza E. Mixed fungemia: Incidence, risk factors and mortality in general hospital. CID. 2007; 44 (15): 109-114.
5. Kao AS, Brandt ME, Pmitt WR, Conn LA, Perkins BA. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. J Clin Infect Dis 1999; 29: 1164-70.
6. Yücesoy M, Yuluğ N. Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları. Ankem Derg 2000; 14: 71-8.
7. Edwards JE. *Candida* Species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (eds) Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone 2000: 2656-74.
8. Şahin E, Ersöz G, Otağ F, Kandemir Ö, Tiftik N , Kaya A, Yalçın A. Hematolojik maligniteli nötropenik ateşli hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. İnfeksiyon Dergisi. 2006; 20 (2): 121-124.
9. Antenus AGV, Pasqualotto AC, Diaz MC, Azevedo PA, Severo LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. Rev Inst Med Trop SPaulo 2004; 46:239-41.
10. Erturan Z. Başlıca hastane enfeksiyonu etkeni mantarlar. Aktüel Tıp Derg 2002; 7:14-8.
11. Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG. Antifungal susceptibility testing: Technical

- advances and potential clinical applications. *Clin Infect Dis*. 1997; 24: 776-784.
12. Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: 73-81.
 13. Arıkan S. Antifungal duyarlılık testlerini nasıl ve ne zaman yapalım. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongre Kitabı. 2000; Antalya, 243- 246.
 14. Yücel A: Candidaların dünü, Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Kitabı; 3- 28, Eskişehir, 2002.
 15. Kwon Chung KJ, Bennett JE. *Medical Mycology*. Philadelphia; Lea and Fabinger, 1992; 280-336
 16. Segal E ve Elad D. Candida species and Blastoschizomyces capitatus. Collier L, Balows A, Sus man M. Topley and Wilson's *Microbiology and Microbial Infections*. v.4 Ajello L, Hay RJ. *Medical Mycology*. 9th edition. London: 1998:423-460.
 17. Unat Ek. *Tıbbi Mikoloji*. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları Rektörlük no: 948, Dekanlık No: 51, 2. Baskı. İstanbul, 1962: 147-162.
 18. Bilgehan H. Candida 'ların tarihçesi, ekolojisi ve dağılımı. Ed: Tümbay E. Candida ve infeksiyonları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No 6. İzmir, Bilgehan Basımevi, 1986:1-8.
 19. Tümbay E: Candida türleri, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1081-1086, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
 20. Back-Sague C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States 1980-1990 and National Nosocomial Infectious Surveillance System. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-51.
 21. Warnock D.W. Mantarların Taksonomisi ve Sınıflandırılması. Çev. Ed. Başustaoğlu A. *Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Atlas Kitabevi, 2009; 1721-1727.
 22. Levinson W, Jawetz Ernest: Temel mikoloji, Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmunoloji; 343- 345, Güneş Kitabevi, Ankara, 2004.
 23. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM: *Medical mycology*, In: "Zinsser Microbiology" ,20thEd, Appleton and Lange; 1071-1157, 1992.
 24. Dixon DM, Rhodes JC, Fromtling RA: Taxonomy, classification and morfology of the fungi, In "Manual of Clinical Microbiology", Ed. Murray PR, Baron EJ, PfallerMA, TenoverFC, Yolken RH,8thEd, 1653-1659, DC,ASM Press,

- Washington, 2003.
25. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Woods GL and Procop GW: Mycology, In “Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology”, Ed. Koneman EW, 6th Ed, 1151- 1244, Lippincott Williams and Wilkins Publishers, USA, 2006.
 26. İnci R: Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflanması, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1015- 1023, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
 27. www. mikrobiyoloji. org. 24.09.2011
 28. Murray PR, Rosenthal KS and Pfaller MA. Fungal classification, structure and replication. Medical Microbiology. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, 2005;5:67.
 29. Fromtling RA, Rhodes JC, Dixon DM. Taxonomy, Classification, and Morphology of Fungi. In: Murray PR, Jorgensen JH, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. Eighth edition. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 2003 p. 1653- 1658.
 30. Sullivan DJ, Henman MC, Moran GP, O’Neill LC, Bennett DE, Shanley DB, Coleman DC. Molecular genetic approaches to identification, epidemiology and taxonomy of non-albicans Candida species. J Med Microbiol 1996; 44: 399- 408.
 31. Koç AN: Tıbbi bakımdan önemi olan Candida türlerinin mikolojik özellikleri, Candida mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı; 36- 46, Eskişehir, 2002.
 32. Saniç A. Mantarlar: Genel Mikrobiyolojik Özellikler ve Sınıflandırma Mutlu Ulusoy S, Arman D, Uzun Ö editör. Fungal İnfeksiyonlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2006 p. 9- 20
 33. Calderone RA. Taxonomy and biology of Candida . In: Calderone RA ed. Candida and Candidiasis. First edition. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 2002 p.15-27.
 34. John E, Edwards JR. Candida species. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth edition. Pennsylvania, Churchill Livingstone, 2000 p. 2656- 2674.
 35. Hilmioglu S, Ilkit M, Badak Z. Comparison of 12 liquid media for germ

- tube production of *Candida albicans* and *C. tropicalis*. *Mycoses* 2007; 50: 282-285
36. Germ_tube_(2).jpg 2000.10.20 23:11:06 timm.main.teikyo-u.ac.jp
 37. Willke Topçu A, Çerikçioğlu N. *Candida* türleri. Ed: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Cilt 2. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:1797-1809.
 38. Poyraz Ö. Fırsatçı enfeksiyon oluşturan mantarlar. *Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji*. Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, No. 101. Sivas, 2006:129-152.
 39. http://www.istabip.org.tr/media/upload/data/kg/cilt20sayi4/018_mantar.pdf
 40. Yücel A, Kantarcıoğlu AS: *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler, *Cerrahpaşa J Med*; 30 (3), 236- 246, 1999.
 41. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (eds). *The yeasts*. Bailey & Scott's *Diagnostic Microbiology* (12th ed.). Missouri, Mosby Elsevier, 2007: 696-702.
 42. Pincus DH, Orena S, Chatellier S. Yeast identification past, present and future methods. *Med Mycol*. 2007; 45 (2): 97- 121.
 43. Rodriguez-Todela JL, Martinez-Suarez JV. Improved medium for voriconazole susceptibility testing of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38: 45- 48.
 44. Çerikçioğlu N: *Candida* 'ların ince yapısı, *Candida* mikrobiyolojisi ve enfeksiyonları simpozyumu kitabı; 47- 55, Eskişehir, 2002.
 45. Yücel A. Tıp bakımından önemli *Candida* türlerinin mikolojisi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1987; 17: 45-59.
 46. Martinez JP, Gil ML, López-Ribot JL, Chaffin WL. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11(1):121-141.
 47. Marcilla A, Valentin E, Sentandreu R. The cell wall structure: developments in diagnosis and treatment of candidiasis. *Int Microbiol*. 1998; 1:107-116.
 48. Nelson RD, Shibata N, Podzorski RP, Herron MJ. *Candida manan*: chemistry, supression of cell-mediated immunity, and possible mechanisms of action. *Clin Microbiol Rev*. 1991;4:1-19.
 49. Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martinez JP. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and

- expression. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998;62 (1):130-180.
50. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. *Candida albicans*'ta mannan: çeşitli özellikleri ve önemi. *Cerrahpaşa J Med.* 2004;35:42-45.
 51. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* Lippincott Philadelphia New York 1997: 983- 1069.
 52. Calderone RA, Braun PC. Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. *Microbiological Reviews.* 1991;55:1-20.
 53. Masuoka J. Surface glycans of *Candida albicans* and other pathogenic fungi: physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:281-310.
 54. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M: *Mikolojiye giriş, Mikrobiyoloji 2000,* 358- 363, Asya Tıp Yayıncılık, İzmir, 1998.
 55. Yücel A. *Candida albicans*'da boru oluşumu üzerine araştırmalar. Doçentlik tezi. İÜ Cerr. Tıp Fak. Mikrobiyoloji, Tropikal Hastalıklar ve Parazitoloji Kürsüsü. 1973.
 56. Pujol C, Renaud F, Mallié M, de Meeus T, Bastide JM. Atypical strains of *Candida albicans* recovered from AIDS patients. *J Med Vet Mycol* 1997; 35: 115-121.
 57. Yücel A. Tıp Mikolojisinin dünü ve bugünü. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (İzmir, 4-6 Mayıs 1999) Bildirileri. İzmir, 1999.
 58. Yücel A, Kantarcıoğlu S. *Candida albicans* kökenlerinin kaç tanesi *C. dubliniensis*? I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (İzmir, 4-6 Mayıs 1999) Bildirileri. İzmir, 1999.
 59. Coleman DC, Sullivan DJ, Bennet DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. *Candidiasis : the emergence of a novel species, Candida dubliniensis.* *AIDS* 1997; 11 :557-567.
 60. Sullivan D, Haynes K, Bille J et.al. Widespread geographic distribution of oral *Candida dubliniensis* strains in Human Immunodeficiency Virus-infected individuals. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 960-964.
 61. Coleman D, Sullivan D, Moran G, Shanley D. *Candida dubliniensis* - recognition of a new pathogen. 6th International Mycological Congress. Israel,

- Jerusalem, 23-28 August 1998. Conference Abstracts Jerusalem, 1998; 22.
62. Schoofs A, Odds FC, Colebunders R, Ieven M, Goossens H. Use of specialized isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 296-300.
 63. İlkit M, Hilmioğlu S, Işıkgöz Taşbakan M, Aydemir Ş. *Candida* kökenlerinin tanınmasında BİGGY agarın yeri. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. Kongre Kitabı. İzmir. 1999: s.273.
 64. Warren NG, Haznen KC. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. *Manual of Clinical Microbiology*, 1999; 7: 1184-1199.
 65. Çerikçioğlu N. *Candida* infeksiyonlarının patogenezi. In: Wilke S, Ünal S, Doğanay M (eds). 7. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre tutanakları. Ankara: Kent matbaacılık, 1994: 103-10.
 66. Soll, D. R. Ve C. Pujol. 2003. *Candida albicans* clades. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 39:1
 67. Fridkin SK, Jarvin VR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 499-511.
 68. Fox CR, Sande MA. *Candida* Türleri (Çev. S. Arıkan). In: Wilson WR, Sande MA (eds). *Current Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi*. Dündar İH (Çev. Ed). Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 734-744.
 69. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA. Risk factors for *Candida* bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 177-86.
 70. Vincent JL, Anaissie E. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care Med*, 1998; 24: 206-216.
 71. Akçam A.E. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde izlenen kandidemi olgularının epidemiyolojik, klinik ve antifungal duyarlılık yönünden incelenmesi. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Adana, 2009.
 72. Voss A, le Noble JLML, Verduyn Lunel FM. Candidemia in intensive care

- unit patients: risk factors for mortality. *Infection* 1997; 25; 8-11.
73. Pittet D. Links between fungal colonisation and infection In: Vincent JL, ed. *The Management of Fungal Infection*. The Liposome Company Ltd. 1999: 33-42
74. Leon C, Ruiz-Santana S. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med* 2006; 34: 730-37.
75. Pittet D, Monod M, Suter PM. *Candida* colonisation and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg*, 1994; 220:751-58.
76. Richet HM, Andremont A. Risk factors for candidemia in patients with acute lymphocytic leukemia. *Rev Infect Dis*, 1991; 13: 211-15.
77. İnci R: *Candida* infeksiyonlarının patogeneğinde konağın rolü, *Candida* mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı; 71- 85, Eskişehir, 2002.
78. Shoham S, Levitz SM. The immun response to fungal infections. *Br J Haematol*. 2005;129:569-582.
79. Romani L. Immunology of invasive candidiasis. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. 1th ed. Washington DC: American Society for Microbiology press, 2002: 223-241.
80. Vartarian SE: Virulence properties and nonimmune pathogenetic mechanisms of fungi, *Clin Infect Dis*; 14 (Suppl 1), 30- 36, 1992.
81. Yücel A, Kantarcıoğlu AS: *Candida* 'ların patojenlik belirgenleri, *Cerrahpaşa J Med*, *Cerrahpaşa J Med*; 31 (3), 172- 186, 2000.
82. Cengiz SA, Us E, Cengiz AT. Slime faktörünün Klinikteki yeri ve önemi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2006;13(3):193-197.
83. Özcan SK. Tıbbi gereçlerle ilişkili *Candida* biyofilm ve enfeksiyonları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2007;27:589-600.
84. Pittet D, Li N, Woolson RF, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial blood-stream infections: A 6-year validated, population-based model. *Clin Infect Dis* 1997;24:1068-78.
85. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:167-193.
86. Taşova Y. Biyofilm ve yabancı cisim infeksiyonları. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı; 16-20 Kasım, 2005;

- Antalya, Türkiye. İstanbul: Şan; 2005:11-14.
87. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, López-Ribot JL. Candida biofilms: an update. *Eukaryot Cell*. 2005;4(4):633-638.
 88. Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility of Candida biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46 (6): 1773-1780.
 89. Howard DH: Acquisition, transport and storage of iron by pathojenik fungi, *Clin Microbiol Rev*; 12: 394- 404, 1999.
 90. Hube B, Naglik J: Candida albicans proteinases: resolving the mystery of a gene family, *Microbiology*; 147: 1997- 2005, 2001.
 91. Zepelin MB, Meyer I, Thomssen R, Würzner R, Sanglard D, Telenti A: HIV-Protease inhibitors reduce cell adherence of Candida albicans strains by inhibition of yeast secreted aspartic proteases, *J Invest Dermatol*; 113: 747- 751, 1999.
 92. De Bernardis F, Chiani P, Ciccozzi M, Pellegrini G, Cedia T et al: Elevated aspartic proteinase secretion and experimental pathogenicity of Candida albicans isolates from oral cavities of subjects infected with Human Immunodeficiency Virus, *Infect Immun*; 64: 466- 471, 1996.
 93. Ghannoum MA: Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis, *Clin Microbiol Rev*; 13: 122- 143, 2000.
 94. Ener B. Candida infeksiyonlarının patogenezi: etkenin rolü. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Eskişehir, Kongre Kitabı 2002*: 65-70.
 95. Arıkan S, Sancak B, Haşçelik G, Günalp A. Candida albicans izolatlarında fosfolipaz aktivitesinin saptanması. *Flora* 1998; 3: 240-243.
 96. Puzniak L, Teutsch S, Powderly W, Polish L. Has the epidemiology of nosocomial candidemia changed? *Infect Control Hospital Epidemiol* 2004; 25:628-33.
 97. Ener B. Fungal hastane infeksiyonları: Epidemiyoloji ve kontrol. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 1998; 2: 150-5.
 98. Nucci M, Anaissie E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? *Clin*

- Infect Dis, 2001; 33:1959-67.
99. Singh N. Changing spectrum of invasive candidiasis and its therapeutic implications. Clin Microbiol Infect 2001;7 Suppl 2:1-7.
 100. 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 (2): 239-44.
 101. Resende JC, de Resende MA, Saliba JL. Prevalence of Candida spp. in hospitalized patients and their risk factors. Mycoses 2002;45(8):306-12.
 102. Ghannoum MA. Candida : a causative agent of an emerging infection. J Investig Dermatol Symp Proc 2001; 6 (3): 188-96.
 103. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different Candida species. Clin Infect Dis 1997;24(6):1122-8.
 104. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B et al. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Clin Infect Dis 1999; 28 (5): 1071-9.
 105. White MH. The contribution of fluconazole to the changing epidemiology of invasive candida infections. Clin Infect Dis 1997; 24 (6): 1129-30.
 106. Larone DH. Yeast and yeast like organisms. Medically Important Fungi: A Guide to Identification. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology press, 2002: 109-143.
 107. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Hastane kaynaklı mikozların epidemiyolojisi. Cerrahpaşa J Med 2001;3: 259-269.
 108. Murray PR, Rosenthalken S, Pfaller MA. Tümbay E. Fırsatçı Mikozlar. Tıbbi Mikrobiyoloji. Altıncı Bask. Çev. Ed. Ahmet C. Başustaoğlu. Atlas Kitapçılık Ankara 2010;751-774.
 109. Willke A. Kandidemi: Nasıl değerlendirilmeli ne yapılmalı. İnfeksiyon Dergisi. 2007; 21 (Ek):117-122.
 110. Uzun Ö. Yoğun bakım ünitesinde fungal infeksiyonlara yaklaşım. Yoğun Bakım Dergisi. 2003; 3 (2): 135-144.

111. Kalkancı A. Yoğun bakım ünitelerinde mantar etkenleri profilindeki değişim. 3.Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Simpozyumu, Yoğun Bakım Dergisi. 2007; 7 (1): 103-107.
112. Ener B. Kandidoz. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003: 218-220.
113. Uzun Ö. Epidemiyoloji ve direnç: Tedavi kararını nasıl etkiler? www.ekmud.org/dosya/ege3/ege3-ouzun.pdf
114. Hughes WT, Flynn PM. Candidiasis. In: Feigin RD, Demmler GJ, Cherry JD, Kaplan SL, eds. Textbook of Pediatric Infectious Disease. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2004: 2569-2579
115. Haron E, Vartivarian S, Anaissie E, Dekmezian R, Bodey GP. Primary Candida pneumonia. Experience at a large cancer center and review of the literature. Medicine. 1993; 72: 137-142
116. Akalın H. Kandidemilerde risk faktörleri ve risk değerlendirmesi. Ankem Dergisi. 2008; 22 (Ek 2): 270-274.
117. Kauffman CA. Candiduria. CID 2005; 41: S371-376
118. Ener B: Nadir görülen fırsatçı mikozlar, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1105- 1108, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
119. Tümbay E: Cryptococcus neoformans, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1087- 1090, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
120. Stevens D A. Dignosis of fungal infections: current status. J.Antimicrob Chemother, 2002; 49(11):11.
121. Hilmioğlu S. Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı: Klasik tanıda izlenecek yol ne olmalı? Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Tutanaklar; 21-22 Haziran, 2002; Eskişehir, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39:125-131.
122. Kasımoğlu Ö. Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. Tümbay E. (ed.) Candida ve infeksiyonları. Türk Mikrobiyol Cem Yay. No 6. İzmir, Bilgehan basımevi, 1986:61-64.
123. Arıkan S. Mantar enfeksiyonlarında tanı yöntemleri. Ed: Günalp A, Yılmaz

- YA, Pınar A. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvar eğitim kitabı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 2003:139-164
124. Buckley HR. Identification of yeasts. In: Evans EG, Richardson MD (eds). Medical Mycology: A Practical Approach. Oxford, Oxford University Press, 1989: 97-109.
125. Kalkancı A. Mikoizların serolojik tanısında yenilikler. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005: 21-32.
126. Calandra T. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. Critical Care. 14: R222.
127. McLintock LA, JonesBL. Advances in the molecular and serological diagnosis of invasive fungal infection in hemato-oncology patients. Br J Haematol 2004; 126: 289-297.
128. Ostrosky-Zeichner L, Alexander B, Kett D. Multi-center clinical evaluation of the (1-3) beta-D- glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. Clin Infect Dis 2005; 41: 654-659
129. Willinger B. Laboratory diagnosis and therapy of invasive fungal infections current Drug Targets 2006; 7:513-522.
130. Lindsley MD, Warnock DW, Morrison CJ. Seroloji and diagnosis of fungal Infections. In: Dentrick B, Hamilton RG, Folds JD . 7th ed. Washington, DC: ASM Pres, 2006.
131. Saraçlı MA: Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısında moleküler ve genetik tanı yöntemleri, Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Kitabı; 133- 143, Eskişehir, 2002.
132. Kalkancı A. Etken Mantarların Klinik Örnekte Moleküler Yöntemlerle Gösterilmesi ve Tanımlanması. 4. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara: Kongre Kitabı, 2006: 132-143.
133. Sürücüoğlu S. Sistemik azoller ve amfoterisin B'nin yeni formülasyonları 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, 4-6 Mayıs 1999, Kongre Kitabı, Tumbay E, İnci R, Hilmioğlu S, Aydemir Ş (eds), Ege Üniversitesi Basimevi, İzmir, 1999: 183-186.

134. Kiraz N: Antifungal tedavide yenilikler, Türkiye Klinikleri Farmakoloji Derg; 1(2), 2003.
135. İnci R: Antifungal ilaçlar, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1115-1158, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
136. Arıkan S, Rex JH. Antifungal Ajanlar. Çev. Ed. Başustaoğlu A. Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Atlas Kitabevi, 2009; 1949-1960
137. Alexander BD, Perfect JR. Antifungal resistance trends towards the year 2000. Implication for therapy and new approaches. *Drugs*, 1997; 54: 657-78.
138. Yücesoy M. Candida türlerinde antifungal direnç mekanizmaları. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:46-58.
139. Kalkancı A. Yeni antifungaller ve direnç mekanizmaları. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:272-284.
140. Kayaalp O. Antifungal antibiyotikler ve diğer antifungal ilaçlar. Kayaalp O, ed. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaası, Ankara, 1998;1: 293-302.
141. Rex, J. H., M. G. Rinaldi ve M. A. Pfaller. 1995. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:1-8.
142. Pfaller, M. A. Ve D. J. Diekema. 2004. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida* . *Clin. Microbiol. Infect.* 10:11-23.
143. Kebudi R. Yeni antifungaller. *Ankem Dergisi.* 2007; 21(Ek 2): 210-215.
144. Arıkan S., B. Sancak ve G. Hascelik. 2005. In vitro activity of capsosungin compared to amphotericin B, fluconazole, and itraconazole against *Candida* strains isolated in a Turkish University Hospital. *Med. Mycol.* 43:171-178.
145. Metin DY. Ekinokandinler ve yeni azoller. *İnfeksiyon Dergisi.* 2007; 21(Ek): 185-187.
146. Arıkan S. *Candida* infeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar*; 21-22 Haziran, 2002; Eskişehir, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 43, 2002:161-167.

147. Çerikçioğlu N. Antifungal duyarlılık testleri. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı; 13-15 Nisan, 2006, İstanbul, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 54, 2006: 93-104.
148. www.clsi.org/source/orders/free/M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved Standard-third edition. CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, 2008. Vol.28 No.14
149. Yücesoy M. Antifungallere duyarlılık ve direnç, duyarlılık testlerinin gerekliliği ve yorumu. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:301-312.
150. Espinel- Ingroff A, Phaller MA. Duyarlılık Test Yöntemleri: Mayalar ve Küfler Çev. Ed. Başustaoğlu A. Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Atlas Kitabevi, 2009; 1972-1986.
151. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Boyama Yöntemleri; 73-81. Barış Yayınları, 4. Basım, 2004 Ankara.
152. Munson EL, Troy DR, Weber JK, Messer SA, Pfaller MA. Presumptive identification of *Candida kefyr* on levine formulation of Eosin Methylene Blue Agar. J Clin Microbiol 2002; 40: 4281–4284.
153. Karakoç E. Çeşitli *Candida* türlerinin dört değişik antifungale duyarlılıklarının mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Erzurum, 2007.
154. Peng CF, Lee KM, Lee SH. Characterization of two chromogenic media of *Candida* ID2 and CHROMagar *Candida* for preliminary identification of yeasts. J Biomed Lab Sci. 2007; 19 (2): 63-68.
155. Bikandi, J, San Millán, R., Moragues, M.D. et al. (1998). Rapid identification of *Candida dubliniensis* by indirect immunofluorescence based on differential localization of antigens on *Candida dubliniensis* blastospores and *Candida albicans* germ tubes. J Clin Microbiol. 36: 2428-2433.
156. Freydiere AM, Guinet R, Boiron P: Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods, Med Mycol 2001; 39 (1): 9-33.

157. Trick, W. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clinical infectious diseases*, 2002; 35: 627.
158. Pullukçu H. *Bamçag Bülteni Ocak 2011*; 2: D1 – 7.
159. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, 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*; 36 (7): 1886-1889, 1998.
160. Otağ F, Aslan G, Şen S, Özturhan H, Emekdaş G. 2003-2005 süresinde klinik örneklerden izole edilen maya türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2005; 19 (4): 435-443
161. Cömert F, Külah C, Aktas E. Identification of *Candida* species isolated from patients in intensive care unit and in vitro susceptibility to fluconazole for a 3-year period. *Mycoses* 2006: 50, 52– 57.
162. Koçoğlu E, Bayram A, Balcı İ: Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türleri ve antifungal duyarlılıkları, *Van Tıp Derg*; 12 (3): 195- 200, 2005.
163. İris-efe N, Ersöz-AratM, Şimşek F. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. *Klinik Dergisi* , 2008; 2 (21) : 61- 64
164. Ünlü F, Özgüneş İ, Nayman A, Erben N, Kartal E.D, Usluer G. Nozokomiyal Fungal Enfeksiyon Verilerinin Değerlendirilmesi. 3. Türkiye EKMUD Kongresi 2010 12-16 Mayıs 2010, Ankara sf:266
165. Özer B, İnci M, Duran N ve ark. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* türleri ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması 25. Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 28 Nisan-02 Mayıs 2010 Ankem Derg 2010; 24 (ek 1)
166. Kaya D.S, Partal M, Tellioglu G.D. Klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında tür tayini ve antifungal direncinin araştırılması. 25. Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 28 Nisan-02 Mayıs 2010 Ankem Derg 2010; 24 (ek 1)
167. Tulumoğlu Ş, Karıptaş E, Erdem B. Identification and antifungal susceptibility

- of candida isolates from various clinical specimens in Doctor Behçet Uz Hospital (Anatol J Clin Investig 2009;3(3);170-173).
168. Ekşi F, Gayyurhan E.D, Balcı İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen candida türlerinin antifungal duyarlılıklarının değerlendirilmesi. 25.Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 28 Nisan-02 Mayıs 2010 Ankem Derg 2010; 24 (Ek 1)
169. Onur A.R. Mikrobiyoloji Laboratuvarında İzole Edilen Maya Mantarlarının VITEK2Compact System İle İdentifikasyonu ve Antifungal Duyarlılıklarının Tespiti. Uzmanlık Tezi. Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji. Diyarbakır,2009.
170. Yücesoy M, Ergon M.C. Yoğun bakım ünitelerinden dört yıllık dönem süresince soyutlanan maya mantarlarının tür dağılımı. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:167
171. Çerikçioğlu N. İdrar yolu mikozları, mikolojik değerlendirme. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:108-113.
172. Sobel JD, Kaufmann CA, McKinsey D, et al.Candiduria: a randomized double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. The National Institute of Allergy and Infections Diseases (NIAID). Clin Infect dis 2000; 30:19-24.
173. Kauffman CA. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. Clinical infectious diseases, 2000; 30: 14.
174. Kaya K, Kaya S, Avuduk A. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 10 Aylık Periyotta Saptanan Kandidüri Etkenlerinin Dağılımı ve Antifungal Duyarlılıkları. C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi , 2004; 26 (2): 71 – 74
175. Baysan B.O, Ogunc D, Colak D OngutG - Distribution and antifungal susceptibility of Candida species causing nosocomial candiduria- Medical Mycology,2011http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/13693786.2011.618996
176. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 2007; 20 (1):133-63.
177. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, 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(7): 1886-1889.
178. Colombo AL, Guimarães T, Silva LR, de Almeida Monfardini LP, Cunha AK, Rady P et al. Prospective observational study of candidemia in São Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28 (5): 570-6.
179. Yapar N, Pullukcu H, Avkan-Oguz V, Sayin-Kutlu S, Ertugrul B, Sacar S, et al. Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: A multicenter case-control study. *Mycoses* 2009; 52 (suppl 1): 61-2.
180. Pfaller M. A, Diekema D. J, Rinaldi M. G, Barnes , Hu B, Veselov A. V., Tiraboschi N and the Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* and Other Yeast Species to Fluconazole and Voriconazole by Standardized Disk Diffusion Testing . *Journal Of Clinical microbiology*, Dec. 2005, p. 5848–5859 Vol. 43, No. 12
181. Edmond M.B, Wallace S.E, McClish D.K. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis*, 1999; 29 (2): 239- 244
182. Matta DA, Almeida LP, Machado AM. Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in Sao Paulo, Brazil, 1995– 2003
183. Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. Bloodstream isolates from Latin American hospitals. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; (4): 401- 405
184. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B Barcelona Candidemia Project Study Group. In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002- 2003. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55 (2): 194- 199.
185. Mokaddes EM, Al-Sweih NA, Khan ZU. Species distribution and

- antifungal susceptibility of *Candida* bloodstream isolates in Kuwait: a 10-year study. *J Med Microbiol* 2006; (10): 255- 259
186. Bakır M, Cerikçioğlu N, Barton R. Epidemiology of *Candida* in Turkish tertiary care hospital. *APMIS*, 2006; 114: 601- 610
187. Celebi S, Hacimustafaoglu M, Özdemir Ö. Nosocomial candida emia in children: results of a 9-year study. *Mycoses*, 2007; 51: 248– 257
188. Gürcüoğlu E, Ener E , Akalın H., Sınırtaş M., Evcı C., Akçağlar S., Yılmaz E. Epidemiology of nosocomial candidaemia in a university hospital: a 12-year study *Epidemiology and Infection* (2010), 138: 1328-1335
189. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N .Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi *Ankem Derg* 2010;24(4):202-208
190. Özçelik B, Balaban N, AksarayS, Cesur S ve ark. In vitro susceptibility of *candida* spp. isolated from clinical specimens against some antifungal agents *Turkish J. Pharm. Sci.* 3 (1), 1-6, 2006
191. Yapar N, Pullukcu H, Avkan-Oguz V, Sayin-Kutlu S, Ertugrul B, Sacar S, Cetin B, Kaya O. Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: a multicenter case-control study. *Med Mycol.* 2011 Jan; 49(1): 26-31.(Abstr.)
192. Watson RS. The epidemiology of severe sepsis in children in the United States. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003; 167: 695-701.
193. Singhi S, DS Rao, and A. Chakrabarti, *Candida* colonization and candidemia in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med*, 2008; 9: 91-5.
194. Zaoutis T, Candidemia in children. *Current Medical Research & Opinion*, (0): p. 1761-8.
195. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB et al: Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study, *J Clin Microbiol* 2002;40(4):1298-1302.
196. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H et al: Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Hospital-based Surveillance Study, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23 (4): 317-22.

197. Singh N: Changing spectrum of invasive candidiasis and its therapeutic implications, *Clin Microbiol Infect* 2001;7 (Suppl 2): 1-7.
198. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN et al: International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, *J Clin Microbiol* 2001; 39 (9): 3254-9.
199. Koç N. Ülkemizde antifungal direnç. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003: 285-300.
200. Barchiesi F, Caggiano G, Maracci M, Arzeni D, Scalise G, Montagna MT. Antifungal susceptibility patterns of yeasts isolates causing bloodstream isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51: 431-433.
201. Ay G. *Candida* infeksiyonlarına duyarlı hastalardan soyutlanan *Candida*'ların ve virülans faktörlerinin belirlenmesi, antifungal duyarlılıklarının araştırılması. Doktora tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Edirne, 2004.
202. Bilgin K. Çeşitli *Candida* türlerinin amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazole duyarlılıklarının resazurin mikropalak yöntemiyle incelenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Samsun, 2005.
203. Akkurt L. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin amfoterisin B, flukonazol ve posakonazole duyarlılıkları. Uzmanlık tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Samsun, 2004.
204. Cuenca-Estrella M, Rodero L, Garcia-Effron G, Rodriguez-Tudela JL. Antifungal susceptibilities of *Candida* spp. Isolated from blood in Spain and Argentina, 1996-1999. *J Antimicrob Chemother.* 2002; 49: 981-987.
205. Zepelin MB, Kunz L, Rüchel R. Epidemiology and antifungal susceptibilities of *Candida* spp. to six antifungal agents: results from a surveillance study on fungaemia in Germany from July 2004 to August 2005. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60 (4): 424- 428.
206. Zer Y, Balcı İ. Yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen *Candida* suşlarının identifikasyonu ve antifungal duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji

207. Kiraz N, Erturan Z, Uzun M, Durmaz G, Us T, Akgün Y ve ark. Üç yüz *Candida albicans* suşunun amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve mikonazole duyarlılıklarının araştırılması. *Klinik Dergisi*. 1998;11(3):116-118.
208. Kaya D, Kaptanoğlu S, Üstüner Z, Ertör O. Nötropenik hasta örneklerinden izole edilen mayaların tiplendirilmesi ve flukonazole karşı direncin araştırılması. *Klinik Dergisi*. 2001;14(1):14-16.
209. Gayyurhan E.D. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerindeki virülans faktörlerinin araştırılması ve antifungal duyarlılıklarının değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Gaziantep, 2009.
210. Kuştimur S, Kalkancı A, Mansuroğlu H. *Candida* türlerinin flukonazole duyarlılıklarının saptanmasında iki farklı mikrodilüsyon yönteminin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*. 2001;15 (3): 349-351.
211. Demirbilek M, Timurkaynak F, Can F, Azap Ö, Arslan H. Hastane kaynaklı *Candida* türlerinde biyofilm oluşumu ve antifungal duyarlılık paternleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2007; 41: 261-269.
212. Özcan M. İmmünsüprese hastalardan soyutlanan *Candida* suşlarının tiplendirilmesi ve antifungal ilaçlara karşı duyarlılıklarının E-test yöntemi ile araştırılması. Uzmanlık tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Elazığ, 2005.
213. Swinne D, Watelle M, Van der Flaes M, Nolard N. In vitro activities of voriconazole (UK-109,496), fluconazole, itraconazole and amphotericin B against 132 non-*albicans* bloodstream yeasts isolates (CANARI study). *Mycoses*. 2004;47:177-183.
214. Alexander BD, Byrne TC, Smith KL, Hanson KE, Anstrom KJ, Perfect JR et al. Comparative evaluation of Etest and Sensititre Yeast One Panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *J Clin Microbiol*. 2007;45(3):698- 706.

215. Sabatelli F, Patel R, Mann PA, Mendrick CA, Norris CC, Hare R, et al. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole and amfotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50 (6): 2009-2015.
216. Keçeli Özcan S, Ağırbaşı H, Çalışkan Ş, Willke A. Hematolojik maligniteli hastalardan izole edilen non-albicans *Candida* ve *Candida* dışı maya türlerinin vorikonazol ve flukonazole in-vitro duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi.* 2007; 21 (4): 223-227.
217. Bedini A, Venturelli C, Mussini C, Guaraldi G, Codeluppi M, Borghi V, Rumpianesi F, Barchiesi F, Esposito R: Epidemiology of candida emia and antifungal susceptibility patterns in an Italian tertiary- care hospital, *Clin Microbiol Infect;* 12 (1): 75-80, 2006.
218. Adiloğlu AK, Şirin MC, Cicioğlu- Arıdoğan B, Can R, Demirci M: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması, *ADÜ Tıp Fak Derg;* 5 (3): 33- 36, 2004.
219. Yenişehirli G, Bulut Y, Günday E: Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* suşlarında antifungallere duyarlılık, *Ankem Derg;* 21(3): 146- 149, 2007.
220. Yıldız H.İ. Yoğunbakım ünitesi'nden gelen hasta örneklerinden izole edilen kandida türleri ve antifungal duyarlılıkları. Uzmanlık Tezi Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Van, 2008.
221. Kuzucu Ç, Yetkin G, Çalışkan A: Bir yıl içerisinde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları, *Erciyes Tıp Derg;* 29 (2): 115- 119, 2007.
222. Skrodeniene E, Dambrauskiene A, Vitkauskiene A: Susceptibility of yeasts to antifungal agents in Kaunas University of Medicine Hospital, *Medicina (Kaunas);* 42 (4): 294- 299, 2006.
223. Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP: National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program,

- Diagnostic Microbiology and Infectious Disease;31 (1): 327- 332, 1998. (Abstr.)
224. Park S.D, Uh Y, Yoon K, Shin J.J.H.Korean .Comparison of ATB FUNGUS 2 and VITEK-2 Antifungal Susceptibility (AST-YS01) Tests for Candida Species Isolated from Blood Culture J Clin Microbiol. 2010 Sep; 13 (3):114-120.(Abstr.)
225. 1999 - 2009 <http://medicine-hygiene.idnwhois.org/>. Medicine & Hygiene sitemap
226. Kim D.W, Shin J.H., Kee S.J, Kim S.H., Shin M.G., Suh S.P., Ryang D.W. Evaluation of VITEK-2 Antifungal Susceptibility Test (AST-YS01) for Candida Species Isolates in Korea . Korean J Clin Microbiol 2009;12: 122-128. (Abstr.)
227. Pfaller M. A, Diekema D. J., Procop G. W., Rinaldi M. G. Multicenter Comparison of the VITEK 2 Yeast Susceptibility Test with the CLSI Broth Microdilution Reference Method for Testing Fluconazole against Candida spp. Journal of Clinical Microbiology, Mar. 2007, p. 796–802 Vol. 45, No. 3
228. Pfaller M. A., Diekema D. J., Procop G. W., Rinaldi M. G. Multicenter Comparison of the VITEK 2 Antifungal Susceptibility Test with the CLSI Broth Microdilution Reference Method for Testing Amphotericin B, Flucytosine, and Voriconazole against Candida spp. Journal of Clinical microbiology, Nov. 2007, p. 3522–3528 vol. 45, no. 11
229. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, et al. Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the sensititre yeastone and Etest techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates. J Clin Microbiol 2010; 48: 1782-1786.
230. Pfaller M.A, Diekema D.J, Procop G.W. Multicenter comparison of the VITEK2 Yeast Susceptibility Test with the CLSI Broth Microdilution Reference Method for testing fluconazole against Candida spp. J Clin Microbiol, 2007, 3: 796– 802
231. Torres- Rodriguez JM, Alvarado- Ramirez E: In vitro susceptibilities to yeasts using the ATB FUNGUS method, compared with Sensititre Yeast One and Standard CLSI (NCCLS) M27- A2 methods, J Antimicrob Chemother; 2007.
232. Bae HG, Sohn YH, Shin JH, Kim MN: The evaluation of clinical utility of ATB FUNGUS for antifungal susceptibility testing in Candida species, Korean

- J Clin Microbiol; 7 (2): 156- 163, 2004.
233. Verweij PE et al. J Clin Pathol. 1999;52: 271-73
234. Kitch TT, Jacobs MR, McGinnis MR, Applebaum PC: Ability of Rapid Yeast Plus System to identify 304 clinically significant yeast within 5 hours, J Clin Microbiol 1996; 34 (5): 1069-71.
235. Heelan JS, Sotomayor E, Coon K, D'Arezzo JB: Comparison of the Rapid Yeast Plus panel with the API 20C yeast system for identification of clinically significant isolates of *Candida* species, J Clin Microbiol 1998; 36 (5): 1443-5.
236. Wadlin JK, Hanko G, Stewart R, Pape J, Nachamkin J: Comparison of three commercial systems for identification of yeasts commonly isolated in the clinical microbiology laboratory, J Clin Microbiol 1999; 37 (6):1967-70.
237. Espinel-Ingroff A, Stockman L, Roberts G, Pincus D, Pollack J, Marler J: Comparison of Rapid Yeast Plus system with API 20C system for identification of common, new, and emerging yeast pathogens, J Clin Microbiol 1998; 6 (4): 883-6.
238. Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, Cárdenes CD, Alonso-Vargas R, Brió S, Arévalo P, Pemán J, Estivill D, Pontón J. Mycoses. 2003 Dec; 46 (11-12): 467-70.
239. Crist AE, Dietz TJ, Kampschroer K. Comparison of the Murex *C. albicans*, Albicans-Sure, and BactiCard *Candida* Test Kits with the Germ Tube Test for Presumptive Identification of *Candida albicans*. Journal Of Clinical microbiology, Oct. 1996, p. 2616–2618 Vol. 34, No. 10
240. Ekşi F, Bayram A, Mehli M, Akgün S, Balcı İ. Sağlık çalışanlarının ellerinden izole edilen mikrobiyal floranın değerlendirilmesi 25. Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 28 Nisan-02 Mayıs 2010 Ankem Derg 2010; 24 (ek 1)
241. Altuncu E, Bilgen H., Çerikcioğlu N, İlki A, Ülger N, Bakır M, Akman İ., Özek E. Neonatal *Candida* enfeksiyonları ve etkenlerinin antifungal duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul 2010; 44: 593-603
242. Yıldız H. İ, Berktaş M., Yaman G., Güdücüoğlu H, Çıkman A. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan soyutlanan mayalar ve antifungal duyarlılıkları.[P15-04] 4. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları

Kongre Kitabı Klimik2009

243. Ulutürk R, İnci A, Fincancı M, Tanış M. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları.[p15-02] . 4. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı Klimik2009