



Adınızı

Tez kabul edildikten sonra
yapılan **sabit ciltte sırt
yazısı** bu şablona göre
vazılacak. Yazılar tek satır



Tez, Yüksek Lisans'sa,
YÜKSEK LİSANS TEZİ.



Tez Sınavının yapılacağı

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

BAZI ANTİFUNGAL İLAÇLARIN *CANDIDA SPP.*
TÜRLERİNE KARŞI İN VİTRO AKTİVİTELERİ ÜZERİNE
QUORUM SENSİNG MOLEKÜLÜ OLAN FARNESOLÜN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

SÜMEYYE ŞEN

DANIŞMAN
PROF. DR. NURİ KIRAZ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Tıbbi Mikrobiyoloji
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Sümeyye ŞEN
Tez Başlığı : BAZI ANTİFUNGAL İLAÇLARIN CANDIDA SPP. TÜRLERİNE
KARŞI İN VİTRO AKTİVİTELERİ ÜZERİNE QUORUM SENSİNG
MOLEKÜLÜ OLAN FARNESOLÜN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
Sınav Yeri : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 29 / 07 / 2013

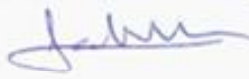
Tez Sınav Jürisi

Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1.Prof.Dr.Nuri KIRAZ I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.



2.Prof.Dr. Zafer ÇETİNKAYA Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.



3.Prof.Dr.Nevriye GÖNÜLLÜ I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.



4.Prof.Dr.Murat HÖKELEK I.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.



5.Doç .Dr.Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.



BEYAN

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

Sümeyye ŞEN

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez yazımı ve çalışması süresince bilgi ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nuri KİRAZ'a;

Her zaman bilgilerini bizimle paylaşan çok değerli hocalarım; Sayın Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK'e, Sayın Prof. Dr. Gökhan AYGÜN'e, Sayın Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ'ye, Sayın Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya, Sayın Prof. Dr. Murat HÖKELEK'e, Sayın Prof. Dr. Mustafa SAMASTI, Sayın Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN, Sayın Doç. Dr. Hrisi BAHAR'a, Sayın Doç. Dr. Kenan MİDİLLİ'ye, Sayın Doç. Dr. Sevgi ERGİN, Sayın Doç. Dr. A. Suat SARIBAŞ, Sayın Doç. Dr. Mustafa ASLAN, Sayın Doç. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR'a ve Sayın Yrd. Doç. Erdal POLAT'a;

Mantar konusundaki bilgi, birikim ve deneyimlerini paylaşarak ilgisini esirgemeyen Sn. PhD. Serda KANTARCIOĞLU'na;

Tezimi yazarken ve çalışmalarımda sorularıma her zaman cevap veren Mikoloji Yan Dal Uzmanları Ayşe BARIŞ, Deniz TURAN ve Hafize SAV'a;

Çok değerli Uzmanlık öğrencileri; Sema TURAN UZUNTAŞ, Vicdan ŞEMEN, Ulviye GÜVENDİ AKÇINAR, Fatma COŞKUN İSLAMOĞLU, Esmâ AKKOYUN BİLGİ, H. Nilşen GÜNEY, Şule ÇELİK, Nurhadiye KURU, Fadime YILMAZ, Selcan ÇOLAKOĞLU AKYOL, Elvin PAZAR YILDIRIM, Sezer TOPRAK, Zafer HABİP, Taner KİRAZOĞLU ve Uzm. Dr. Mert A. KUŞKUCU'ya;

Deneyimlerini bizimle paylaşmaktan bıkmayan çok değerli Canan ŞİRİN, Huriye YILDIZ, Pınar KOÇOĞLU, Sultan ÖZNALBANT, Reyhan ÇALIŞKAN ALGINGİL, Pelin Berrin YÜKSEL, Semra TERZİ, Zehra İPEK, Arife YALDIZ, Kübra CAN, Zeynep KÂHYA, Hatice S. YAŞAR ARSU, Emel ÖZERGİL, Nutullah YILDIZ ve Erol GÜNDÜZ'e;

Çalıştığı laboratuvarların kapılarını ardına kadar açan sevgili Nida KÜÇÜK'e;

Evraklarımın takibinde, resmi işlemlerde yardımlarını esirgemeyen ve isteklerimi geri çevirmeyen Nuray KÜRK, Tuba SOYSAL, Fatmagül KIZILTAŞ, Hilal TEKİN BÜYÜKBAYRAMOĞLU ve Erdem GÜVEN'e;

Besiyeri hazırlarken gösterdikleri sabır için Mustafa KIRKAN ve Ayfer KIRATLI'ya, yardımlarıyla işlerimi kolaylaştıran Ümmühan ÖZKAN, Orhan YATMAZ, Nihat DOĞAN ve Yılmaz TAŞTEMİR'e;

Ve tüm CTF Tıbbi Mikrobiyoloji Kürsüsü çalışanlarına;

Yüksek Lisans arkadaşlarım; Rumeysa GÜLEN, Burcu KAYA, Ezgi GÖZÜN ŞAYLAN, Özge YILMAZLI, Fatma KALAYCI, Sibel ARIGÜN KIDIL, Esra BAKIR, Zeynep GÜNGÖRDÜ, Hatice Kübra AKAY, Achille Aime KANGABA, Aykut KURT, Hamza ARI, Ramazan ACARKAN ve Doktora öğrencisi Asiye KARAKULLUKÇU'ya;

Çalışmalarına destek olan ve kendileriyle çalışmaktan zevk aldığım Esra AKSÖZ, Büşra AKSÖZ, Fatma AKSÖZ ve Saadet KOSİF'e;

Moral desteğini ve yardımlarını asla esirgemeyen sevgili arkadaşlarım; Esma AKSÖZ ve Esra KOSİF'e,

Ve tabi ki her an yanımda olan sevgili aileme

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22908

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLOLAR LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. <i>Candida</i> Türlerinin Mantarların Sınıflandırılmasındaki Yeri.....	3
2.3. <i>Candida</i> Türlerinin Genel Özellikleri	4
2.3.1. Mikrobiyoloji	4
2.3.1.1. Boyanma	5
2.3.1.2. Laboratuvar Tanısı	5
2.3.2. <i>Candida</i> ’ların Hücre Yapısı	6
2.4. Epidemiyoloji.....	6
2.5. Patogenez	7
2.6. Tıbbi önemi olan <i>Candida</i> Türleri.....	9
2.7. <i>Candida</i> Enfeksiyonları	12
2.7.1. Yüzeyel <i>Candida</i> Enfeksiyonları	12
2.7.2. Dissemine Kandidoz ve Kandidemi.....	13
2.7.3. Derin Yerleşimli <i>Candida</i> Enfeksiyonları	14
2.8. Tanı	15
2.8.1. <i>Candida</i> Enfeksiyonlarının Tanısı	15
2.8.2. Örneklerin Alınması ve Taşınması	15
2.8.3. Mikroskopik İnceleme	15
2.8.4. Kültür	16

2.8.5. Serolojik Yöntemler	16
2.8.6. Fungal Metabolitlerin Saptanması	18
2.8.7. Spesifik Nükleik Asitlerin Saptanması	18
2.9. Tedavi	19
2.10. Antifungaller	19
2.10.1. Polyenler	19
2.10.2. Azoller	21
2.10.3. Ekinokandinler	22
2.10.4. Antifungal Kombinasyonlar	23
2.10.5. Farmakodinamik Özellikler	25
2.11. Antifungallere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları	26
2.12. Antifungal Duyarlılık Testleri	27
2.12.1. Buyyon Dilüsyon Testleri	28
2.12.2. Epsilometer Test (Etest)	28
2.12.3. Disk Difüzyon Testi	28
2.12.4. Time-kill Testi	29
2.12.5. İn vitro Antimikrobiyal İlişkilerin Saptanması	29
2.13. Farnesol	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. İzolatlar	32
3.2. İzolasyon	32
3.3. Tür Tayini	32
3.4. Antifungal Duyarlılık Testi	36
3.4.1. RPMI 1640 Besiyerinin Hazırlanması	36
3.4.2. Antifungal Stok Solüsyonlarının Hazırlanması	37
3.4.3. Farnesolün Hazırlanması	38
3.4.4. Mikroplakların Hazırlanması	38
3.4.5. Maya Süspansiyonunun Hazırlanması ve Eklenmesi	38
3.4.6. Kombinasyonlarda Mikroplakların Hazırlanması	39
3.4.7. Sonuçların Değerlendirilmesi	42
4. BULGULAR	43
4.1. Antifungal Duyarlılık Sonuçlarının Değerlendirilmesi	43
5. TARTIŞMA	53

KAYNAKLAR	59
ETİK KURUL KARARI	73
ÖZGEÇMİŞ	74

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. API Okuma Şablonu.....	34
Tablo 2. Antifungal-Farnesol Kombinasyon Çalışmasında Mikroplakların İçeriği	40
Tablo 3: Mikrodilüsyon sonuçları.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Negatif Kontrol.....	35
Şekil 2. API Candida'nın Türlerle Göre Görünümü.....	35
Şekil 4. AMB ve ve farnesol kombinasyonunun mikroplak görünümü.....	50
Şekil 5. FLU ve farnesol kombinasyonunun mikroplak görünümü.....	51
Şekil 6. VOR ve farnesol kombinasyonunun mikroplak görünümü.....	52

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- AIDS:** Acquired Immun Deficiency Syndrome
- AMB:** Amfoterisin B
- ATCC:** American Type Culture Collection
- BAL:** Bronkoalveolar Lavaj
- CAS:** Kaspofungin
- CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute
- DA:** D- arabinitol
- DMSO:** Dimethyl sulphoxide
- DNA:** Deoksiribonükleik asit
- ETA:** Endotrakeal Aspirat
- EUCAST:** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- FAR:** Farnesol
- FİK:** Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu
- FİKİ:** Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi
- FLU:** Flukonazol
- GPP:** Glucose-phosphate-proline
- LA:** L-arabinitol
- MİK:** Minimum İnhibitör Konsantrasyon
- MOPS:** MOPS
- MSS:** Merkezi Sinir Sistemi
- NCCLS:** National Committee for Clinical Laboratory Standards
- PAFE:** Postantifungal Etki
- PBS:** Phosphate Buffered Saline
- PCR:** Ploymerase Chain Reaction
- RNA:** Ribonükleik asit
- SDA:** Sabouraud Dekstroz Agar
- VOR:** Vorikonazol
- YPD:** Yeast Extract-Peptide-Dextrose

ÖZET

ŞEN, S. Bazı Antifungal İlaçların *Candida spp.* Türlerine Karşı *in vitro* Aktiviteleri Üzerine Quorum Sensing Molekülü olan Farnesolün Etkisinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2013.

Günümüzde, mikroorganizmalara bağlı hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonların görülme sıklığında artış gözlenmektedir. Bilinçsiz ve gereksiz antibiyotik kullanımı, hastalara uygulanan girişimsel tetkik ve tedaviler, immün sistemi baskılayan hastalıkların ve immünsüpresif tedavi gören hastaların artması sık görülen enfeksiyon etkenlerinin yanı sıra fırsatçı patojenlerin oluşturduğu enfeksiyonlara da neden olmaktadır. Fırsatçı patojenlerden en sık karşılaşılan etkenlerinden biri olan *Candida* türleri, zaten insan vücudunun farklı bölgelerinin floralarında bulunmasına rağmen yukarıda sayılan predispozan faktörlerin etkisiyle enfeksiyon etkeni olabilmektedirler. En sık etken olan *Candida* türü *Candida albicans*'tır. Hasta örneklerinden izole edilen türe *Candida albicans* demek için germ tüp deneyi yapılmaktadır. Bu özellik *C. albicans* için virülans faktörü sayılmaktadır. İzole edilen türün *C. albicans* olduğunu bilmek tedavi konusunda da yönlendirici olmaktadır. *Albicans* dışı türlerde antifungallere özellikle de tedavide sık kullanılan azol grubuna direnç gelişimine daha sık rastlanmaktadır. Antifungal kullanımı, bazı ilaçların kan-beyin bariyerini geçemeyip enfekte bölgeye ulaşamaması ve toksik etkileri olmaları nedeniyle kısıtlıdır. Yeni ve daha geniş spektrumlu antifungaller geliştirmek için çalışmalar sürmesine rağmen, *Candida* türlerinin ökaryot olan maya mantarı olmaları ve dolayısıyla ilaç hedeflerinin konak hücre yapısında da olması bu çalışmaları zorlaştırmaktadır. İşte bu kısıtlamalar göz önüne alındığında gün geçtikçe artan *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde antifungallere ek olarak alternatif maddelerin de kullanılması gündeme gelmektedir. Özellikle *Candida* türlerinin kendisinin de quorum sensing molekülü olarak üreterek kullandığı farnesol maddesi son zamanlarda dikkat çekmektedir. Bu molekülün özellikle *Candida*'nın biyofilm oluşturmalarına etkisine bakılmıştır. Biz de farnesolün *Candida* türlerinin antifungal duyarlılıklarına etkisini *in vitro* olarak mikrodilüsyon yöntemiyle araştırdık. Farnesolün antifungallerden Amfoterisin B ile kombinasyonunda MİK değerlerinde bir azalma gözlemledik, Flukonazol ve Vorikonazol de belirgin bir sonuç elde edilemedi.

Anahtar sözcükler: *Candida*, farnesol, antifungal maddeler, antifungal duyarlılık, mikrodilüsyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22908

ABSTRACT

Şen, S. Investigation of Effect of Farnesol Which is a Quorum Sensing Molecule on in vitro Activities of Some Antifungals Against Candida sp. Species. Istanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Department. Msc Thesis. İstanbul, 2013.

Nowadays, frequency of community and hospital-acquired infections depending on microorganisms are increasing. Unconsciously and unnecessary use of antibiotics, interventional examinations and treatments, increase of immunosuppressive treatments and patients cause opportunistic infections along with the frequent infections. Candida spp. which is common opportunistic pathogen, is already on the different part of the human body as a member of flora. Some predisposing factors as mentioned above induce Candida to become pathogenic. *C. albicans* is the most common type of yeast Candida. To determine the isolated species to be *C. albicans* or *C. spp.*, germ tube test is applied. This property is accepted to be a virulence factor for *C. albicans* especially to form biofilms. Knowing the species is *C. albicans* or not gives some advantages for the treatment. Nonalbicans Candida spp. has the ability to develop resistance especially to common antifungals, azoles. Failure of arrival of antifungal to target cell (some cannot pass the blood-brain barrier), and the toxicity of antifungals limits use of antifungals. Although some studies are still going on to develop antifungals new and having wider-spectrum, similarity of target cell and host cell structure restricts these studies. So, when all these are regarded, using alternative substances in addition to antifungals may be possible against Candida infections, gradually increasing infections. Especially, farnesol which is produced by Candida species as a quorum sensing molecule, is drawing attention in recent years. Studies about the effect of farnesol on biofilm production are available. We have investigated the effect of farnesol on the antifungal susceptibility of Candida species with the microdilution and timekill method in vitro. We got expected result only with amphotericin B, farnesol failed to decrease the MIC values of fluconazole and voriconazole.

Key Words: Candida, farnesol, antifungal agents, antifungal sensitivity, microdilution

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No:22908

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Candida türlerine bağlı hastane kaynaklı enfeksiyonlar son yıllarda hızla artmaktadır. *Candida*; bu etkenler arasında koagülaz negatif stafilocoklar, *Staphylococcus aureus* ve enterokoklardan sonra dördüncü sırada yer almaktadır (1). *Candida* suşları sahip oldukları bazı virülans faktörleri ile özellikle kan dolaşımına karışarak invaziv hastalıklara neden olabilmektedirler (2).

Özellikle *Candida albicans* üzerine yapılan çalışmalarda *Candida* suşlarını hem immün sisteme hem de ilaçlara karşı dirençli hale getiren virülans faktörleri; fenotipik değişim, morfolojik dimorfizm, çeşitli adezyon molekülleri, hidrolitik enzimler (fosfolipaz, lipaz, aspartik proteinazlar vb.) katalaz, süperoksit dismutaz, ısı-şok proteinleri ve germ tüp oluşturabilme yetenekleri olarak sayılabilmektedir (3).

Quorum sensing öncelikle prokaryot olan bakterilerde keşfedilmiş ve bu konu üzerinde pek çok çalışmalar yapılmıştır. Ökaryotlardaki keşfi 2001 yılında olmuştur. O yıldan beri çalışmalar yapılmakta fakat henüz yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. (4). Farnesolden sonra tyrosol gibi başka bazı moleküller de keşfedilmiş, üzerinde çalışmalar yapılmıştır (5).

Farnesol; mantarların fenotipik değişimi tetikleyen quorum sensing molekülü olarak keşfedilmiştir ve *Candida* türlerinin haberleşmesini sağlayarak biyofilm oluşturmalarında ve dimorfizmde etkili oldukları bulunmuştur. Farnesolü *Candida albicans* başta olmak üzere diğer *Candida* türleri de üretmektedirler. Bunun yanında bazı araştırmalar da göstermiştir ki farnesolün *Candida* türlerine eksojen olarak verilmesi halinde de biyofilm oluşturmalarına ve fenotipik değişimlere (maya-hif dönüşümü) neden olmaktadır (4). Aynı zamanda bitkisel bir seskuiterpen olan farnesol parfüm, deodorant gibi bazı kozmetik ürünlerinde kalıcı olması ve de antimikrobiyal özellik taşıması nedeniyle tercih edilmektedir (6).

Candida türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar için kullanılan antifungallerden ekinokandinler (kaspofungin vb.), polyenler (Amfoterisin B), azol grubu olan triazoller (flukonazol, itrakonazol vb.) ve imidazoller (mionazol, ketokonazol) en sık tercih edilenlerdir. *Candida* türlerinin bu antifungallere duyarlılıkları farklı yöntemlerle araştırılmaktadır. Örneğin; disk difüzyon, E-test, makro ve mikrodilüsyon yöntemleri,

zahmetli olmasına karşın time-kill ve checkerboard yöntemleri gibi. Bunlardan makrodilüsyon yöntemi standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Fakat mikrodilüsyon gibi uygulanması daha kolay olan diğeryöntemlerin de duyarlılığı %76-100 arasında değışim gösterdiğı için daha sık tercih edilmektedirler. *Candida* türlerinde direncin son yıllarda artması; gereksiz ve bilinçsiz antifungal kullanımına ve *Candida*'ların biyofilm oluşturmasıyla ilaçların penetre olmasına izin vermemesine bağlanmaktadır (7).

Çalışmamızda 20 *Candida* suşunun antifungal duyarlılıklarına farnesol maddesinin etkisini mikrodilüsyon yöntemiyle araştırdık. Antifungalleri hem tek başlarına hem de farnesolle kombinasyonlarını mikrop-laklarda çalıştık.

Bu çalışmadaki amacımız; yan etkileri olan, kan-beyin bariyerini geçemeyen antifungallerin kullanılma miktarlarını/sıklıklarını azaltmak, dirençli suşların MİK değerlerini düşürmek için adjuvan madde ile tedaviye yardımcı olmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Mantar enfeksiyonlarıyla ilgili en eski belge MÖ 2000-1000 tarihli Hindu kutsal (Samitha) yazıtlarıdır ve ayakta misetomadan söz eder. Ayrıca Hipokrat (MÖ 400-300) da pamukçuk (thrush) şeklindeki kandidozdan bahseden bir belge ortaya koymuştur. A. C. Celsus sekiz ciltlik “De re medica” adlı eserinde mikoz olgularına yer vermiştir, G. Bauhin (1560-1624) “Pinax Theatri Botanici” adlı eserinde 100 kadar mantarın özelliğini bildirmiştir. Mantarlarla ilgili kayda değer gelişmeler Leeuwenhoek’un (1632-1723) mikroskobu icadıyla başlamıştır. Mikolojinin kurucusu olarak kabul edilen İtalyan botanist P. A. Micheli 1729’da “Nova Plantarum Genera” isimli eserinde araştırmalarını yayınlamış, E. Fries (1794-1878), “Systema Mycologicum” adlı eserinde ise mantar sistematigi hakkında bilgiler vermiştir. 1839 yılında Langenbeck, tifüslü bir hastanın ağzındaki pamukçuk lezyonundaki kazıntıda mantarı gözlemlemiş fakat bunun tifüs etkeni olduğunu düşünmüştür. Berg 1841’de aft membran maddesini sağlıklı kişilere aktararak onlarda da pamukçuk oluştuğunu gözlemlemiştir. Robin 1853’te pamukçuk etkeninin sistemik enfeksiyonlara da neden olabileceğini gözlemlemiş ve Bu mikroorganizmaya *Oidium albicans* adını vermiştir. 1890’da Zopf bu mikroorganizmayı *Monila albicans* olarak, son olarak da 1923’te Berkhout *Candida albicans* olarak adlandırarak bugünkü ismini vermiştir. Yine 1900’lü yıllarda Sabouraud mantarları üretebileceği bir besiyeri formüle etmiştir ve tıp mikolojisi için halen büyük öneme sahip olan koloni morfolojilerinin değerlendirmeleri bu besiyerine göre yapılmaktadır. Ülkemizde ilk kez, Prof. Dr. Enver Tali Çetin ve arkadaşları, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesine bağlı Mikroorganizma Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi kurarak araştırmacıların yararlanacağı bir mantar kültür koleksiyonu oluşturulmuştur(8-11).

2.2. *Candida* Türlerinin Mantarların Sınıflandırılmasındaki Yeri

Mantarlar, bakterilerden farklı olarak ökaryotiktirler ve bitkilerden farklı olarak da klorofil içermezler ve besin alımlarını absorpsiyonla gerçekleştirirler. Tek hücreli veya çok hücreli olabilirler. Birden fazla nükleusa sahip olabilirler. Hücre duvarları kitin ve selüloz içerdiğinden serttir. Mayozlu çekirdek bölünmesi göstermektedirler (12).

Mantarlar birbirlerinden yaşam döngüleri, yapısal farklılıkları, bazı fizyolojik özellikleri ve üreme özelliklerine göre ayrılır. Eşeyli üreme göstermeyen mantarlar *Deuteromyces* (*Fungi imperfecti*) sınıfında, eşeyli üreme gösteren mantarlar da *Zygomycetes*, *Ascomycetes* ve *Basidiomycetes* sınıflarında incelenirler(13).

Mantarlar morfolojik olarak maya ve küf olmak üzere iki grupta incelenmektedirler. Farklı sıcaklıklarda farklı özellik gösteren [37°C’de küf, oda sıcaklığında (25°C’de) ise maya] mantarlar da bulunmaktadır ve dimorfik mantarlar olarak adlandırılırlar (14).

Mayalar tek hücrelidirler ve tomurcuklanarak veya ikiye bölünerek çoğalırlar. Maya hücrelerinin çapları 2-20 µm, boyları ise 2-50 µm arasında değişiklik gösterir. Bir maya hücresi bir veya birden fazla noktadan tomurcuklanma gösterebilir, yeterince gelişen bu yapılar ana hücreden koparak yavru hücreleri (blastokonidyumları) oluştururlar. Bazı maya hücrelerinde oluşan yeni yapılar ana hücreden ayrılmadan ardışık şekilde dizilerek hücreye ait uzantılar oluşturur. Bu yapılar yalancı hif (psödohif) olarak adlandırılırlar (14).

1987’de Berlin’de düzenlenen 14. Botanik Kongresinde, Dixon ve Fromling tarafından yapılan sınıflandırma esas alınmış, kandidalar *Deuteromyces* (*Fungi imperfecti*) sınıfına ait *Blastomycetes* alt sınıfının *Cryptococcales* takımındaki *Cryptococcaceae* ailesinde yer almaktadır. Aynı takımda *Cryptococcus*, *Trichosporum* ve *Pitrysporium* cinsleri de bulunmaktadır (11,12). *Candida*’ların eşeyli şekilleri *Hemiascomycetes* sınıfında bulunan anamorf mayalardır(11).

2.3. *Candida* Türlerinin Genel Özellikleri

2.3.1. Mikrobiyoloji

Candida türleri, izole edildikleri klinik örneklerden veya kültürlerden yapılan mikroskopi sonucunda 3-6 µm büyüklüğünde, oval veya yuvarlak, bazen tomurcuklanan hücreler (blastosporlar veya blastokonidyumlar) olarak da görülebilen maya şeklindeki mantarlardır. *Candida* türlerinin çoğu tomurcuklanan hücrelerin ayrılmayıp uç uca eklenmesiyle oluşan yalancı hif (psödohif) oluşturabildiği gibi, *C. albicans*, daha az izole edilen *C. dubliniensis* ve *C. norvogensis* gerçek hif de oluşturabilirler (15).

2.3.1.1. Boyanma

Klinik örneklerde (özellikle tırnak, deri kazıntısı gibi) mantar aranırken potasyum hidroksit (KOH) (%10-30) kullanılarak klinik örneğin erimesi ve mantar hücrelerinin görünür hale gelmesi sağlanır (7).

Ayrıca kalkoflor beyazı ile florasan boyama yapılır, maya hücrelerinin maviden yeşile değişen renklerde görünmesi sağlanır (7).

Hem klinik örneklerden doğrudan yapılan hem de kültürde üremiş olan kolonilerden alınarak gram boyasıyla boyandıklarında gram pozitif özellik gösterirler (7).

2.3.1.2. Laboratuvar Tanısı

Candida türleri vücut florasında da bulundukları için karşılaşılan en önemli sorunlardan biri; izole edilen *Candida* türünün flora üyesi veya enfeksiyon etkeni olduğuna karar vermektir. Bu yüzden laboratuvar ve klinik arasında iyi bir iletişim sağlanmalıdır. Klinik örneğin alınması sırasında asepsi kurallarına dikkat edilmeli ve vakit kaybetmeden ekiminin yapılacağı laboratuvara gönderilmelidir (16).

Kandidozların tanısında; klinik örneklerin direkt mikroskopisi, *Candida*'ların izolasyonu, *Candida* türünün saptanması ve doğrulanması önem arz etmektedir (17).

Candida türleri, özellikle mantarlar için rutin kullanılan SDA besiyerinde 37°C'de, 24-48 saatte kırık beyaz veya krem renğinde, kıvamlı, genelde düzgün yuvarlak (S koloni tipinde), karakteristik maya kokusu olan koloniler oluştururlar. Kolonilerin besiyeri üzerindeki kısımları balstokonidyumlardan oluşurken, besiyerinin içinde kalan kısımlarda ise yalancı hifler bulunmaktadır. *Candida*'lar, bakteriler için kullanılan genel üretici besiyerlerinde de kolaylıkla üreyebilmekte ve genç kültürlerde bakteri kolonileri ile karışabilmektedirler. En iyi üredikleri pH 4,5-5 arasındadır ancak pH 3-7,5 arasında iken de üreyebilenleri vardır (15).

Pek çok *Candida* türü olmasına rağmen, yalnızca bazı türleri insanda enfeksiyon etkeni olarak göze çarpmaktadır, en sık kandidoz etkeni *C. albicans*'tır (15).

2.3.2. *Candida*'ların Hücre Yapısı

Mantarlar basitçe, fotosentez yapmayan, plazma membranı ve en dışta hücre duvarı bulunan ökaryotik hücrelerdir. Membranla çevrili bir çekirdek ve içinde bir çekirdekçik ile lineer kromozomlar bulunur. Sitoplazmada mitokondri, Golgi aygıtı, vakuoller, birkaç çeşit vezikül ve 80S ribozomlar gibi organeller ile hücre iskeleti bileşenleri yer almaktadır. Bu bileşenler, membran hareketinde rol oynayan mikrotübüller, sitoplazmik akışkanlıktan sorumlu aktin ve aktinle birlikte organellerin hareketini sağlayan miyozindir (18).

Hücre membranı, bulundurduğu ozmoenzimler sayesinde moleküllerin transferini sağlar. Duvar sentezinde rolü olan kitin sentetaz ve sinyal iletiminde rolü olan enzimler membranda bulunur. *Candida* hücre membranı ayrıca, fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin, fosfatidil inositol gibi fosfolipitleri de içerir. Hücre membranı büyük miktarda sterol içerir, membran lipitlerinin %22'sini steroller oluşturur. Sterollerin % 95'i ergosterol formundadır ve birçok antifungal ajan ergosterolün farklı sentez basamakları üzerinden etki etmektedir (18).

Hücre duvarı, hücreye şeklini veren, osmotik basınca karşı hücreyi koruyan ve moleküllerin transferinde rolü olan sert bir yapıdır. *Candida* hücre duvarı, antijenik belirteçleri, memeli hücrelerinde bulunmayan anahtar biomolekülleri bulundurur ve konak hücrelere tutunmayı sağlar. Hücre duvarının en temel bileşenleri olan karbonhidratlar, mannan ya da mannoproteinler, glukanlar (β -1,3 ve β -1,6 bağlı) ve kitinden oluşmaktadır (19,20). Glukanlar ve kitin duvarın yapısal iskeletini oluşturur ve glukanlar duvar ağırlığının %47-60'ını oluşturmaktadır. Kitin N-asetilglukozamin'in bir polimeridir ve maya hücre duvarlarının yalnızca %2-4 kadarını oluşturan önemli bir yapısal bileşendir (19). Mannoproteinler ise yapısal polimerler içindeki hücre duvarının şekilsiz kısmının esas elemanıdır ve hücre duvar karbonhidratlarının %40'ını oluşturur. *Candida* hücre duvarındaki ana antijenik yapı olan mannanın yapısal farklılığına göre A ve B olarak iki serotipe ayrılır. Hücre duvarının diğer bileşenleri proteinler (% 5-15), lipidler (% 2-5) ve inorganik fosfattır (18, 20, 21).

2.4. Epidemiyoloji

Candida türleri toprakta, suda, yiyeceklerde, bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunabilirler. Sağlıklı insanlarda cilt ve mukoz membranlarda kommensal olarak bulunurlar ve herhangi bir nedenle konak savunma sistemi bozulduğunda patojenite

kazanabilirler. Bu nedenle enfeksiyonların çoğunlukla endojen floradan kaynaklandığı düşünülmektedir. Sistemik *Candida* enfeksiyonları için en sık giriş yolu gastrointestinal sistemdir. Nadiren vajinal kandidozlu anneden bebeğine vertikal bulaşma, yatan hastalar arasında ya da sağlık çalışanlarından nozokomiyal geçiş gibi insandan insana bulaşma da söz konusu olabilir. Yatan hastalarda kolonizasyonun, sağlıklı kişilere göre daha fazla olduğu saptanmıştır (22, 23).

Nozokomiyal kan akımı enfeksiyonu etkenleri arasında *Candida*'lar Amerika'da 4., Avrupa'da ise 6. sırada yer almakta ve yoğun bakım hastaları arasında daha sık görülmektedir. *C.albicans* en sık görülen tür olmakla birlikte, non-*albicans* türlerin sıklığında artış bildirilmektedir. Bu artıştan ikinci jenerasyon azol antifungallerin yaygın kullanımı sorumlu tutulmakta ve bununla uyumlu olarak FLU'e daha az duyarlı (*C.glabrata*) ya da doğal dirençli (*C.krusei*) izolatlarda belirgin artış bildirilmektedir (24).

2.5. Patogenez

İnvaziv *Candida* enfeksiyonlarının genellikle immüdüşkün hastalarda görülmesi nedeniyle, bu enfeksiyonların oluşmasında virulans faktörlerinin katkısının düşük olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte enfeksiyonlar sırasında birtakım sekretuar enzimler de saptanmıştır. Bu nedenle invaziv *Candida* enfeksiyonları hem konak savunmasındaki yetersizlik hem de mikroorganizmanın virulans faktörlerinin bir sonucudur (24).

Candida Virulans Faktörleri

Candida 'ların sahip olduğu bazı özellikler konağın savunma sistemini yenerek hastalık oluşturmaya çalışır. Mikroorganizmanın kolonizasyon ve ardından invazyon yapabilmesi için, konağı tanıması ve adezyonu şarttır. Dış hücre duvarı tabakası mannopteinler, β -1,3 ve β -1,6 bağlı glukan ve kitin içermekte ve bu tabaka *Candida* 'ların konak yüzeyine yapışması ve ardından kolonizasyonunda önemli rol oynamaktadır. *Candida* hücrelerinin virulansı, konak hücrelerine tutunma eğilimi ile doğru orantılıdır ve adezyon major virulans faktörü olarak tanımlanabilir. Bununla birlikte, *C.krusei*'nin ağız epitel hücrelerine diğer sık görülen *Candida* türlerine oranla çok daha düşük oranda adezyon gösterdiği bildirilmektedir (24). Adezyonu takiben slime faktörün oluşumu önemli bir virulans faktörüdür. Yapay yüzeylere adezyon ve tıbbi cihazlar üzerinde biyofilm oluşumu, antifungal ilaçlara sıklıkla direnç göstermesi

ve biyofilm oluşturan hücrelerin artmış patojenliği nedeniyle son yıllarda önemli bir sorun haline gelmiştir. Hastaların bir kısmında sistemik kandidoz, damar içi kateterlerin kontaminasyonu ile başlamakta ve biyofilm tabaka içindeki mayaların antifungal ilaçlara direncinde önemli rol oynamaktadır (25). Katater ilişkili enfeksiyonların *C. parapsilosis* kandidemilerinde risk faktörü oldukları bildirilmiştir (24). *Candida*'lar, adezyonda rol alan, genellikle polisakkarit ya da glukoprotein yapıda adezinlere ve hücre ilişkili ya da serumda bulunan ligandlara sahiptir. Bu adezinler, Als (agglutinin-like sequence) protein ailesi, Hwp1p, Eap1p, Csh1p ve diğer daha az bilinen hücre yüzey reseptörlerinden oluşmaktadır (25).

Fenotipik değişiklik, invazyon sırasında değişen çevre şartlarına mantarın uyumunun sağlanmasında önemli bir faktördür. Bazı *C.albicans* hücre topluluklarında, hücre yüzey özellikleri, koloni görünümü, biyokimyasal özellikleri ve metabolizması, daha virulan ve enfeksiyonlarda daha etkili forma değişiklik gösterebilmektedir (26). Ortamın ısısı, pH'ı, CO₂ konsantrasyonu gibi çevresel koşullardaki değişiklikler, *Candida*'larda tek hücreli, ovoid maya hücreleri (blastospor) ile hif ya da pseudohiflerin oluşturduğu filamantöz yapılar arasında morfolojik değişikliklere neden olabilir. Mantarın bu özelliği enfeksiyonların patogenezinde önem kazanmaktadır. Çevreye yayılma ve yeni konağa ulaşmada maya hücreleri sorumlu iken, doku hasarı ve invazyon için hifler gereklidir ve biyofilm oluşumunda her iki form da yer almaktadır (24, 27).

Önemli diğer virulans faktörleri, proteazlar (salgısal aspartil proteinaz=SAPs), lipazlar ve fosfolipazlar gibi hidrolitik enzimlerin sentezi ve salınmasıdır. Bu enzimlerin fungal beslenmedeki önemli rolleri yanı sıra, lezyon alanındaki çoğu konak proteinlerinin (albümin, hemoglobin, keratin, salgısal IgA) yıkılması ile doku hasarı, invazyon, konak savunmasından kaçış gibi mekanizmalarla *Candida* patogenezinin güçlü katkıları bulunmaktadır. *In vitro* koşullarda *C.albicans*, *C.dubliniensis*, *C.tropicalis* ve *C.parapsilosis*'te aktif olarak proteinaz üretimi saptanmıştır (24, 27, 28).

***Candida* Enfeksiyonlarına Konak Yanıtı**

Candida enfeksiyonlarına konak yanıtı, doğal bağışıklık ve hücre aracılı kazanılmış bağışıklık ile fungal virulans arasındaki ilişkinin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Mantarın mukozal yüzeyde uzun süre kommensal olarak kalması ya da patojenliğe dönüşümü, doğal ve kazanılmış bağışıklığın bütünü ile ilişkilidir.

Mikroorganizmaya ilk yanıt, cilt ve mukoz membranların oluşturduğu fiziksel bariyerler ile oluşur. *Candida* enfeksiyonlarına doğal bağışıklıkta nötrofiller, monositler ve doku makrofajları, doğal öldürücü (NK) hücreler ile opsonin (spesifik antikorlar ve kompleman komponentleri), kollektin, defensin, mannoz bağlayan protein gibi moleküller görev almaktadır. *Candida*'lar deri veya mukoza engelini aştıklarında, kandidemi ve sistemik kandidoza karşı savunmada rol oynayan en önemli hücre tipi nötrofillerdir ve bunların sayı ve fonksiyonlarındaki bozukluk konağın *Candida* enfeksiyonlarına duyarlılığını arttırmaktadır. Bununla birlikte makrofajlar dissemine kandidozda büyük role sahiptirler. Opsoninler nötrofil fagositozu için çok gerekli olmasalar da, fungusun hücre içi öldürülmesinde önemli rol oynamaktadırlar. NK hücreleri fungusa karşı direkt öldürücü etki gösteremezler, ancak fungus ile NK hücreleri arasında onların fonksiyonlarını etkileyen bir etkileşim meydana gelebilir ve bu etkileşim fagositik hücre fonksiyonlarını uyaran sitokinlerin salınımını başlatabilmektedir (29-31).

Fungal enfeksiyonlara karşı özgül (kazanılmış) savunmada etkili mekanizma hücre aracılı immünitedir, ancak antikor yanıtının belli tipleri de koruyucu role sahiptir. Genellikle Th1 (T helper 1) aracılı immünite enfeksiyonun ortadan kaldırılmasında, Th2 ise enfeksiyona duyarlılıkta etkilidir. Th1 ve Th2 hücrelerin etkinlikleri, enfeksiyon bölgesindeki fungusidal fagositleri etkinleştirir ya da etkinliklerini durdururlar. Fagositlerin etkinlikleri Th1 tipi sitoksinler tarafından artırılır; Th2 tipi sitokinler ise fagositik fonksiyonları bozar (29-32).

C.krusei diğer *Candida* türleri ile karşılaştırıldığında oldukça zayıf bir patojendir ve kommensallikten patojenliğe dönüşmesinde en önemli etken konağın savunma sistemindeki kısmi ya da tam yetersizlikle ilişkilidir. Bu yüzden, *C.krusei* enfeksiyonlarının sıklığının genellikle immün yetmezlikli hastalarda gözlenmesi şaşırtıcı değildir (26).

2.6. Tıbbi önemi olan *Candida* Türleri

Candida albicans; maya- hif dönüşümü gösteren, bazı hidrolitik enzimleri olan bu nedenle de en virülan *Candida* türüdür. A ve B serotipleri bulunmaktadır. Serumda 37°C'de 2-2,5 saat bekletildiğinde boğumlanma göstermeyen uzantılar oluştururlar. Bunlara çimlenme borusu veya germ tüp denmektedir (7, 13, 17). Bu yapıların oluşması

ve de mısır unlu agarda 48-72 saatte klamidospor oluşturmaları bu tür için tanı koydurucudur (7).

Candida stellatoidea (7), *C. langeronii* (klamidospor negatif) ve *C. clausenii* (germ tüp negatif); farklı türler olmayıp, *C. albicans*'ın varyantlarıdır (7, 17).

Candida parapsilosis (C. parakrusei); mısır unlu agarda 3 günlük inkübasyon sonucunda; uzun, düzenli dallanma gösteren ve “çam ormanı”nı andıran yalancı hifler oluşturur (7).

Eğri ve diğerlerine kıyasla daha kısa psödohifleri ve dev hücreleri andıran geniş hifal yapılara sahiptir (13).

Candida tropicalis (C. paratropicalis); SDA yüzeyinde 25°C'de 2 günlük inkübasyonla ince bir pelikül oluştururlar. Teleomorfı, askosporları ile çoğalan *Pichia jadinii*'dir (7).

Gerçek hif ve nadiren de klamidospor oluşturabilir. Sükrozu parçalayabilmesi ile kendisine çok benzeyen *C. paratropicalis*'ten ayrılır (13).

C. glabrata; önceden *Torulopsis glabrata* olarak bilinmekte iken, *Candida* türlerine dahil edilmeleri hala tartışmalıdır. Literatürde her iki ismiyle de karşılaşılabilir. Bu türe ait organizmalar yalancı hif oluşturmazlar (7).

Bu tür insan mukozasında patojen olmayan yaygın bir mantar türü olarak kabul edilmekte iken, günümüzde neden olduğu mukozal ve sistemik infeksiyonlar hızla artış göstermekte ve kendisine olan ilgiyi artırmaktadır (17).

Diğer *Candida* türlerinden farklı olarak, infeksiyonlarda sıklıkla tercih edilen azol tedavisine mekanizması tam olarak anlaşılamamış doğal bir direnç göstermektedir. Bu direnç azollerin fungal plazma zarının sterol miktarında değişiklik yapması ve böylece antifungal ajanın alımında azalma göstermesinin neden olabileceği var sayılmaktadır. Diğer bir farkı ise, dimorfik olmayan blastokonidyal morfolojisi ve haploid genom taşımasıdır. Son yıllarda nozokomiyal kaynaklı sistemik veya yüzeysel kandidozlara yol açan organizmalar arasında ikinci sırada yer almaktadır (17).

Sadece maya formu olan bu tür, gastrointestinal ve genitoüriner mukozaya kolonize olabilmektedir (13).

C. dubliniensis; yakın zaman önce tanımlanmıştır ve *C. albicans* ile filogenetik olarak yakın akrabadır. Germ tüp oluşturabilen bu tür *C. albicans*'tan 42°C'de zayıf üremesi veya hiç üreyememesi ve betaglukosidaz aktivitesi göstermemesiyle ayrılabilmektedir. Asıl ayırım moleküler yöntemlerle yapılmalıdır (7).

C. guilliermondii; askosporlarıyla çoğalmaktadır. Teleomorfu *Yamadazyma guilliermondii* olarak adlandırılır. Mısır unlu agarda, yalancı hif oluşum sıklığı kökene göre değişkenlik gösterebilir. Blastosporlar kısa zincirler ya da kümelenmeler oluşturabilirler (7).

Kolonileri zamanla pembeleşme eğilimindedirler ve diğerlerine kıyasla kısa psödohiflere sahiptir (13).

***C. kefir* (*C. pseudotropicalis*)**; SDA'da oluşturdukları koloniler diğer türlerinkilere nazaran daha küçüktürler. Mısır unlu agarda, yalancı hif ve yer yer uzunlukları 16µm'ye ulaşan blastosporlar oluşturur. Teleomorfu *Kluyveromyces marxianus*'tur ve askosporları ile çoğalır (7).

C. krusei; SDA'da düzgün ve büyük koloniler oluşturur. Inkübasyon süresi bir haftaya uzatıldığında, blastosporların uzunluğu 25 µm'ye ulaşır. SDA'da 25°C'de 3 günlük inkübasyon sonunda ise yüzeyde kalın bir tabaka (pellikül) oluşturur. Teleomorfu, *Issatchenkia orientalis*'tir ve askosporlarıyla çoğalır (7).

Sikloheksimide duyarlıdır, dekstrozu fermente eder ve galaktozu assimile etmez (13).

C. lusitane; morfolojik olarak *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*'e benzemesine rağmen, sellobiyozu fermente etme ve ramnozu assimile etme gibi biyokimyasal özellikleriyle onlardan ayrılır (13).

C. norvogensis; teleomorfu *Pichia norvogensis* olarak adlandırılır ve askosporlarıyla çoğalır (7).

C. pelliculosa; askosporlarıyla çoğalır ve teleomorfu *Hansenula anomala* veya *Pichia anomala* olarak adlandırılır (7).

2.7. *Candida* Enfeksiyonları

2.7.1. Yüzeyel *Candida* Enfeksiyonları

Yüzeyel *Candida* enfeksiyonları hem immüdüşkün hem de immünkompetan bireyleri etkileyebilmektedir. Pamukçuk olarak bilinen oral *Candida* enfeksiyonları oldukça yaygındır. Dil ve diğer ağız içi yüzeylerde krem gibi beyaz yamalarla karakterize, oral kandidozun spesifik bir formudur, ağrılıdır ve kaldırıldığında kanayabilir. Sıklıkla süt emen bebeklerde, kanserli, AIDS'li hastalarda, inhale steroid kullananlarda görülür (1). Bu klasik lezyonlara ilave olarak; akut atrofik kandidoz, kronik atrofik kandidoz, anguler cheilit ve lökoplaki'yi içeren diğer formlar da görülebilir. Tanı lezyonun klinik görünümü, lezyondan alınan örneklerin mikroskopik incelenmesi ve kültürü ile yapılabilir (1, 34).

Candida özofajiti, genellikle hematopoetik veya lenfatik sistem kanseri tedavisi, antibiyotik, steroid ya da omeprazol kullanımı ve ilerlemiş HIV enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Yutma güçlüğü, ağrılı yutma ve retrosternal ağrı gibi diğer özofajitlerden ayırt edilemeyen semptomlar görülür. Tanı endoskopide pamukçuk benzeri beyaz yamaların görülmesi ve biyopsi ile yapılabilir (35, 36).

Vulvovajinal kandidoz diğer bir mukozal *Candida* enfeksiyonudur ve vajinitlerin en sık nedeni *Candida*'lardır. Tüm kadınların yaklaşık %75'i hayatlarında bir kez *Candida* vajiniti atağı geçirirler ve bunların %85-90'ında *C.albicans* etkendir (35, 37). Bu yaygın enfeksiyon en sık kontrolsüz diyabet, antibiyotik tedavisi, gebelik, hormon replasman tedavisi, immünsüpressif tedavi durumlarında görülür. Semptomatik vajinal kandidoz kaşıntı, yanma hissi, kesilmiş süt benzeri akıntı gibi yakınmalar, vajinal ve/veya vulvar eritem ve ödem gibi bulgular vardır (36, 37).

Cilt, tırnak ve mukoz membranlarda *Candida*'lar tarafından oluşturulmuş kronik ve/veya tekrarlayan enfeksiyonlar kronik mukokutanöz kandidoz olarak anılmaktadır. Bu kliniğe sahip hastaların ortak özelliği, *Candida*'lara karşı etkili hücre aracılı immün yanıt geliştirebilme yeteneklerindeki yetersizliktir (35). Hastaların çoğu süt çocuğu ya da çocukluk yaş grubundadır. T lenfosit fonksiyon bozukluğu yanında, B lenfosit, granülosit veya kompleman fonksiyon bozukluğu da görülebilir. Bazı örneklerde multipl endokrin anomaliler, tekrarlayan viral ve bakteriyel pulmoner veya sinüs enfeksiyonları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (36).

Candida türleri cilt ve tırnakları tutan yüzeyel enfeksiyonlara neden olabilirler. Mikroorganizma sıcak ve nemli vücut bölgelerini tercih eder. HIV ile enfekte hastalarda

yüzeyel *Candida* enfeksiyonları sıklıkla diğer yüzeyel mikozlarla birlikte görülmektedir. Süt çocuklarında görülen diaper döküntüsünün en sık nedenlerinden biri *Candida*'lardır. Diaper döküntüsünde lezyonlar gluteal, inguinal ve perineal alanlarda daha belirgindir.

2.7.2. Dissemine Kandidoz ve Kandidemi

Kandidemi, en az bir kan kültüründen *Candida* türlerinin izolasyonu olarak tanımlanmaktadır. Buna enfeksiyon ya da sepsis bulguları eşlik edebilir ya da etmeyebilir. Akut dissemine kandidoz, hematojen olarak tek ya da multipl organa *Candida*'ların yayılmasıdır. Kronik dissemine kandidoz ise hematolojik malignansili hastalarda görülen ve hepatosplenik kandidoz olarak da bilinen yaygın bir enfeksiyon şekli olarak tanımlanmaktadır (38). Kandidemi, toplum kaynaklı bir enfeksiyon olarak sık görülmez, sıklıkla nozokomiyal bir komplikasyon olarak ortaya çıkar. Amerika'da tüm nozokomiyal kan akımı enfeksiyonlarının etkenleri arasında *Candida*'lar 4., yoğun bakım hastaları arasında ise 3. sırada yer almakta ve nötroopenik hastalar arasında anlamlı oranda daha yüksek sıklıkla görülmektedirler. En sık izole edilen tür *C.albicans* olduğu halde, non-*albicans Candida* türlerinin sıklığında da artış bildirilmektedir. Ayrıca, en yüksek mortalite oranları da *Candida* nedenli kan akımı enfeksiyonlarında ve *Candida* türleri arasında da *C.krusei* nedenli kan akımı enfeksiyonlarında tespit edilmiştir (34).

Kandidemi gelişimi açısından risk taşıyan hasta grubu onkoloji ve transplant hastaları, yanık, cerrahi ve diyabet hastaları ile düşük doğum ağırlıklı yeni doğanlardır. Onkoloji hasta grubunda ise en yüksek risk akut lösemi hastalarında gözlenmiştir. Bu hastalarda santral venöz kateterler, parenteral beslenme, geniş spektrumlu antibakteriyel kullanımı, yoğun kemoterapi ve immünoşüpresif rejimler ilave risk faktörleridir (34, 36,38).

Dissemine kandidozda en sık tutulan organlar böbrek, beyin, miyokard ve gözdür. Kandidemi ya da dissemine kandidozu düşündürecek spesifik semptom ya da bulgular yoktur. Şiddetli enfeksiyon bulguları bulunan hastalarda antibakteriyel tedaviye cevapsız ateş varlığı önemli bir kanıt olabilir. Tanı genellikle zordur, kan kültürü pozitiflik oranı yaklaşık %40 ve bulgular nonspesifik olduğundan antemortem tanı oranı düşüktür (36, 38).

2.7.3. Derin Yerleşimli *Candida* Enfeksiyonları

Derin yerleşimli *Candida* enfeksiyonları direkt inokülasyon ya da hematojen yayılma ile oluşabilirler. En sık alt üriner sistem enfeksiyonları görülür. Hastanede yatan ve yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan en sık izole edilen etkenler arasında yer almaktadır. *Candida* türleri alt üriner sistemde kolonize olabilir ve alt ya da üst üriner sistemde enfeksiyona neden olabilir. Semptomlar bakteriyel enfeksiyonlardakilerle aynıdır. Üriner kateter varlığı, diyabet, geniş spektrumlu antibiyotiklerin ya da immünoşüpresif ajanların kullanımı en önemli risk faktörleridir.

Candida ile oluşan merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonu nadirdir, sıklıkla prematüre doğanlarda ve MSS cerrahisi geçirmiş hastalarda görülür. Genellikle dissemine kandidozun bir komplikasyonu olarak ortaya çıkar. Diğer risk faktörleri lomber pnömoniyon, ventrikülo-peritoneal şant ve nadiren bakteriyel menenjitin komplikasyonudur. En sık görülen şekli menenjitir, mikotik anevrizma ve beyin apseleri de görülebilir. Semptom ve bulgular, klasik menenjit tablosuna göre daha silik ve kronik seyreder, mortalitesi yüksektir (36, 39).

Diğer nadir bir tutulum *Candida* nedenli pnömonidir, iki şekilde görülür; enfekte sekresyonların aspirasyonu ile endobronşiyal yerleşim sonucu gelişen lokal veya diffüz bronkopnömoni ve hematojen kaynaklı, yaygın, ince nodüllü infiltratlardır. Diğer formları daha nadirdir. Fungal endokarditlerin en sık etkeni *Candida*'lardır, perikard, miyokard ve endokarda enfeksiyon oluşturabilirler. Kalp cerrahisi, protez kalp kapakları, santral venöz kateterler intravenöz ilaç kullanımı, bakteriyel endokardit ve kalp kapağı yapısal bozuklukları önemli risk faktörleri arasında sayılabilir (36).

Candida nedenli peritonit sıklıkla iki hasta grubunu etkilemektedir; kronik peritoneal diyaliz hastaları ile karaciğer ya da pankreas transplant hastaları ve pankreatit ya da gastrointestinal perforasyon nedenli cerrahi müdahale geçirmiş hastalardır. Peritoneal diyaliz hastalarındaki fungal peritonitlerin yaklaşık %75'inde etken *Candida*'lardır.

C.albicans endojen oftalmitlerin en sık nedenlerindendir. Ayrıca ekzojen oftalmit, keratit gibi enfeksiyonlara da neden olabilir. Genellikle sistemik bir hastalık varlığında (diyabet, immünoşüpresyon) ortaya çıkar. Kandidemi, cerrahi, lokal steroid ya da antibakteriyel ajan kullanımı, göz anomalileri ve intravenöz kateterler enfeksiyona zemin hazırlayan risk faktörleridir (40). Kemik ve yumuşak doku enfeksiyonları oldukça nadir görülen enfeksiyonlardır ve genellikle kandideminin geç komplikasyonu

olarak ortaya çıkarlar. Vertebra ve intervertebral diskler, el bileği, femur, proksimal humerus, skapula ve kaburgaların kostakondral birleşim yerlerini tutabilir. Tanı ve tedavi güçtür (36).

Hepatosplenik kandidoz (kronik dissemine kandidoz), akut lösemi tedavisi gören hastalarda ya da uzun süre nötropenik kalan kemik iliği transplant alıcılarında görülen dissemine *Candida* enfeksiyonudur. Hastalarda çoklu karaciğer ve dalak apseleri mevcut olup morbidite ve mortalitesi yüksektir (41).

2.8. Tanı

2.8.1. *Candida* Enfeksiyonlarının Tanısı

Candida enfeksiyonlarının tanısında ilk adım bu etkenden şüphelenmektir. Laboratuvar tanıda standart yaklaşım;

- Klinik örneklerin direkt mikroskopik incelemesi,
- Kan, vücut sıvıları, dokular ve diğer örneklerden kültür ile etkenin izolasyonu,
- Etkenin tür seviyesinde tanımlanması,
- Dokudaki *Candida* türü ile morfolojik benzerliğin kanıtlanmasına dayanmaktadır

2.8.2. Örneklerin Alınması ve Taşınması

Candida enfeksiyonu şüphesi varlığında örneklerin alınması ve laboratuvara ulaştırılması esnasında özel işlemlere gerek yoktur. Örnekler alındıktan sonra en geç iki saat içinde laboratuvara ulaştırılmalı, sıvı örnekler mümkün olan en kısa sürede işleme alınmalı, doku ve sürüntü örneklerinin kurummasına izin verilmemelidir. Kısa sürede işleme alınamayacak steril örnekler 37 °C’de, normal flora ile kontamine olma olasılığı yüksek olan örnekler ise +4 °C’de saklanmalıdır (22, 42).

2.8.3. Mikroskopik İnceleme

Candida enfeksiyonlarının tanısında, ilk adım mikroskopik incelemedir ve örneklerin Gram, metilen mavisi veya kalkoflor beyazı ile boyanarak incelenmesinde tomurcuklanan maya hücreleri, hif ya da yalancı hiflerin görülmesi tanıda değerlidir. Cilt, tırnak gibi keratinize ya da epitelial doku örnekleri %10-30 KOH ile muamele edilerek incelenmelidir. Beyin omurilik sıvısı, idrar, bronkoalveoler lavaj gibi sıvı

örneklerde maya hücreleri yoğun olmayacağından, santrifüj işleminden sonra Gram boyanarak incelenmesi ayrıca balgam örneklerinde müşini parçalamak amacı ile örneğin homojenize edilmesi duyarlılığı arttırmaktadır (42, 43).

2.8.4. Kültür

Etkenin izolasyonu için tüm örneklerin kültür incelemesi yapılmalıdır. Bu, gerektiğinde antifungal duyarlılık testlerinin yapılabilmesi ve epidemiyolojik çalışmalar için önemlidir (44). Yüzeyel enfeksiyonların mikroskopik incelemesinde mikroorganizmanın görülmesinin ardından kültür pozitifliği tanıyı kesinleştirir (36). İnvaziv *Candida* enfeksiyonlarının tanısında da kültür önemli rol oynar. Pozitif bir kan kültürü sistemik bir enfeksiyonu ya da kontamine intravenöz girişimlere bağlı geçici bir kandidemiye yansıtabilir. Ancak solunum veya sindirim sisteminden elde edilen pozitif bir kültür kolonizasyon da olabileceğinden, balgam ya da gaita örneğinden izolasyon tek başına tanı için yeterli değildir. Bu nedenle steril bölge örnekleri (biyopsi ya da bronkoskopik örnekler) elde edilmeli ve sonuçlar klinik bulgularla birlikte değerlendirilmelidir (42, 43, 45)

Candida'lar, genellikle mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin kullanılan besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler. SDA, içerdiği yüksek şeker konsantrasyonu nedeniyle, bakterilerin üremelerini baskımlarken, *Candida*'lar ve diğer mantarların üremesini kolaylaştırmaktadır. Mantar enfeksiyonu açısından şüpheli örnekler SDA besiyerine inoküle edilerek oda ısısı (22–26 °C) ve 37 °C'de inkübe edilirler. Maya kolonileri 24–48 saatte belirgin hale gelir. Dissemine kandidoz ve kandidemi düşünüldüğünde mutlaka kan kültürü yapılmalıdır. Ancak bu durumda kan kültürü pozitifliği çok düşük olduğundan birkaç kez tekrarlanmalıdır. Pozitiflik oranını ve üreme hızını arttırmak için lizis santrifügasyon teknikleri ve sürekli monitorizasyon yapan otomatize sistemler geliştirilmiştir. İnvaziv fungal enfeksiyon tanısında klinik örneklerin mikroskopik incelenmesi ve kültürü hala altın standart yöntemler olmakla birlikte, bunların duyarlılık ve özgüllüğü genellikle yetersizdir ancak fungal yükün yükseldiği, enfeksiyonun ileri evrelerinde pozitifleşmektedirler (46).

2.8.5. Serolojik Yöntemler

İnvaziv *Candida* enfeksiyonlarının erken tanısı, nonspesifik klinik semptom ve bulgular nedeniyle oldukça zordur. Ayrıca sıklıkla negatif sonuçlanan ya da geç pozitifleşen kan kültürü gibi geleneksel yöntemler hastalığın tanısında çoğu zaman

yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle *Candida* enfeksiyonlarının hızlı tanısına yönelik birkaç serolojik test geliştirilmiştir. Kültür dışı tanı testleri içinde en ilgi çeken konak yanıtını ölçen testlerdir. Çünkü uygulaması kolaydır ve örnek eldesi için invaziv işlemler gerekmez. Ancak bu yöntemler invaziv kandidoz için nadiren kullanılırlar. Çünkü enfekte olmayan hastalarda kolonizasyona bağlı yanıtlar, immün düşkün hastalarda yetersiz antikor yanıtı gibi nedenlerle antikor tarama testlerinin performansı kötüdür (47, 48). Ancak moleküler biyolojik tekniklerle geliştirilen rekombinant antijenlerin bu sorunları çözebileceği yönünde çalışmalar mevcuttur (48).

Mannan, *Candida* hücre duvarında bulunan üç önemli polisakkarit bileşeninden (beta glukan, kitin, mannan) biridir, enfeksiyon sırasında dolaşıma geçer ve serolojik yanıtı oluşturan en önemli *Candida* antijenidir (49). Kanda mannan antijenlerini tespit etmek üzere iki ticari test geliştirilmiştir; Pastorex *Candida* latex aglutinasyon test (Bio-Rad) ve Platelia *Candida* antijen test (double-sandwich enzyme immunoassay) (Bio-Rad). Bu iki testin özgüllükleri benzer olmakla birlikte (%100 ve %98), ikincisi daha duyarlı bulunmuştur (%28 ve %40). Mannan antijeni kandan hızla uzaklaştırıldığı için, özellikle tek serum örneği ile testin duyarlılığı azalmaktadır (50). Bu nedenle testin duyarlılığını arttırmak için hastalardan sık kan örneği alınması gerekmektedir. Yüksek riskli hastalarda antikor testleri ile birlikte yapıldığında duyarlılık ve özgüllüğün tek başına yapıldığından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (51, 52). Ancak *Candida* mannan antijenin serumda yarı ömrünün kısa olması, enfeksiyon olmaksızın kolonizasyon durumlarında da pozitif reaksiyon vermesi ve enfeksiyonun ancak geç evrelerinde saptanabilmesi gibi dezavantajları nedeni ile testin yararı sınırlıdır. Antijen tespiti invaziv mikozlu hastaların tanısı ve takibinde önemli bir araç olmakla birlikte sonuçlar konak risk faktörleri, klinik semptom ve bulguları ve radyolojik bulgularla birlikte değerlendirilmelidir.

1,3- β -D-glukanlar (BG) “at nalı yengeci” koagülasyon kaskadının faktör G’si (serin proteaz zimojen) ile reaksiyona giren bir fungal hücre duvarı bileşenidir ve bu reaksiyondan yola çıkılarak BG antijenemi testi geliştirilmiştir (52). BG panfungal (zigomiçetler ve kriptokok hariç) bir testtir ve türler arasında ayırım yapamamaktadır. Aspergillozis, fusariyozis, kandidoz ve trikosporonoz gibi invaziv fungal enfeksiyonların tanısında kullanılabildiği ve enfeksiyonu klinik tanıdan ortalama 10 gün önce yüksek bir duyarlılık (%97) ve özgüllükle (%93) saptadığı bildirilmektedir (53). BG saptanmasında FDA tarafından onaylanmış, Avrupa ve Amerika’da kullanılmakta

olan ticari bir test bulunmaktadır (Fungitell Assay). BG antijenemi testinde, özellikle gram pozitif bakterilere bağlı, yüksek yalancı pozitiflik, buna bağlı düşük özgüllük oranları bildirilmektedir (54). Bunun yanında, fungal kolonizasyonun BG konsantrasyonunu 20 pg/ml'den daha fazla arttırmadığı ve CAS ya da itrakonazol ile antifungal profilaksinin test performansını etkilemediği gösterilmiştir (53, 55).

2.8.6. Fungal Metabolitlerin Saptanması

Enfekte konağın vücut sıvılarında bulunabilen mikrobiyal metabolitlerin saptanması enfeksiyon hastalıklarının tanısında bir başka yaklaşım olabilir. D-arabinitol (DA) *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.pseudotropicalis* tarafından kültürde büyük miktarlarda üretilirken, *C.glabrata*, *C.krusei*, *Cryptococcus neoformans*'da gösterilememiştir (56). DA ve L-arabinitol (LA) normal insan serumunda endojen olarak bulunmakla birlikte, serum DA konsantrasyonu ve DA/kreatin oranı ve idrar DA/LA oranı invaziv *Candida* enfeksiyonlarında, enfekte olmayan ya da kolonize bireylerdekinden daha yüksek bulunmuştur. Ancak bunu duyarlı bir şekilde saptayacak herhangi bir ticari sistem bulunmamaktadır (57).

2.8.7. Spesifik Nükleik Asitlerin Saptanması

Fungal enfeksiyonların artan sıklığı ve tanısındaki yetersizlik, dikkatleri invaziv fungal enfeksiyonların moleküler yöntemler kullanılarak hızlı ve etkili tanısına çevirmiştir. Panfungal ve fungus özgül PCR (Polymerase Chain Reaction) testleri invaziv fungal enfeksiyonların tanısında değerlendirilmiş ve ümit verici sonuçlar alınmış olmakla birlikte, henüz standardize edilememiştir ve ticari olarak geliştirilmiş bir moleküler tanı sistemi bulunmamaktadır (58, 59). DNA tespitine dayalı yöntemlerin rutin laboratuvara adaptasyonu öncesinde fungal DNA eldesi için en uygun ekstraksiyon yöntemi, uygun DNA hedefi ve uygun moleküler yöntem belirlenmiş olmalıdır.

Fungal DNA elde edilmesinde altı farklı yöntemin değerlendirildiği bir çalışmada *C.albicans* için hücre duvarının enzimatik lizisi, *A.fumigatus* için ise mekanik ajitasyon en iyi sonucu vermiş ve tüm mantar türleri için uygun tek bir ekstraksiyon yöntemi bulunmadığı sonucuna varılmıştır (60). Son zamanlara Whatman FTA mikrokart teknolojisi ile fungal kültürlerden (hem küf hem de maya) DNA ekstraksiyonunun daha etkili, daha pratik ve daha kısa sürede yapılabildiği bildirilmekle

birlikte, klinik örneklerden fungal DNA elde edilmesinde kullanıldığına dair bir çalışmaya ulaşamamıştır (61).

Hedef olarak genellikle DNA tercih edilir, çünkü RNA ile karşılaştırıldığında nispeten daha stabildir ve ekstraksiyonu daha kolaydır. Son yıllarda ribozomal DNA gen bölgesi (18S geni, 5.8S geni, 28S geni ve internal transcribed spacer 1 ve 2 bölgeleri) ümit veren bir hedef olarak görülmektedir (62). Fungal enfeksiyonların taranmasında tüm fungal türler arasında büyük oranda korunmuş sekanslar kullanılabilirken, değişken sekanslar tür identifikasyonu için önerilmektedir. İnvaziv kandidoz tanısında iki antijen saptama yöntemi ile moleküler yöntemlerin performansı karşılaştırıldığında, özgüllükler her üç test için de oldukça yüksek ($\geq 97\%$) olduğu halde, *Candida* PCR her iki antijen testinden de daha duyarlı (95%) bulunmuştur (63).

Genellikle yüksek performans bildiren yayınlara rağmen, invaziv fungal enfeksiyonların tanısında moleküler yöntemler klinik kullanıma girememiştir. Ayrıca bu enfeksiyonların erken tanısında kültür yöntemleri üzerine tatmin edici bir üstünlüğü de gözlenmemiştir. Moleküler tanı yöntemleri kolonize ve enfekte bireyleri ayıramadığı gibi, yanlış pozitif sonuçlar invaziv kandidoz için 31% ve invaziv aspergilloz için $8-38\%$ olarak bildirilmektedir (56).

2.9. Tedavi

Özellikle dissemine *Candida* enfeksiyonlarının tedavisi güçtür. Çünkü bu enfeksiyonlarda tedavi alternatifleri sınırlıdır ve mevcut antifungallerin birçoğu önemli yan etkilere sahiptir. Antifungal ilaçların hedefi genellikle fungal hücre membran sterolu ya da hücre duvarıdır. Şimdilerde klinik kullanımda olan sistemik etkili antifungal ilaçlar 3 ana grupta yer almaktadır; polyenler, azoller ve ekinokandinler (64).

2.10. Antifungaller

2.10.1. Polyenler

Bu grupta amfoterisin B (AMB) ve nistatin yer almaktadır. AMB ve lipit formülasyonları sistemik fungal enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nistatin ise topikal bir antifungaldir ve sistemik kullanım için geliştirilmiş bir lipit formülasyonu araştırma aşamasında kalmıştır (65).

AMB hidrofilik bir polihidroksil zinciri ve lipofilik bir polyen hidrokarbon zincirine sahip amfoterik bir bileşiktir. Suda iyi çözünmez. Ticari olarak bulunan parenteral formülasyonu AMB deoksikolattır (66). Şiddetli sistemik enfeksiyonlarda en

etkili antifungal ilaç olmasına rağmen terapötik aralığının dar olması klinik kullanımını sınırlamaktadır (44, 64, 66). Bu nedenle AMB lipit kompleks, AMB koloidal dispersiyon ve lipozomal AMB gibi lipit formülasyonları geliştirilmiştir ve bunların böbrekteki konsantrasyonları nefrotoksik AMB deoksikolattan daha düşüktür (44, 66, 67).

AMB ve diğer polyenler fungusidal etkilidir ve primer olarak fungal hücre membranının esas sterolu olan ergosterole bağlanarak etki gösterirler (44, 64-66). Memeli hücreesindeki temel sterol olan kolesterole düşük afinitesi, ilacın seçici toksik etkisini belirlemektedir (68). Bu bağlanma sonucunda mantar hücresinin membran geçirgenliği artar ve bunu hücre içi potasyum, magnezyum, şekerler ve metabolitlerin kaybı takip eder. Sonuçta hücre canlılığını kaybeder. AMB'nin ilave bir etki mekanizması da oksidatif mekanizmalarla direkt membran harabiyetine neden olmasıdır (65).

AMB geniş bir etki spektrumuna sahiptir; *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp., zigomiçetesler ve endemik dimorfik patojenlere (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* ve *Penicillium marneffeii*) etkilidir. Bununla birlikte, *Aspergillus terreus*, *Fusarium* spp., *Pseudallescheria boydii*, *Scedosporium prolificans*, *Trichosporon* spp. ve bazı dematiyesöz (esmer) mantarların AMB'ye dirençli olduğu bildirilmektedir (65, 69). Ayrıca *C.guilliermondii*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.lusitaniae* ve *C.rugosa*'nın bazı izolatları arasında AMB'ye azalmış duyarlılık bildirilmiştir (65).

AMB, çeşitli organlara geniş olarak yayılır ve en yüksek konsantrasyona karaciğer, dalak, böbrek ve akciğerlerde ulaşır (65-67). Beyin omurilik sıvısına geçişi az olmakla birlikte, MSS fungal enfeksiyonlarında etkili bulunmuştur (65).

Lipit AMB formülasyonları kolay tolere edilebilirlikleri ve enfeksiyon alanına daha fazla yayılmaları nedeniyle in vivo yüksek etkinliğe sahiptirler. Bunlar esas olarak renal fonksiyonu bozuk ya da AMB deoksikolatı tolere edemeyen hastalarda endikedir. En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Lipit formülasyonların, başta nefrotoksisite olmak üzere yan etkileri önemli oranda azalmıştır (65, 66).

AMB infüzyon sırasında ya da sonrasında ortaya çıkabilen ciddi yan etkilere sahiptir. İnfüzyon sırasında ortaya çıkan akut reaksiyonlar interlökin ve prostaglandinlerin salınmasına bağlı ateş, titreme, miyalji, hipo/hipertansiyon, taşikardi ve bronkospazmdır. Daha geç ortaya çıkan reaksiyonlar hastanın duyarlılığı ve altta

yatan hastalığı ile ilgili olarak, sıklıkla nefrotoksisite ve anemidir. Lipit formülasyonların en önemli avantajı bu nefrotoksik yan etkiyi anlamlı oranda azaltmasıdır (65).

2.10.2. Azoller

Azol grubu antifungaller kimyasal yapılarına göre iki gruba ayrılırlar; imidazoller (azol halkasında iki nitrojen bulunur; ketokonazol, mikonazol, klotrimazol ve ekonazol) ve triazoller (azol halkasında üç nitrojen bulunur). İmidazoller içinde sadece ketokonazol sistemik etkiye sahiptir. FLU, itrakonazol, vorikonazol (VOR) ve posakonazolü içeren triazollerin hepsi sistemik etkiye sahiptir, ayrıca bu grupta yer alan ravukonazol, isavukonazol ve albakonazol henüz araştırma aşamasındadır (64, 65, 67).

Azol grubu, en yaygın kullanılan antifungal ajanlardır ve fungal sitokrom P-450 bağımlı enzim 14- α -demetilazı inhibe ederek etki gösterirler. Bu enzim lanosterolün ergosterole dönüşümünü sağladığından, inhibisyonuyla fungal hücre membranı sentezi bozulur. Böylece fungal üreme engellenir (fungustatik) ya da fungal hücre ölümü (fungusidal) gerçekleşir. Genellikle azoller, *Candida* spp. ve *Cryptococcus neoformans* gibi mayalara fungustatik etki göstermekteyken, itrakonazol, VOR, posakonazol ve ravukonazolün *Aspergillus* türlerine karşı fungusidal etkili olduğu bildirilmektedir (65).

VOR yeni bir triazol antifungaldir ve oldukça geniş bir etki spektrumuna sahiptir; *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon* spp. gibi maya mantarlarına; *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. ve dematiyesöz etkenler gibi filamantöz mantarlara; ve endemik dimorfik patojenlere etkili olduğu bildirilmektedir (65, 69). Ayrıca doğal FLU direncine sahip olduğu bilinen *C.krusei* ve FLU'e azalmış duyarlılığından söz edilen *C.glabrata*'ya karşı da etkilidir. VOR *Zygomycetes*'e etkisiz, bunun yanında *Aspergillus terreus* ve *Pseudallescheria boydii* gibi AMB'ye dirençli mantarlara karşı etkilidir (65).

VOR'ün hem oral hem de parenteral formları mevcuttur ve oral biyoyararlanımı oldukça yüksektir (>%90) (66, 70). MSS ve diğer tüm dokulara penetrasyonu iyidir. Maya mantarlarına fungustatik, *Aspergillus* türlerine fungusidal etkilidir. VOR tedavisi için primer endikasyon invaziv aspergillozdur ve invaziv aspergilloz tedavisinde AMB'den daha etkili bulunmuştur (70).

VOR genellikle iyi tolere edilir, en sık yan etkisi geçici görme bozukluğudur ve hastaların yaklaşık %30'unda görülür (71). Nadiren tedavinin kesilmesini gerektirir.

Bunun dışında cilt reaksiyonları, anormal karaciğer fonksiyon testleri, halüsinasyonlar ya da konfüzyon gibi yan etkiler de gözlenebilir (65, 69). Hepatik P-450 sistemi ile metabolize olan diğer ilaçlarla etkileşimi sıktır (65).

2.10.3. Ekinokandinler

Ekinokandinler farklı bir yoldan etki gösteren yeni bir antifungal grubudur. Bilinen diğer antifungallardan farklı bir mekanizmayla, fungal hücre duvarının önemli bir yapı taşı olan 1,3- β -glukan sentezini inhibe ederek etki gösteren yarı-sentetik lipopeptidlerdir (72, 73). BG sentezinin inhibisyonu hem fungustatik hem de fungusidal etkiyi ortaya çıkarabilir; hücre duvar sentezinin engellenmesi fungal üremeyi azaltarak fungustatik etki gösterirken, duvar bütünlüğünde ortaya çıkan değişiklikler hücre içi osmotik basınca mekanik direncin yetersizliğine neden olarak fungal hücre ölümüne yol açmaktadır (72). *Candida* türlerine karşı fungusidal, *Aspergillus* türlerine karşı ise fungustatik etki sergilemektedirler. Memeli hücresinde BG bulunmadığından, mantarlar için oldukça seçici bir toksik etkiye sahiptir (72). Çeşitli mantar enfeksiyonlarının önlenmesi veya tedavisi için kabul görmüş olan üç ekinokandin, anidulafungin, kaspofungin (CAS) ve mikafungindir (64-66, 73).

Ekinokandinler glukan sentezi üzerinden etki gösterdikleri için, etki spektrumları duvar yapısında BG bulunan mantarlara sınırlıdır. Bu nedenle *Candida* ve *Aspergillus* türlerine etkili, dematiyesöz ve endemik dimorfik mantarlara karşı değişken aktiviteye sahiptirler. Ancak, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon* spp., *Fusarium* spp. ve diğer hiyalen küfler ile *Zygomycetes* sınıfı mantarlara karşı etkisizdirler (64-66).

CAS mukozal ve sistemik kandidoz tedavisinde geleneksel AMB kadar etkilidir (64). Oral biyoyararlanımı kötüdür, bu nedenle parenteral formları mevcuttur (66, 69). Bütün büyük organlara yayılır, doku penetrasyonu oldukça iyi olduğu halde beyin omurilik sıvısına geçişi düşüktür (64, 65). CAS uzun bir yarılanma ömrüne sahip olduğundan günde tek doz kullanımı önerilmektedir (64).

Ekinokandinler, fungal hücre duvarına özgül bir etkiye sahip olduklarından toksik etkileri nadirdir ve iyi tolere edilirler. Şimdiye kadar ciddi bir yan etki bildirilmemiştir. Tedavi sırasında ateş, bulantı, kusma, döküntü ve infüzyona bağlı yan etkiler görülebilmektedir.

2.10.4. Antifungal Kombinasyonlar

Mortalitesi yüksek fırsatçı fungal enfeksiyonların sıklığındaki artış, tedavide farklı hedeflere etkili yeni antifungallerin geliştirilmesine ve bunların kombinasyonlarının araştırılmasına yönelik çalışmaları teşvik etmiştir. Özellikle tedavisi daha güç olan küf enfeksiyonlarında antifungal ajanların tek başlarına agresif kullanımlarının yanı sıra, bunların kombine kullanımları da yoğun ilgi odağı haline gelmiştir. Kombinasyon tedavisindeki gerçek amaç, monoterapi ile elde edilenden daha iyi bir klinik sonuç sağlayabilmektir (65). Özetle, daha etkili ve geniş bir spektrum sağlamak, tek ilaç tedavisi ile sağlanandan daha güçlü bir etki oluşturmak, güvenilirliği arttırmak, ilacın tolere edilmesini kolaylaştırmak ve dirençli mikroorganizmaların sayısını azaltmaktır (74, 75). Bununla birlikte, antifungal kombinasyon tedavisi ile fungal öldürme ve klinik etkinliğin azalabileceği, ilaç etkileşimleri ve toksisite potansiyelinin artabileceği ve ilaç maliyetlerinin ciddi boyutlara ulaşabileceği de unutulmamalıdır. Bu nedenle, kombine antifungal tedavi hakkındaki veriler dikkatle değerlendirilmeli, günümüz koşullarında standart bir yaklaşım olarak görülmemelidir (76).

Kombinasyonda, ilaçlar tek başına kullanıldığında elde edilenden belirgin oranda daha iyi sonuçlar alındığında sinerjik etkileşimden, aksine tek başına kullanıldıklarında elde edilene göre daha düşük aktivite saptandığında antagonizmadan söz edilebilir. Etkili bir kombinasyon tedavisi oluşumunda birkaç mekanizma düşünülmektedir. i) Aynı biyokimyasal yolun farklı evrelerinin inhibisyonu. Bir azol ile terbinafinin kombinasyonu buna örnek gösterilebilir. Her iki ajan da sterol sentezinde farklı noktalara etki göstermektedir. ii) Kombinasyondaki iki ajandan biri hücre duvarı ya da membranının geçirgenliğini artırarak, diğ erinin hücre içine girişini kolaylaştırabilir. Bu etkiye klasik bir örnek AMB ve flusitozindir, AMB hücre membran harabiyeti yaparak hücre içinde etki gösteren flusitozinin girişini kolaylaştırmaktadır. iii) Bir ajanın hücre dışına transportunun diğ eri tarafından engellenmesi. Birçok mantarda bulunan eflux (geri atım) pompası, antifungalin toksik etkisinden korunmak için, etkili bir şekilde antifungalı hücre dışına pompalamaktadır. Reserpin gibi ajanlarla bu pompaların inhibisyonunun azol antifungallerin etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir. iv) Farklı hedeflerin eş zamanlı inhibisyonu. CAS gibi bir ajanla hücre duvarı sentezinin inhibisyonunun, AMB ya da azoller ile hücre membran harabiyeti ile birleştirilmesi bu tip kombinasyon için örnek gösterilebilir (65, 76, 77).

Benzer şekilde antifungal antagonizma için de farklı mekanizmalar söz konusudur: i) Aynı hedefe etkili iki ilacın yarışmalı olarak birbirinin etkisini azaltması (azoller ve AMB). ii) ilaçlardan birinin diğerinin hedef bölgesinde değişikliğe neden olması. Azol antifungaller ergosterol sentezini inhibe ederek AMB'nin daha az bağlanabildiği metil sterol birikimine neden olabilirler. iii) bir ajanın diğerinin hedef bölgesini bloke etmesi. İtrakonazol gibi lipofilik ajanlar fungal hücre yüzeyine tutunabilir ve AMB'nin membran sterollerine bağlanmasını engelleyebilir (77).

Antimikrobiyal kombinasyonlar sıklıkla septisemik ya da ciddi hastalığı bulunan hastalarda ampirik olarak geniş spektrumlu etkiyi sağlamak için tercih edilirler. Daha az sıklıkla da, antimikrobiyallerin önerilen dozlarına dirençli bir patojen saptandığında ve tek ilaçla tedaviye cevap alınamadığında gündeme gelmektedir. İlaçların kombine edilerek tedavide kullanılması tedavi süresini kısaltabilir ve direnç gelişimini önleyebilir (75).

Klinik olarak antifungal kombinasyon tedavisinin yararı kanıtlanmış tek fungal enfeksiyon kriptokok menenjitidir; AMB'ye flusitozinin eklenmesi ile daha yüksek iyileşme oranları ve daha hızlı beyin omurilik sıvısı sterilizasyonu sağlanmaktadır. Ayrıca diğer bazı fungal enfeksiyonlarda da antifungal kombinasyonlar ile başarılı sonuçlar alındığına dair yayınlar bulunmaktadır (78-80). İnvaziv *Candida* enfeksiyonlarında genellikle tek bir antifungal ajanla yeterli sonuç alınabilmektedir. Ancak menenjit, endokardit, hepatosplenik enfeksiyon, tekrarlayıcı ya da dirençli *Candida* enfeksiyonları gibi bazı özel durumlarda kombinasyon tedavileri gerekli olabilir.

C.krusei doğal FLU direnci nedeniyle çoklu ilaç direnci bilinen bir fungal patojendir ve hem flusitozin hem de AMB duyarlılığının azaldığını bildiren yayınlar bulunmaktadır. FLU ya da AMB almakta olan hastalar arasında *C.krusei* nedenli salgınlar bildirilmiş ve yüksek doz AMB ile daha iyi klinik yanıt sağlandığı gösterilmiştir (81). Bu durumda *C.krusei* izolatlarının hem AMB'ye hem de CAS ve VOR gibi daha yeni antifungallere ve antifungal kombinasyonlara yanıtının değerlendirilmesi önem kazanmaktadır.

Şimdilerde antifungal kombinasyon tedavileri oldukça ilgi çekici bir konudur, ancak onların yararlı olduğunu gösteren veriler sınırlıdır. Bu nedenle antifungal kombinasyonların yararını değerlendiren klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

2.10.5. Farmakodinamik Özellikler

Antifungal farmakokinetik-farmakodinamik özellikler invaziv fungal enfeksiyonların tedavisinde ilaç seçiminde önemli rol oynamaktadır (82). Farmakokinetik çalışmalar emilim, dağılım, metabolizma ve atılma gibi ilaç ile konak arasındaki ilişkileri kapsamaktadır. Antimikrobiyal farmakodinamik çalışmaları ise ilaç farmakokinetikleri, in vitro duyarlılık ve tedavi etkinliği arasındaki bağlantıyı anlamayı sağlamaktadır. Farmakokinetik-farmakodinamik araştırmaları en uygun antifungal doz rejimlerinin saptanmasında ve in vitro duyarlılık sınır değerlerin belirlenmesinde değerlidir (83). Antifungal farmakodinamik özellikler klinisyenin en etkili ilacı seçebilmesine imkan sağlar, özel bir patojen ve enfeksiyon bölgesi için tedavide en etkili ve güvenli doz ve intervalin belirlenmesinde rehber oluşturur. İlaç endüstrisi için farmakokinetik-farmakodinamik çalışmalar, geliştirilen bileşiğin muhtemel başarısı için bir öngörü sağlar ve klinik çalışmalarda doz rejimlerinin tasarlanmasında rehberlik edebilir (83).

Antifungallerin farmakodinamik ilişkileri *time-kill* (zamana bağlı öldürme = ölüm zamanı), kolorimetrik hücre canlılık testleri gibi in vitro testlerden elde edilmekte ve farmakokinetik ölçümleri de içeren hayvan enfeksiyon modelleri ve insan enfeksiyonlarından saptanmaktadır. İlk adımda, antifungallerin klinik izolatlarla karşı konsantrasyon-etki özelliklerinin belirlenmesi için in vitro çalışmalar yapılmaktadır. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ya da MİK'in biraz üzerindeki konsantrasyon seviyelerinde en büyük etkiyi sergileyen dik bir konsantrasyon-yanıt eğrisine sahip ilaçlar için genellikle konsantrasyondan bağımsız (concentration-independent) aktiviteden söz edilmektedir. Tersine, MİK üzerindeki konsantrasyonlarda antifungal aktivitede artış gösteren, nispeten daha geniş bir konsantrasyon-yanıt eğrisine sahip antifungaller için genel olarak konsantrasyon ilişkili (concentration-dependent) farmakodinamik aktiviteden söz edilmektedir (82).

Bazı ilaçlar için, başlangıçtaki bir ilaç maruziyetinin ardından uzamış bir üreme inhibisyon periyodu bulunmaktadır, bu periyod “postantifungal etki (PAFE)” olarak isimlendirilir (83). PAFE klinik olarak antifungal ajanların doz rejimlerinin düzenlenmesi ile ilişkilidir. Uzun bir PAFE'ye sahip olan ilaçlar daha az sıklıkla verilebilmekteyken, PAFE'si kısa antifungallerin daha sık aralıklarla verilmesi gerekebilmektedir (84).

Triazoller, polyenler, flusitozin ve ekinokandinlerin *Candida* türlerine karşı farmakodinamik aktivitelerini belirlemede birçok in vitro, hayvan ve klinik çalışmaların yardımı olmuştur. Tek bir antifungalın farmakodinamik özelliklerini belirlemek için kullanılmış olan ilkeler, kombinasyon tedavileri ile ilgili daha karmaşık ilişkileri değerlendirmek için de kullanılmaya başlanmıştır (83).

Mevcut triazol antifungallerin tümü ile *Candida* spp. için in vivo ve in vitro farmakodinamik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, triazollerin 1-2x MİK konsantrasyonlarında *Candida* üremesini en fazla inhibe ettiğini ve ilacın uzaklaştırılmasından hemen sonra tekrar üreyebildiğini göstermiştir. Ancak in vivo konsantrasyon ilişkili uzamış PAFE gözlenmiştir (82, 83). Yakın zamanda geliştirilmiş bir triazol olan VOR ile ilgili farmakodinamik veriler sınırlıdır (85).

Çeşitli maya ve küf mantarları ile yapılan *time-kill* çalışmalarında, AMB'nin 2-10 kat MİK seviyelerinde konsantrasyon ilişkili fungusidal etki gösterdiği ve ilacın uzaklaştırılmasına rağmen kalıcı ve uzamış PAFE sergilediği gösterilmiştir. İn vivo çalışmalarda da birkaç *Candida* türüne karşı AMB ve lipit preparatlarının konsantrasyon artışı ile fungusidal etki hızı ve genişliğinin arttığı ve maksimum etkinin 4-10x MİK konsantrasyonlarında gözlemlendiği bildirilmiştir (82, 83, 85). Benzer şekilde ekinokandinler de doz ilişkili fungusidal etki ve uzamış PAFE göstermektedir ve in vivo çalışmalarla bu veriler doğrulanmıştır (83).

2.11. Antifungallere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları

Antifungal İlaçlara Direnç

Son yıllarda yaygın antifungal ilaç kullanımı ile birlikte antifungal direnç sorunu da gündeme gelmeye başlamıştır. AMB direncinin genellikle membran sterollerindeki değişikliklerle ve sıklıkla da ergosterolde azalmayla ilişkili olduğu; sonuçta AMB'nin membrana bağlanmasında azalma meydana geldiği bildirilmektedir (30). Azol direncinde ise birçok mekanizmadan bahsedilmektedir; i) azollerin hücre içine alınmasının azalması ya da ilaç pompa sistemleri ile dışarı atılmasında artma sonucu hücre içi ilaç konsantrasyonunun azalması, ii) 14- α -demetilaz enzim sentezinin artması sonucu ilacın yetersiz kalması ya da bu enzimde yapısal değişiklik sonucu ilaç bağlanmasının bozulması, iii) ergosterol sentez basamaklarında meydana gelen değişikliklerle, 14- α -demetilaz öncesinde biyosentez yolunun değiştirilmesi sayılabilir. Ekinokandinler klinik kullanıma yeni girdiklerinden direnç durumları ile ilgili çok fazla

bilgi bulunmamakla birlikte, glukan sentetaz enzimine azalmış aktiviteden söz edilmektedir (30, 71, 72).

2.12. Antifungal Duyarlılık Testleri

Son 20 yıl içinde konak faktörlerinde, enfeksiyon nedeni olan mantar spektrumunda ve kullanılan antifungallerde dikkat çekici değişiklikler meydana gelmiştir; i) belirgin immünsüpresyonu olan hasta sayısındaki artış ile birlikte bu hastaları etkileyen invaziv fungal enfeksiyonların sıklığı ve mortalitesinde artış, ii) yeni antifungal ilaçların geliştirilmesi, iii) antifungal direncin ortaya çıkması. Bu nedenle iyi bir klinik sonuç elde etmek için standart in vitro antifungal duyarlılık testlerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır (86).

Şu anda mevcut olan referans yöntemler, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute; eskiden NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards) tarafından maya (CLSI M27-A2) (81) ve küfler (CLSI M38-A) (82) için geliştirilen mikrodilüsyon yöntemi, mayalar için geliştirilen disk difüzyon yöntemi (CLSI M44-A) (83) ile European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) tarafından CLSI yöntemi modifiye edilerek mayalar için geliştirilen mikrodilüsyon yöntemidir (EUCAST E.Dis 7.1) (84). Referans mikrodilüsyon yöntemlerinin uygulaması oldukça zahmetlidir ve sonuçlar uzun sürede (genellikle 48 saat) alınabilir. Ayrıca bazı *Candida* türleri ve azoller için MİK sonuçlarının okunması sıkıntılıdır. Bu nedenle antifungal duyarlılık testleri ile ilgili çalışmalar daha hızlı ve/veya pratik yöntem arayışlarına ve bu alandaki çalışmalara odaklanmıştır. Ticari olarak geliştirilen epsilometer test (Etest) (AB BioDisk) ve Sensititre Yeast One (TREK Diagnostic Systems) gibi sistemler ile genelde iyi düzeyde uyum oranları elde edildiği bildirilmektedir (86). Tetrazolyum tuzunun (XTT) indirgenmesi esasına dayanan ve bir kolorimetrik metabolik test olan XTT testi ise henüz araştırma aşamasındadır. Flow sitometre ve ergosterol miktarının tayini, antifungal ilaçlara duyarlılığın belirlenmesi için araştırılan diğer yöntemlerdir, saatler içerisinde ve referans yöntemler ile genellikle iyi düzeyde korelasyon gösteren sonuçlar elde edilmiştir. Ancak, özel donanım gerektirmesi nedeniyle, yaygın kullanımı olası gözükmemektedir (87).

2.12.1. Buyyon Dilüsyon Testleri

Mayalar için uygun şekilde tasarlanmış ve standardize edilmiş ilk antifungal duyarlılık yöntemi CLSI tarafından geliştirilen bir buyyon makrodilüsyon (sıvı makrodilüsyon) testidir. Ancak çok sayıda izolatin test edilmesi için pratik olmadığından, daha sonra geliştirilen mikropak ile mikrodilüsyon formatı daha çok kabul görmüştür. Sıvı mikrodilüsyon yönteminin EUCAST tarafından, sonuçların bir mikropak okuyucu ile 24 saat sonra değerlendirilmesine dayalı bir modifikasyonu geliştirilmiştir (84).

CLSI bu yöntemlerde, besiyeri olarak MOPS [3-(N-morpholino) propanesulfonic acid] ile tamponlanmış RPMI 1640 buyyon, spektrofotometrik olarak hazırlanmış $0.5-2.5 \times 10^3$ CFU/ml son konsantrasyonunda maya süspansiyonu ve 35 °C’de 48 saatlik inkübasyon süresi önermektedir (81). Sonuçlar görsel olarak değerlendirilir; 48 saatte AMB için üremenin tamamen inhibe edildiği ilk kuyucuk, azol antifungaller için ise üremede %80’lik (makrodilüsyon) ya da en azından %50’lik (mikrodilüsyon) azalmanın gözlemlendiği ilk kuyucuk, ekinokandinler için de 24 saatte en azından %50’lik azalmanın gözlemlendiği ilk kuyucuk MİK değeri olarak tanımlanmaktadır (81).

2.12.2. Epsilometer Test (Etest)

Azalan dilüsyonlarda antifungal ajanın emdirildiği plastik bir şeritin, test edilecek mikroorganizmanın yayıldığı agar plağı yüzeyine yerleştirilmesi ve antifungalın besiyerine diffüze olmasına dayanan bir testtir. Agar yüzeyinde üreme inhibisyon zonu ile antifungal emdirilmiş şeritin kesiştiği noktadan MİK saptanabilir. Hem küf hem de mayalar için kullanışlı bir yöntemdir. Güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği yüksek ve referans mikrodilüsyon testleri ile de uyumlu bulunmuştur (86, 88). AMB, FLU, itrakonazol, flusitozin, VOR, posakonazol ve CAS için Etest şeritleri ticari olarak bulunmaktadır. En önemli avantajı uygulama kolaylığı ve Etest için kullanılan besiyerinden etkilenmemesidir. Sıklıkla kullanılan besiyeri %2 glukoz içeren RPMI 1640 agardır (85).

2.12.3. Disk Difüzyon Testi

FLU ve VOR gibi antifungal ajanlar için oldukça kullanışlı ve basit bir yöntemdir ve CLSI tarafından *Candida* türlerinin bazı antifungallere duyarlılığını değerlendirmek için standardize edilmiştir (89). FLU, VOR ve CAS için duyarlılık sınır

değerleri de belirlenmiştir (88). Yöntem bakteriler için yaygın olarak kullanılan Kirby-Bauer disk difüzyon testine benzer ve test besiyeri olarak glukoz ve metilen mavisi eklenmiş Mueller-Hinton agar (GM-MHA) önerilmektedir (85, 88, 89). Test için, 0.5 McFarland bulanıklıkta maya süspansiyonu ve 35 °C’de 24 saatlik bir inkübasyon süresi önerilmektedir. Sonuçlar görsel olarak, üremede %80’lik inhibisyonun olduğu noktada değerlendirilir (88). Testin üstünlüğü, kolay yapılması, ucuz olması ve nispeten daha kısa sürede sonuç alınabilmesidir.

2.12.4. Time-kill Testi

Time-kill testleri fungusidal aktivitenin hızı ve genişliği, farmakodinamik özellikleri (konsantrasyon ve etki arasındaki ilişki, PAFE), kombinasyon çalışmalarında ilaçlar arasındaki sinerji ve antagonizma hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır (90). Bu yöntemde standart maya süspansiyonu antifungalin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılır ve belirli zaman aralıklarında besiyerine pasaj yapılır. Her zaman aralığı için canlı kalan hücreler sayılabilir ve test edilen her ilaç konsantrasyonu için, ilacın zaman içinde izolat üzerine etkisini gösteren öldürme-zaman eğrisi ve PAFE eğrisi elde edilebilir.

Bu yöntemde $1-5 \times 10^5$ CFU/ml yoğunlukta maya süspansiyonu, test besiyeri olarak RPMI 1640 medium, çalkalamalı inkübatör ve başlangıç inokülümüne göre $\geq 99.9\%$ ya da 3-log₁₀’luk bir azalma kriteri test parametreleri olarak kullanılmaktadır (86). Çeşitli antifungal ajanlarla mayalara karşı çalışılmıştır ve *Candida* spp. için standardizasyonun mümkün olduğu düşünülmektedir. Ancak *Aspergillus* spp. gibi filamantöz mantarlar için homojen olmayan bir üreme özelliği gösterdikleri ve koloni değerlendirmesi zor olduğu için sınırlı sayıda çalışma mevcuttur ve daha fazla çalışmaya gereksinim vardır (86).

2.12.5. İn vitro Antimikrobiyal İlişkilerin Saptanması

İnvaziv fungal enfeksiyonların tedavisinde antifungal kombinasyonların kullanımına yönelik in vivo ve in vitro çalışmalara yoğun ilgiye rağmen, antifungal ilaç ilişkilerini değerlendirmek için standardize edilmiş bir yöntem bulunmamaktadır. Bu amaçla en yaygın kullanılan *checkerboard* (dama tahtası) yöntemidir ve fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksin (FİKİ) değerlendirilmesine dayanır (85, 88). FİKİ, ilacın kombinasyondaki MİK değerinin tek başına test edildiğinde saptanan MİK

değerine bölünmesi ile elde edilen her bir ilacın FİK'lerinin toplamıdır ($FİKİ = FİK A + FİK B$). Ancak bu yöntemde kombinasyonların farmakodinamik özellikleri hakkında bilgi edinilemez. Test besiyeri, inokülüm ve inkübasyon süresi gibi özellikler standart mikrodilüsyon testi ile aynıdır. Mikroplakta X eksen boyunca A ilacının iki katlık konsantrasyonlarından her biri ve Y eksen boyunca da B ilacının iki katlık konsantrasyonlarından her biri olacak şekilde düzenlenir. Dolayısıyla, *checkerboard* içinde her bir ilacın bütün konsantrasyonları kombine edilmiş olacaktır. FİKİ 0.6'dan daha düşükse sinerji, 1'den daha büyükse antagonizma ve 0.6-0.9 arasındaki değerler etkisiz (*indifferent*) olarak değerlendirilmektedir (88). Sinerji pozitif bir ilişkidir ve ilaçlar ayrı olarak test edildiklerinde elde edilen etkilerinin toplamından daha fazla bir etkinlik oluştururlar. Antagonizma negatif bir ilişkidir ve ilaçlar ayrı ayrı test edildiklerinde elde edilen etkilerinin toplamından belirgin şekilde daha düşük etkinlik elde edilmektedir. Etkisizlik ise, iki ilacın kombinasyonunda oluşturdukları etkinin ayrı ayrı etkileri toplamından farksız olduğu durumdur.

Time-kill testi zor ve zahmetli bir yöntem olduğundan bu amaç için daha az sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak fungal öldürmenin hızı ve derecesi üzerine kombinasyonun etkisini ölçme avantajına sahiptir ve antimikrobiyal etkileşimin zaman içindeki dinamik davranışını ortaya koyarak kombinasyonla ilgili farmakodinamik veriler sağlar (85). Etest yöntemi de birkaç çalışmada ilaç etkileşimlerini değerlendirmek amacıyla kullanılmış ve genellikle pratik ve tekrarlanabilirliği yüksek bir yöntem olarak bildirilmiştir (88, 89).

2.13. Farnesol

Quorum sensing, mikroorganizmaların kendi aralarında anlaşmak için bazı moleküllerle iletişim kurmasıdır. *Vibrio fischeri*'nin sentezlediği erken dönemde biyoluminesansı indükleyen bir maddenin keşfinden sonra, bakterilerde sıkça çalışma alanı seçilen bir konu olmuştur (91).

Mayalarla ilgili benzer çalışmalarla sınırlı sayıdadır. *Candida* için öncelikle sadece *Candida albicans*'ta böyle bir düzenleyici mekanizma gösterilmiş daha sonraları da *C. tropicalis* ve son zamanlarda da *C. parapsilosis*'te çalışmalar yapılmıştır (92). Farnesolün *C. albicans* tarafından üretilmesinin bulunmasıyla ökaryotlarda ilk quorum sensing sistemi açığa çıkmıştır (4).

Bir seskuiterpen olan farnesol ayrıca doğal bir bitki metabolitidir. Deodorant, parfüm gibi kozmetik ürünlerde kalıcılığı artırmayı sağlayan antimikrobiyal bir madde olarak da kullanılmaktadır (6).

C. albicans için farnesol ve tyrosol gibi bazı bileşikler quorum sensing molekülü olarak bulunmuşlardır. Farnesolü, *C. albicans*'ın sentezlediği, hücre büyümesini engellemeden maya-misel dönüşümünü inhibe eden bir madde olarak ilk tanımlayan Hornby ve arkadaşlarıdır (2001) (4). Farnesolün çalışma mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber *C. albicans*'ı hif dönüşümü ve biyofilm oluşumunda farnesolün inhibitör etkisinden koruyan “histidin kinaz CHCK1” adı verilen bir maddenin delesyona uğraması etken olarak düşünülmektedir (91). Maya hücrelerinde biriken farnesol hem dimorfizmde hem de biyofilm oluşumunda etkilidir (CC).

C. albicans planktonik hücrelerine göre biyofilm oluşturduğunda daha fazla quorum sensing molekülü üretmekte ve salgılamaktadır. Farnesol *C. albicans*'ın oluşturduğu biyofilmin durgun kalmasını sağlamakta, olgunlaşmasını ve artmasını engellemektedir.(93)

Farnesol germ tüp oluşumunu da olumsuz etkilemekte, durdurmaktadır fakat oluşmaya başlamış germ tüplerin uzamasına etkisi olmamaktadır (94).

Scheper ve ark.'nın farnesolün insan oral sküamöz karsinoma hücrelerinin apoptosisini tetiklediğini öne süren çalışmasında; eksojen olarak verilen farnesolün karsinoma hücrelerini öldürdüğünü gözlemlemiştir (95).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. İzolatlar

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarına 2012 yılında gelen örneklerden 20 adedi alınmıştır. Bunlardan 10 tanesi hemokültür, 3 tanesi idrar, 3 tanesi BAL, 2 tanesi dren sıvısı, 1 tanesi assit sıvısı, 1 tanesi de ETA örneklerinden izole edilmiştir. Her bir hastanın yalnızca bir örneği çalışmamıza alınmıştır.

Kalite kontrol izolatu olarak *Candida parapsilosis* ATCC 22019 ve *Candida krusei* ATCC 6258 kökenleri kullanıldı.

3.2. İzolasyon

Hemokültür örnekleri için otomatize bir sistem olan BACTEC 9240 kullanıldı. Üremenin olduğunu gösteren sinyal verdiğinde hemokültür şişelerinden kanlı, çikolatamsı ve MacConkey besiyerlerine ekimi yapıldı ve gram boyama yapılmak üzere lamlara da örnekten sürüldü. Gramından maya olduğu anlaşılan örnekler takip edilerek 24 saat sonunda üremelerine bakıldı. Metilen mavisi ile de lam-lamel arası preparat hazırlanarak kolonilerin maya hücresi olduğu desteklenmiş oldu.

İdrar örneklerinin de laboratuara ulaştıklarında kromojenik agara ekimleri yapıldı, gram boyama için preparatları hazırlandı. Gram boyamada maya hücrelerinin görülmesi, 24 saatin sonunda beyaz ve mat kolonilerin oluşmuş olması ve metilen mavisi ile bu kolonilerden hazırlanan lam-lamel arası preparatlarda mayaların görülmesiyle desteklenmiş oldu.

Diğer vücut sıvıları ise kanlı, çikolatamsı ve MacConkey besiyerlerine ekildi, gram boyama preparatları hazırlandı. Maya üremesi olan örnekler çalışmaya alındı.

3.3. Tür Tayini

İzole edilen kökenler, çalışılana kadar ependorflarda %15 gliserinli buyyonda - 20°C'de saklandı. Çalışmaya başlarken SDA'ya pasajları alındı, 24 saat sonra saf kolonilerden bir kez daha SDA'ya pasaj alınarak iki kez subkültürü yapılmış örnekler kullanıldı.

Germ Tüp Testi (Çimlenme Borusu Deneyi): 1 ml insan serumuna SDA'daki 2-3 koloni eklenip karıştırıldı ve 37°C'de inkübe edildi, 2,5 saat sonra lama bir öze yardımıyla sürülerek üzerine lamel kapatıldı. 40X objektifle bakıldı, maya hücresinden (blastospordan) köken alan, başlangıcında boğumlanma ve tamamında belirgin bir kabarıklık olmayan uzantılar oluşturan kökenler için germ tüp testi pozitif denildi ve türleri *Candida albicans* olarak belirlendi (16).

Mısır Unlu Tween 80 Agara Ekim: 1 litre distile suya 17 gr toz halindeki Mısır Unlu Agar (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Hindistan) eklendi. Üzerine 6 ml Tween 80 (Merck KGaA Darmstadt, Almanya) eklendi, steril edildi (Otoklavda 121°C'de 15 dakika). 55-60°C'ye kadar soğuduktan sonra petri kaplarına dağıtıldı.

SDA'da oluşan 1-2 maya kolonisi öze yardımıyla alınarak besiyerine üç paralel bir de onları kesen bir çizgi olacak şekilde ekim yapıldı ve üzerlerine lamel kapatılarak 25°C'de inkübe edildi. 72 saat sonunda besiyeri plağı 40X'lik objektifin altına yerleştirilerek morfolojileri incelendi, hif özellikleri incelendi ve kökenin *Candida albicans* olduğunu destekleyen klamidospore oluşumu gözlemlendi.

CHROMAgar™ Candida: Besiyerini hazırlamak için 47,7 gr toz besiyeri tartılarak 1 lt distile suya eklendi, steril edildi (Otoklavda 121°C'de 15 dakika). 55-60°C'ye kadar soğuduktan sonra petri kaplarına dağıtıldı.

Çalışılacak kökenler bu besiyerine ekilip 48 saat sonraki renk değişimlerine göre değerlendirildi. *Candida albicans*'in yeşil, *Candida tropicalis*'in mavi, *Candida parapsilosis*'in uçuk pembe koloniler oluşturduğu gözlemlendi.

API Candida: *Candida albicans* olduğu germ tüp, klamidospore ve CHROMAgar™ Candida (Paris, Fransa) ile yeşil renkli koloniler oluşturmalarıyla belirlenen kökenler dışındakilerin tür tayini için kullanıldı.

API Candida (BioMérieux SA, Fransa), 10 kuyucuğu olan ve *Candida*'ları 12 biyokimyasal özelliğine göre renk değiştirmesiyle tanımlayan ticari bir kittir. Kitlerin kendi solüsyonları içerisine tür tayini yapılacak mayaların SDA'da üremiş kolonilerinden 3 McFarland bulanıklığı sağlanacak şekilde eklendi ve kuyucuklara taşmayacak şekilde eklendi. Üzerleri mineral yağ ile kapatıldı. 24 saat 37°C'de inkübe edildi. Renk değişimlerine göre değerlendirildi.

Tablo 1. API Okuma Şablonu

Testler	Aktif içeriği	Reaksiyonlar/ Enzimlar	Sonuçlar	
			Negatif	Pozitif
1. GLU	D-glukoz	Asidifikasyon (GLUkoz)	Mor Gri-mor	Sarı Yeşil/sarı
2. GAL	D-galaktoz	Asidifikasyon (GALaktoz)		
3. SAC	D-sakkaroz	Asidifikasyon (SACcarose)		
4. TRE	D-trehaloz	Asidifikasyon (TREhaloz)		
5. RAF	D-rafinoz	Asidifikasyon (RAFinoz)		
6. β MAL	4-nitrofenil- β D-maltopyranoside	β -MALtosidaz	renksiz	Uçuk sarı- parlak sarı
7. α AMY	2-chloro-4-nitrophenyl- α D-maltotrioside	A-AMylase	renksiz	Uçuk sarı- parlak sarı
8. β XYL	4- nitrophenyl - β D-xylopyranoside	β XYLosidase	Renksiz-çok uçuk sarı/mavi/yeşil**	Uçuk sarı- parlak sarı
9. β GUR	4- nitrophenyl - β D-glucuronide	B-GIUcuRonidase	Renksiz/mavi/yeşil	Uçuk sarı- parlak sarı
10. URE	üre	ÜREaz	Sarı-açık turuncu	Kırmızı
11. β NAG (8. kuyucukta)*	5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-N-acetyl- β D-glucosaminide	N-Acetyl- β -Glucosaminidase	Renksiz/sarı	Mavi/yeşil**
12. β GAL (9. kuyucukta)*	5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- β D-galactopyranoside	B-GALactosidase	Renksiz/sarı	Mavi/yeşil

* 8. ve 9. kuyucuklar çift özellik gösterirler.

** 8. kuyucuk renginde eser miktarda da olsa değişiklik varsa; β XYL(-) ve β NAG (+).

Şekil 1. Negatif Kontrol



Şekil 2. API Candida'nın Türlerine Göre Görünümü

Candida albicans



Candida parapsilosis



Candida glabrata



Candida tropicalis



3.4. Antifungal Duyarlılık Testi

İzolatların antifungal duyarlılığı; CLSI'nin M27-A3 dökümanına göre broth mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır (81).

3.4.1. RPMI 1640 Besiyerinin Hazırlanması

Buyyon mikrodilüsyon testi için RPMI 1640 besiyeri (Biological Industries Israel Beit Haemek Ltd. İsrail) kullanıldı. 950 ml distile suyun içerisine 10,4 gr toz halindeki RPMI 1640 besiyeri eklendi ve çözülmesi sağlandı daha sonra 34,53 gr 0,165 M MOPS (3-N-morfolinopropanesulfonic acid) (Wisent Inc. Multicell, Kanada, ABD)

ile tamponlandı. pH'ını ayarlamak için 5 ml 10 N NaOH (1 lt için yaklaşık 5 ml distile suya 2 gr NaOH eklenerek elde edildi) eklendi. Toplam hacim 1 litreye tamamlandı. pHmetre ile pH'ı 6,9-7,0'ye ayarlandı. Enjektör filtreleri (Sartorius) yardımıyla süzülerek 50 ml'lik vida kapaklı tüplere dağıtıldı ve kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklandı.

3.4.2. Antifungal Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

Antifungal etken madde olarak Amfoterisin B (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, ABD), Flukonazol (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, ABD) ve Vorikonazol (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, ABD) kullanıldı.

Kullanılacak ilaç miktarları CLSI'de anlatıldığı gibi;

$$\text{Ağırlık (mg)} = \frac{\text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon (}\mu\text{g/ml)}}{\text{Potens (}\mu\text{g/mg)}}$$

formülüne göre hesaplandı (81).

Amfoterisin B (AMB) için;

Potensi %80 (100 mg'da 80 mg; 1 mg'da 800 μ g; potens= 800 μ g/ml) olan antifungal maddenin stok çözeltisinin konsantrasyonunu 1600 μ g/ml olarak ayarlamak için 50 ml'lik DMSO ile çözündürülmesi gereken miktar;

$$\text{Ağırlık} = (50 \times 1600) / 800 = 100 \text{ mg} = 0,1 \text{ g olarak bulunur.}$$

Flukonazol (FLU) için;

Potensi %100 (100 mg'da 100 mg; 1 mg'da 1000 μ g; potens= 1000 μ g/ml) olan maddenin stok çözeltisinin konsantrasyonunu 5120 olarak ayarlamak için 50 ml'lik distile su ile çözündürülmesi gereken miktar;

$$\text{Ağırlık} = (50 \times 5120) / 1000 = 256 \text{ mg} = 0,256 \text{ g olarak hesaplanır.}$$

Vorikonazol (VOR) için;

Potensi %100 (100 mg'da 100 mg; 1 mg'da 1000 μ g; potens= 1000 μ g/ml) olan etken maddenin stok çözeltisinin konsantrasyonunu 1600 olarak ayarlamak için 50 ml'lik DMSO ile çözündürülmesi gereken miktar;

$$\text{Ağırlık} = (50 \times 1600) / 1000 = 80 \text{ mg} = 0,08 \text{ g olarak hesaplanır.}$$

Her bir stok çözelti ependorflara 1'er ml olacak şekilde dağıtıldı. Çalışma aşamasına kadar -70 °C'de saklandı.

3.4.3. Farnesolün Hazırlanması

Edinilen farnesol (Sigma Aldrich Co. LLC. Kanada, ABD) etken maddesinin konsantrasyonunun 4 M olduğu hesaplandı. Önce metanol ile 1/50 oranında sonra RPMI 1640 besiyeri ile 1/20, toplamda 1/1000 oranında dilüe edildi. En son da 2400 µM'lık konsantrasyonu elde etmek için yine RPMI 1640 ile %60 oranında seyreltilti.

Her bir çalışma sırasında bekleme esnasında bozulma ihtimaline karşı yeniden hazırlanmıştır.

3.4.4. Mikroplakların Hazırlanması

Mikrodilüsyon için 96 kuyucuklu U tabanlı mikroplaklar kullanıldı. 2.-10. kuyucuklara mikropipet yardımıyla 100'er µl RPMI 1640 dağıtıldı. İlk kuyucuklarda en yoğun antifungal konsantrasyonuna sahip olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı. Amfoterisin B ve Vorikonazol için 196 µl RPMI 1640 içerisine 4 µl antifungal ajanlardan, Flukonazol içinse 195 µl RPMI 1640 besiyeri içerisine 5 µl antifungal konuldu ve mikropipet yardımıyla ilaçların besiyeri içerisinde homojenizasyonu sağlandı. Farnesol içinse hazırlanan 2400 µM'lık stok çözeltiden 200 µl konuldu. İkinci kuyucuktan onbirinci kuyucuğa kadar 100'er µl RPMI 1640 konuldu. Daha sonra ilk kuyucuktan başlayarak 100 µl alınarak bir sonraki kuyucuğa aktarıldı, homojen hale getirildi (pipetaj ile) ve en son onuncu kuyucuktan alınan 100 µl atıldı. Böylece konsantrasyonları AMB ve VOR için 32-0,06 µg/ml, FLU için 128-0,25 µg/ml, Farnesol içinse 2400-5 µg/ml (2X) olacak şekilde hazırlanmış oldu. 11. kuyucuk üreme kontrolü olarak belirlendi, ilaç eklenmedi, onikinci kuyucuğa ise sterilit kontrolü olarak sadece 200 µl RPMI 1640 konuldu.

3.4.5. Maya Süspansiyonunun Hazırlanması ve Eklenmesi

İzole edilen Candida suşları çalışmadan bir gün önce pasajlanarak SDA'da 24 saatte oluşan kolonilerden çalışıldı. Steril serofizyolojik içerisine birkaç koloni eklenerek 0,5 McFarland bulanıklığında ($1-5 \times 10^6$ hücre/ml) solüsyon elde edildi. Önce 4,75 ml'lik RPMI 1640 içerisine bu solüsyondan 0,25 ml (1/20 seyreltme) daha sonra da

4,9 ml RPMI 1640 içerisine 0,1 ml (1/50) bu seyreltilmiş solüsyondan eklenerek toplamda 1/1000 seyreltme sağlandı ($1-5 \times 10^3$ hücre/ml).

Mikroplaklara her bir sırada bulunan 100 µl 2X konsantrasyondaki ilaçların üzerine 100 µl maya süspansiyonu eklenmiştir. Böylelikle ilaçlar 1X konsantrasyonlarına ulaşmışlardır (AMB ve VOR için 16-0,03 µg/ml, FLU için 64-0,125 µg/ml, Farnesol içinse 1200-2,5 µg/ml). Maya süspansiyonundaki hücre sayısı da yarıya düşmüştür ($0,5-2,5 \times 10^3$ hücre/ml).

Mikroplaklar besiyerinde ısı etkisiyle buharlaşma olmaması için parafilm ve Amfoterisin B'nin ışıktan etkilenmemesi için alüminyum folyoya sarılarak 37°C'de 48 saat inkübe edildi ve ayna yardımıyla değerlendirildi.

3.4.6. Kombinasyonlarda Mikroplakların Hazırlanması

Kombinasyonlar içinse her bir suş için 3 mikroplak kullanıldı. İlk altı yatay sıraya 4X'lik azalan konsantrasyonlarda 50'şer µl antifungal konuldu (Son konsantrasyonları AMB ve VOR için (16-0,03), FLU için 64-0,125 µM olacak şekilde). 7. sıraya aynı antifungalın 2X'lik azalan konsantrasyonlarında 100'er µl antifungal konuldu. Sekizinci sıraya da farnesolden son konsantrasyonları 1600, 800, 500, 300, 100 ve 50 µM olacak şekilde sadece altı kuyucuğa eklendi.

11. dikey sıra üreme kontrolü olarak belirlendi ve 100 µl besiyeri konuldu.

12. sütun ise sterilit kontrolü olarak belirlendi ve sadece 200 µl besiyeri konuldu.

12. dikey sıra hariç tüm kuyucuklara bir önceki bölümde anlatıldığı gibi hazırlanan 100'er µl maya süspansiyonu eklendi.

Son olarak farnesolün 4X'lik konsantrasyonları, ilk altı yatay sıraya (1. sıraya son konsantrasyonları 1600, 2.'ye 800, 3.'ye 500, 4.'ye 300, 5.'ye 100, 6. ya 50 olacak şekilde) çoktan aza doğru olacak şekilde 50'şer µl eklendi. Böylece her bir kuyucuktaki içerik 200 µl'ye tamamlandı. 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirildi.

	16, FLU için 64)	FLU için 32)	FLU için 16)	FLU için 8)	FLU için 4)	0,5, FLU için 2)	100 µl maya süspansiyonu 50 µl farnesol (son kns. 300)	için 0,5) 100 µl maya süspansiyonu 50 µl farnesol (son kns. 300)	100 µl maya süspansiyonu 50 µl farnesol (son kns. 300)	0,125) 100 µl maya süspansiyonu 50 µl farnesol (son kns. 300)	1640 100 µl maya süspansiyonu	1640
E	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 16, FLU için 64)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 8, FLU için 32)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 4, FLU için 16)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 2, FLU için 8)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 1, FLU için 4)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,5, FLU için 2)	100 µl maya süspansiyonu 50 µl farnesol (son kns. 100)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,125, FLU için 0,5)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,06, FLU için 0,25)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,03, FLU için 0,125)	100 µl RPMI 1640 100 µl maya süspansiyonu	200 µl RPMI 1640
F	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 16, FLU için 64)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 8, FLU için 32)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 4, FLU için 16)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 2, FLU için 8)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 1, FLU için 4)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,5, FLU için 2)	100 µl maya süspansiyonu 50 µl farnesol (son kns. 50)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,125, FLU için 0,5)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,06, FLU için 0,25)	50 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,03, FLU için 0,125)	100 µl RPMI 1640 100 µl maya süspansiyonu	200 µl RPMI 1640
G	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 16, FLU için 64)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 8, FLU için 32)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 4, FLU için 16)	1000 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 2, FLU için 8)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 1, FLU için 4)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,5, FLU için 2)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,25, FLU için 1)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,125, FLU için 0,5)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,06, FLU için 0,25)	100 µl AF (son kons. AMB ve VOR için 0,03, FLU için 0,125)	100 µl RPMI 1640 100 µl maya süspansiyonu	200 µl RPMI 1640 200 µl RPMI 1640

H	100 µl Farnesol (son kons. 1600)	100 µl Farnesol (son kons. 800)	100 µl Farnesol (son kons. 500)	100 µl Farnesol (son kons. 300)	100 µl Farnesol (son kons. 100)	100 µl Farnesol (son kons. 50)	-	-	-	-	100 µl RPMI 1640	200 µl RPMI 1640
	100 µl maya süspansiyon u	100 µl maya süspansiyon u	100 µl maya süspansiyon u	100 µl maya süspansiyon u	100 µl maya süspansiyon u	100 µl maya süspansiyon u					100 µl maya süspansiyon u	

AF: Antifungal

3.4.7. Sonuçların Değerlendirilmesi

48 saatin sonunda Amfoterisin B için üremenin hiç olmadığı kuyucuk, Flukonazol ve Vorikonazol içinse üremenin belirgin olarak azaldığı (%50-80 inhibisyon) kuyucuklardaki konsantrasyonlar MİK olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

20 örneğin 10'u *Candida albicans*, 6'sı *C. parapsilosis* 3'ü *C. glabrata* ve 1 tanesi de *C. tropicalis* olarak seçilmiştir. 10 tanesi hemokültür, 3 tanesi idrar, 3 tanesi BAL, 2 tanesi dren sıvısı, 1 tanesi assit sıvısı, 1 tanesi de ETA örneklerinden izole edilmiştir. Hemokültür örneklerinin 5 tanesi *C. albicans*, 4 tanesi *C. parapsilosis*, 1 tanesi de *C. glabrata* olarak; idrar örneklerinin 2 tanesi *C. glabrata*, 1 tanesi *C. albicans* olarak; BAL örneklerinin 2 tanesi *C. parapsilosis*, 1 tanesi *C. albicans* olarak; 2 dren sıvısı örneğinin 2'si de *C. albicans* olarak; assit sıvısı örneği *C. albicans* olarak; ETA örneği ise *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda, 20 *Candida* türünün, azollerden olan Flukonazol, Vorikonazol ve polyenlerden olan Amfoterisin B ve onlara adjuvan olarak eklenebileceği düşünülen farnesol maddesinin tek başlarına ve antifungallerin farnesolle kombinasyonlarının MİK değerleri araştırılmıştır.

Bu çalışmada, mayaların tür tayini öncelikli olarak klasik yöntemlerle (germ tüp, mısır unlu Tween 80 agarda klamidospore oluşumu gibi), daha sonra da API ile yapılmış, daha sonra da antifungal duyarlılıkları araştırılmıştır.

4.1. Antifungal Duyarlılık Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tüm izolatların MİK değerleri AMB için 0,5-2 µg/ml, VOR için <0,03-0,5 µg/ml arasında, FLU için 0,125-4 µg/ml, FAR için ise 150->1200 µg /ml arasındadır.

10 *Candida albicans* suşunun;

AMB için MİK değerleri 0,5-2 µg/ml arasında değişmektedir. 8 tanesinin MİK değeri 1 µg/ml olarak bulunurken, 1 tanesinin MİK değeri 0,5 µg/ml, 1 tanesinin de 2 µg/ml olarak bulunmuştur (MİK₅₀=MİK₉₀=1 µg/ml).

VOR için MİK değerleri, <0,03 ile 0,25 arasında değişmektedir. 2 tanesinin MİK değeri 0,03 µg/ml'den düşüktür. 3 tanesinin MİK değeri 0,03 µg/ml, 3 tanesinin 0,06, 1 tanesinin 0,125, 1 tanesinin de 0,25 olarak bulunmuştur.

FLU için MİK değerleri, 0,125-1 arasında değişiklik göstermiştir. 6 tanesinin MİK'i 0,25 µg/ml, 3 tanesinin 0,125 µg/ml ve 1 tanesinin de 1 µg/ml olarak saptanmıştır.

FAR için MİK değerleri 150-1200 arasında bulunmuştur. 1 tanesinin MİK değeri 1200 µg/ml'den büyük olarak bulunmuştur. 5 tanesinin MİK değeri 600 µg/ml, 3 tanesinin 1200 ve 1 tanesinin de 150 µg/ml olarak bulunmuştur.

6 *C. parapsilosis* suşunun;

AMB için MİK değerleri 1-2 µg/ml arasında bulunmuştur. 4 tanesinin MİK değeri 1 µg/ml, 2 tanesinin de 2 µg/ml olarak bulunmuştur.

VOR için MİK değerleri 0,03-0,25 µg/ml arasında bulunmuştur. 3 tanesinin MİK değeri 0,03 µg/ml, 2 tanesinin 0,06 µg/ml, 1 tanesinin de 0,25 µg/ml olarak saptanmıştır. (MİK₅₀=0,03).

FLU için MİK değerleri 0,125-4 µg/ml arasındadır. 2 tanesinin MİK değeri 0,5 µg/ml, 1 tanesinin 0,125 µg/ml, 1 tanesinin 0,25 µg/ml, 1 tanesinin 1 µg/ml, 1 tanesinin de 4 µg/ml olarak bulunmuştur.

FAR için MİK değerleri 150->1200 µg/ml arasındadır. 2 tanesinin MİK değeri 1200 µg/ml'den büyük olduğu tespit edilmiştir. 2 tanesinin 1200 µg/ml, 1 tanesinin 600 µg/ml, 1 tanesinin de 150 µg/ml olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda kontrol suşu olarak kullandığımız *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşunun MİK değerleri ise; AMB için 2 µg/ml, VOR için 0,03 µg/ml, FLU için 1 µg/ml ve FAR için 600 µg/ml olarak bulunmuştur.

3 *C. glabrata* suşunun;

AMB için MİK değeri 2 µg/ml olarak bulunmuştur (MİK₅₀=MİK₉₀=2).

VOR için MİK değerleri 0,03-0,5 µg/ml arasındadır. 2 tanesinin MİK değeri 0,03 µg/ml, 1 tanesinin de 0,5 µg/ml olarak bulunmuştur.

FLU için MİK değerleri 0,5-2 µg/ml olarak bulunmuştur. 1 tanesinin 2 µg/ml, 1 tanesinin 1 µg/ml ve 1 tanesinin de 0,5 µg/ml olarak bulunmuştur.

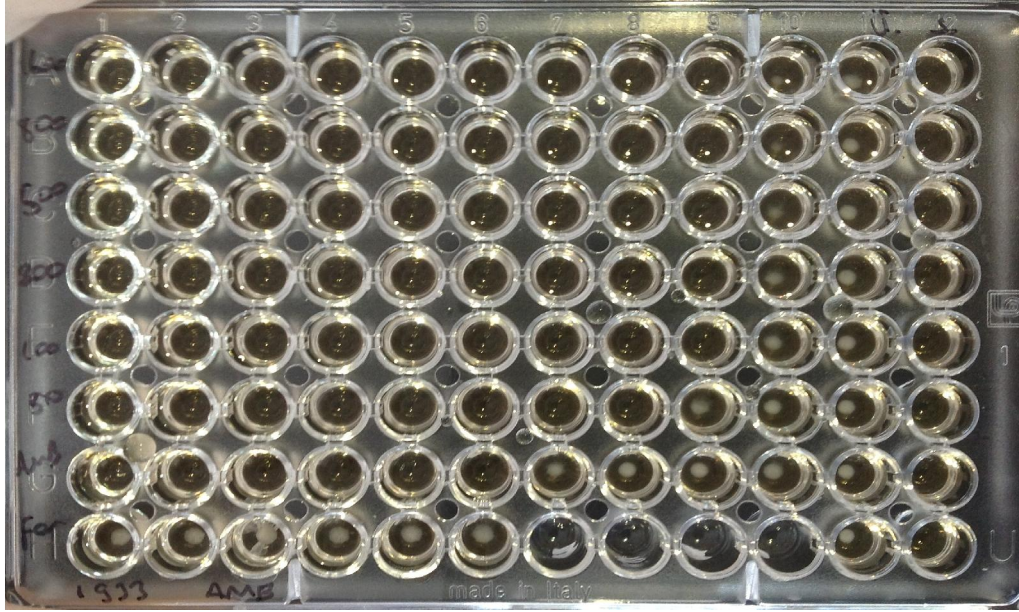
FAR için MİK değerleri 600->1200 µg/ml arasındadır. 1 tanesinin MİK değeri 1200 µg/ml'den büyük olarak bulunmuştur. 1 tanesinin MİK'İ 1200 µg/ml diğerinin de 600 µg/ml olarak bulunmuştur.

1 *C. tropicalis* suşunun;

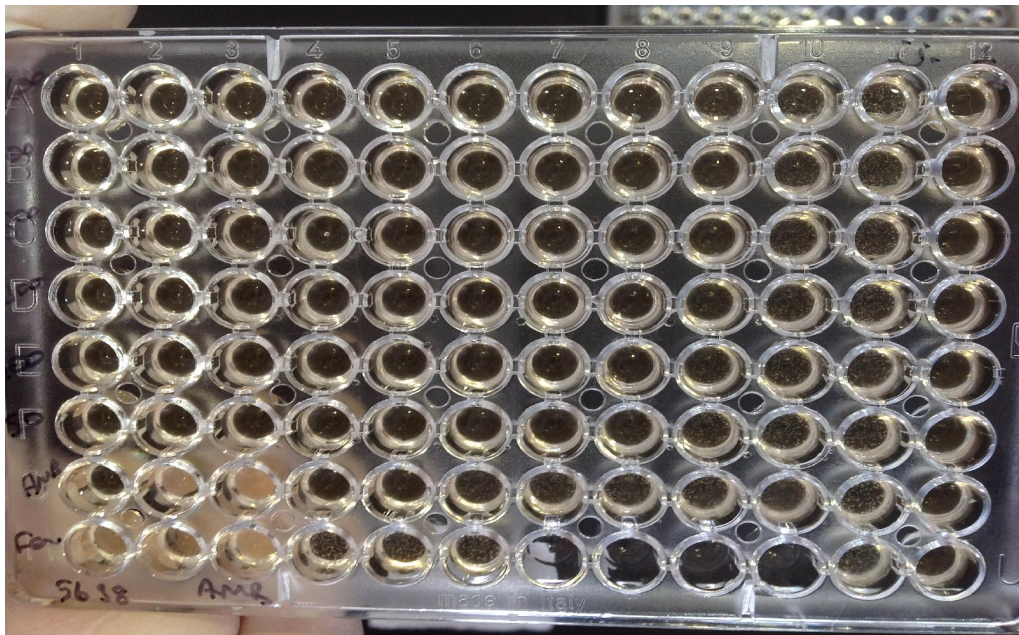
	FLU	0,5 (8.k)	0,125 (10.k)	0,125 (10.k)	0,125 (10.k)	0,125 (10.k)	0,125 (10.k)	0,125 (10.k)
	FAR	>1600						

Şekil 3. AMB ve ve farnesol kombinasyonunun mikroplak görünümüleri

C. albicans



C. parapsilosis

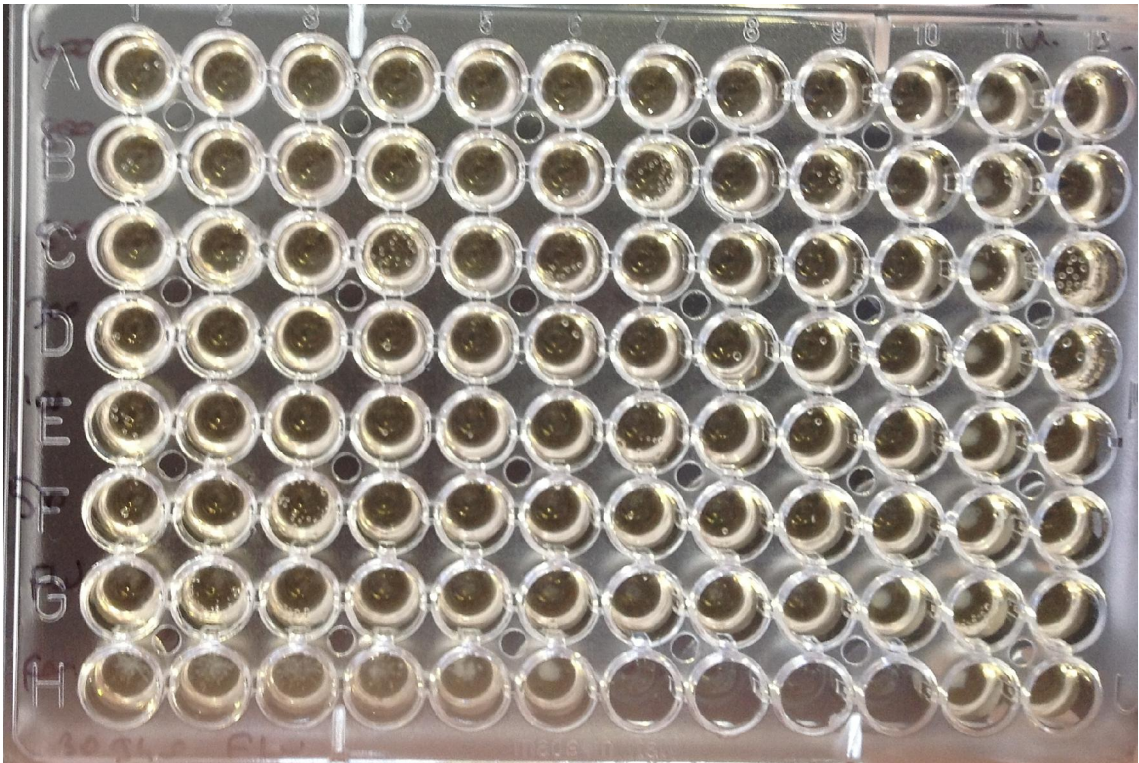


Şekil 4. FLU ve farnesol kombinasyonunun mikropalak görünümü

C. albicans

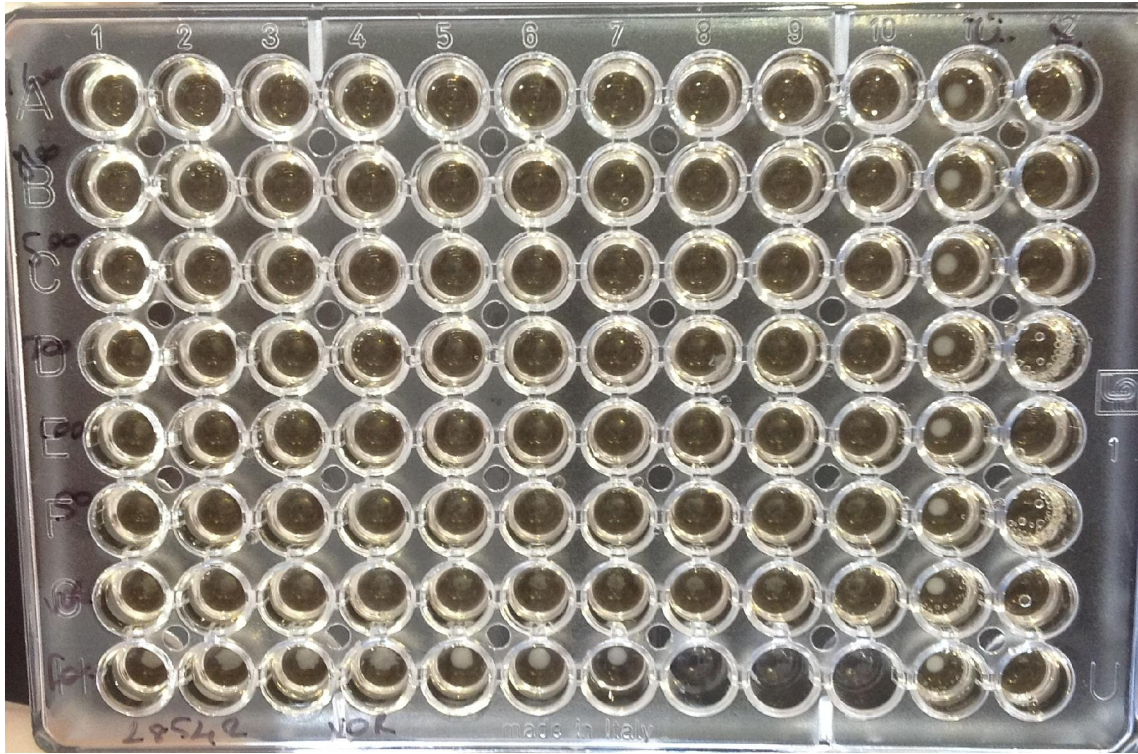


C. parapsilosis

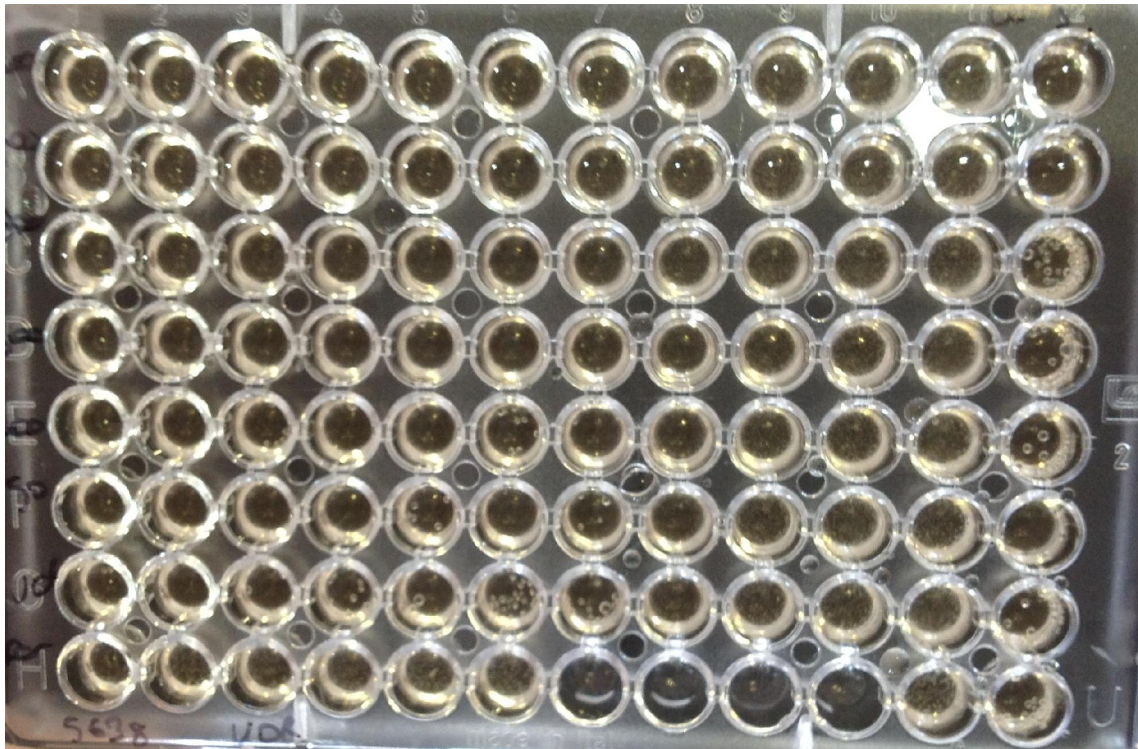


Şekil 5. VOR ve farnesol kombinasyonunun mikropalak görünümü

C. albicans



C. parapsilosis



5. TARTIŞMA

Hastalara yapılan invaziv girişimlerdeki artış, yabancı cisimlerin daha fazla kullanılması, AIDS gibi immünsüpresif hastalıkların görülme sıklığındaki artış, ileri yaşlar (96), yaygın, gereksiz ve de geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, ve organ transplantasyonları; hasta yatış sürelerinin uzamasına ve hatta mortaliteye neden olan *Candida* enfeksiyonlarına yol açmaktadır (97). Çevre ve florada da bulunmaları sebebiyle özellikle immün düşkün kişilerde sıklıkla fırsatçı patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle *Candida* enfeksiyonlarında kullanılabilecek antifungaller büyük önem arz etmektedirler (7).

Son yıllarda; hastanede bulunan *C. krusei* gibi maya enfeksiyonlarını engellemek amacıyla kullanılan flukonazol, albicans dışı *Candida* türlerinin görülme sıklığının artmasından sorumlu tutulmaktadır. Dolayısıyla sık kullanılan FLU ve AMB gibi antifungallere direnç artmakta, ekinkandinlere ve yeni azollerin kullanımına yönelinmekte ve yeni antifungallere ihtiyaç duyulmaktadır. Antifungallerin tek başlarına kullanımı olduğu gibi kombinasyon şeklinde de kullanılabileceği gündeme gelmektedir ve bunun için yapılan çalışmalar artmaktadır (98).

Candida türlerinden *C. krusei* FLU dirençli, *C. glabrata* FLU dirençli ya da duyarlı olabilmesi, *C.lusitaniae* suşlarında AMB direnciyle sık karşılaşılabilmesi de ilaç seçiminde tür tanımlamasının önemi ortaya çıkmaktadır (99).

Çalışmamızda, 20 suşun sık tercih edilen antifungallerden AMB, VOR ve FLU'ya duyarlılıklarına ve quorum sensing molekülü olan FAR maddesinin MİK değerlerine etkisini araştırıldı. Farklı türlerde duyarlılık sınırları değiştiğinden çalışılacak her bir tür için ayrı değerlendirme yapıldı.

Mikrodilüsyon yöntemi ile tüm suşlar için AMB MİK değerleri 0,5-2 µg/ml arasında bulundu. MİK₅₀ değeri 1 µg/ml iken MİK₉₀ değeri 2 µg /ml olarak bulunmuştur.

Tüm suşlar için VOR MİK değerleri <0,03-0,5 µg/ml arasında bulundu. MİK₅₀ değeri 0,03 µg /ml, MİK₉₀ değeri ise 0,25 µg /ml olarak bulundu.

Tüm suşlar için FLU MİK değerleri 0,125-4 µg/ml olarak bulundu. MİK₅₀ değeri 0,25 µg /ml, MİK₉₀ ise 2 µg /ml olarak bulundu.

Tüm suşlar için FAR MİK değerleri 150->1200 µg /ml arasında bulundu. MİK₅₀ değeri 1200 µg /ml bulunurken, MİK₉₀'ın 1200 µg /ml'den yüksek olduğu tespit edildi.

C. albicans için AMB MİK değerleri 0,5-2 µg/ml olarak bulunmuştur. MİK₅₀ ve MİK₉₀ değeri 1 µg/ml olarak bulunmuştur.

C. albicans için VOR MİK değerleri <0,03-0,5 µg/ml arasında bulundu. MİK₅₀ değeri 0,03 µg/ml, MİK₉₀ ise 0,125 olarak bulunmuştur.

C. albicans için FLU MİK değerleri, 0,125-1 µg/ml arasındadır. MİK₅₀ ve MİK₉₀'ı 0,25 µg/ml olarak bulundu.

C. albicans için FAR MİK değerleri 150-1200 µg/ml arasında bulunmuştur. MİK₅₀ 600 µg/ml, MİK₉₀ ise 1200 µg/ml olarak bulundu.

C. parapsilosis için AMB MİK değerleri 1-2 µg/ml arasında bulunmuştur. MİK₅₀ değeri 1 µg/ml ve MİK₉₀ 2 µg/ml olarak bulunmuştur.

C. parapsilosis için VOR MİK değerleri 0,03-0,25 µg/ml arasındadır. MİK₅₀ 0,03 µg/ml ve MİK₉₀ 0,25 µg/ml'dir.

C. parapsilosis için FLU MİK değerleri 0,125-4 µg/ml arasındadır. MİK₅₀ 0,125 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml olarak bulunmuştur.

C. parapsilosis FAR MİK değerleri 150->1200 µg/ml arasındadır. MİK₅₀ 1200 µg/ml olarak bulunurken, MİK₉₀ 1200 µg/ml'den büyük olarak bulunmuştur.

C. glabrata için AMB MİK değeri 2 µg/ml olarak bulunmuştur. MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 2 µg/ml'dir.

C. glabrata için VOR MİK değerleri 0,03-0,5 µg/ml arasındadır. MİK₅₀ 0,03 µg/ml ve MİK₉₀ da 0,5 µg/ml'dir.

C. glabrata için FLU MİK değerleri 0,5-2 µg/ml olarak bulunmuştur. MİK₅₀ 1 µg/ml, MİK₉₀ da 2 µg/ml'dir.

C. tropicalis için MİK değerleri AMB için 2 µg/ml, VOR için 0,06 µg/ml, FLU için 0,25 µg/ml ve FAR için 1200 µg/ml'den büyük olarak bulunmuştur.

Kontrol suşları olan *C. parapsilosis* ATCC 22019 için AMB için 2 µg/ml, VOR için 0,03 µg/ml, FLU için 1 µg/ml ve FAR için 600 µg/ml olarak; *C. krusei* ATCC 6258

için ise AMB için MİK değeri 2 µg/ml, VOR için 0,125 µg/ml, FLU için 0,5 µg/ml ve FAR için 1200 µg/ml olarak bulunmuştur.

Yapılan kombinasyon çalışmalarında tek sıraya eklenen sadece farnesolün bu kez maya üremesini inhibe etmemiştir (MİK>1600 µM). Kombinasyonlar için hazırlanan mikropoplaklara konan her altı konsantrasyondaki farnesol kuyucuğunda da üreme olmuştur.

Kombinasyonlarda ise MİK değeri 0,5 µg/ml olan *C. albicans* örnekleri için, 50 µg/ml eklenen farnesol, AMB için suşun değerini 0,125 µg/ml'ye, 100-1600 µg/ml eklenen farnesol, 0,06'ya düşürmüştür.

MİK değeri 1 µg/ml olan *C. albicans* suşları için 50 µg/ml eklenen farnesol, MİK değerini 0,5 µg/ml'ye, 100-300 µg/ml eklenen farnesol 0,125 µg/ml'ye, 600-1600 µg/ml eklenen farnesol ise 0,06 µg/ml'ye düşürmektedir.

C. parapsilosis suşları için ise MİK değeri 1 µg/ml olan suşlara eklenen 50 µg/ml farnesol MİK değerini 0,5'e, daha yüksek farnesol konsantrasyonları ise 0,25'e kadar düşürmüştür.

C. glabrata'nın AMB için MİK değeri olan 2 µg/ml olan suşlara, 50-100 µg/ml'lik farnesol eklendiğinde MİK değeri 1 µg/ml'e, 100-1600 µg/ml'lik konsantrasyonları ise 0,5 µg/ml'e düşmektedir.

Tüm suşlarda VOR ve FLU'ya eklenen farnesol konsantrasyonları MİK değerlerini değiştirmemiştir.

Sinerji veya antagonizma diyebilmek için en az 100 katlık bir artış veya azalma görülmesi beklenmektedir (92). Dolayısıyla ancak AMB için farnesolün en az 50 µg/ml eklenmesi gerekir ki hücrelerin üremesi inhibe olabilsin. Artan konsantrasyonlarda bu MİK değerinin azaldığı gözlemlenmiştir.

İki otomatize sistemin karşılaştırıldığı bir çalışmada VITEK 2 Yeast Antifungal Duyarlılık testinde 5 suş (3 *C. glabrata*, 1 *C. crusei* ve 1 *C. tropicalis*) doza bağlı duyarlı, 1 *C. glabrata* suşu dirençli bulunmuş, ATB Fungus 3 Antifungal Duyarlılık testiyle tüm suşlar AMB'ye dirençli bulunmuştur. Yine aynı çalışmada *C.lusitaniae* suşlarında artmış amfoterisin B direncinin aksine mevcut iki *C.lusitaniae* suşunda da her iki yöntem ile yapılan duyarlılık testlerinde dirence rastlanmamış (99).

Cordeiro ve ark. 45 *C. spp.* izolatını kullandıkları çalışmalarında, farnesol için MİK değerlerini 4,68-150 μM arasında, Amfoterisin B için 0,0625-4 $\mu\text{g/ml}$ arasında bulunmuştur. 19 izolat (7 *C. albicans*, 11 *C. parapsilosis* ve 1 *C. tropicalis*) AMB'ye dirençli bulunmuştur (MİK >1 $\mu\text{g/ml}$). Azol türevleri için ise; 19 izolatın (1 *C. albicans*, 3 *C. parapsilosis* ve 5 *C. tropicalis*; MİK >64 $\mu\text{g/ml}$) FLU için MİK değerleri 0,125->64 $\mu\text{g/ml}$. 34 suşun (20 *C. albicans*, 9 *C. parapsilosis* ve 5 *C. tropicalis*; MİK $\geq$ 1 $\mu\text{g/ml}$) ITR için MİK değerleri 0,03125->16 $\mu\text{g/ml}$ arasındadır. Son olarak; CAS için de MİK değerleri 0,0625-2 arasında bulunmuştur, 2'si *C. albicans* ve 4'ü *C. parapsilosis* olan 6 suşun da yüksek MİK değerine sahip olduğu görülmüştür (MİK=2 $\mu\text{g/ml}$). Yine aynı çalışmada farnesolün *Candida* izolatlarının hepsinde MİK değerlerini düşürdüğü görülmüş. Farnesolün in vitro dirençli görülen suşlara dahi MİK değerini düşürücü etki yaptığı gözlenmektedir (100).

Henriques ve ark. farnesolün *Candida dubliniensis*'in morfogenezine etkisini araştırdıkları çalışmada besiyerlerinde (RPMI gibi) suşların üzerine 300, 150, 15 ve 1,5 μM eklemişler. 150 ve altındaki konsantrasyonlarda kayda değer bir değişim gözlemlememişlerdir. %10 serumda inkübe edilen *C. dubliniensis* hücrelerinde gerçek hif oluşumu gözlenmiş, üzerlerine 150 veya 300 μM 'lık farnesol eklenmesiyle hiflerin tamamen ortadan kalktığı gözlenmiştir. *Candida albicans*'ın hif oluşumunun tamamen durdurabilen farnesol konsantrasyonu ise 400 μM olarak bulunmuştur (91, 101).

Langford ve ark. farklı koşullarda (YPD, GPP gibifarklı besiyerlerinde...) farnesolün etkisine bakmışlar ve farnesol konsantrasyonları 300 μM 'a erişene kadar minimal hücre ölümü gözlenmiş, hücre büyümesi ise yalnızca 300 μM 'dan büyük konsantrasyonlarda gözlenmiştir. GPP medyumunda eksponensiyel olarak üreyen hücrelere eklenen 40 μM farnesol üremenin inhibisyonuna neden olmuştur, daha yüksek farnesol konsantrasyonları lag fazını uzatmıştır (94).

Mosel ve ark. germ tüp oluşumunu engelleyen farnesol miktarının tanımlı besiyerleri için 1-2 μM olmasının yeterli olduğunu fakat %2-20'lik serum bulunan besiyerleri için 250 μM farnesol gerektiğini bulmuşlardır (102).

Langford ve ark.(2010)'nın yaptığı başka bir çalışmada da hem zengin bir medyum olan YPD hem de GPP medyumunda, inokulum durgun fazdayken 300 μM olarak bulunmuştur. İnokulum eksponensiyel fazda ise 40 μM ve üstü konsantrasyonlarda üreme kısmen de olsa inhibe olmaktadır. Log fazındaki hücreler

GPP’de 100 ve 300 μM ’lık farnesolle ölmektedirler. Bu çalışma 25, 30 ve 37 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarda yapılmış hepsinde benzer grafikler ortaya çıkmıştır. Farklı medyumlarda (GPP, YPD ve PBS) bu çalışma denenmiş, PBS’deki hücrelerin farnesole daha duyarlı oldukları bulunmuş. PBS’ye kıyasla GPP ve YPD’de hem eksponensiyel hem de durgun fazda farnesole artan bir tolerans tespit edilmiştir (101).

Jabra-Rizk ve ark. yaptıkları bir çalışmada hem sentetik hem de endojen olarak *Candida albicans* ve *Candida dubliniensis*’in 300 μM ’lık farnesol konsantrasyonlarında üreyebildiğini gözlemlemişlerdir. *C. dubliniensis* ve *Candida albicans*’ın farnesol için (0-300 μM arası konsantrasyonlarda) MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. 37 $^{\circ}\text{C}$ ’de 24 saatlik inkübasyondan sonra, kuyucuklarda Farnesol olmayan kontrol kuyucuğuna göre %80’lik azalmanın olduğu kuyucuk MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Ayrıca flukonazolle kombinasyonuna bakılmıştır. 0-64 $\mu\text{g/ml}$ ’lik konsantrasyon aralıklarında 100 μl flukonazol dilüsyonları hazırlanmış, üzerlerine 100 μl maya süspansiyonu, onun üzerine de final konsantrasyonları 0-300 μM olacak şekilde farnesol eklenmiştir. 37 $^{\circ}\text{C}$ ’de 24 saatlik inkübasyondan sonra flukonazol MİK’leri ile farnesol konsantrasyonları arasında (0-300) ters bir orantı gözlemlenmiştir. Genellikle 30-50 μM ’lık farnesol konsantrasyonları flukonazolün MİK oranlarını dirençliden doza bağımlı duyarlı hale gelmesini sağlamış, 100-300 μM ’lık konsantrasyonlar ise flukonazol MİK’ini duyarlı hale getirmiştir (103).

Yu ve ark. farnesolün flukonazole direnç mekanizmasında rol oynadığını göstermek için bir çalışma yapmışlardır. Farnesolün, endojen olarak üretilirken, farnesyl diphosphate (FPP)’nin enzimatik defosforilasyonu ile oluşmaktadır. FPP de sterol biyosentezi yolundaki ergosterol ve dolichollerin prekürsör maddesidir. Azoller gibi bazı antifungallerin sterol biyosentezini hedeflemesi hücre içinde farnesol miktarının artmasına ve dışında farnesol miktarının değişmesine neden olmaktadır. Çalışmada *Candida albicans* biyofilminde flukonazol için MİK değeri 128 $\mu\text{g/ml}$ olan suş kullanılmıştır. Farnesol eklenen flukonazolün MİK değerlerinde bir azalma görülmüş ve farnesolün flukonazol direncini azalttığı gösterilmiştir (93).

Hornby ve ark. (2004) maya süspansiyonlarına eklenen antifungallerin (4 antifungal denenmiştir: flukonazol, klotrimazol, ketokonazol ve mikonazol) özellikle karbon akışını sterol yoluyla engelleyenlerin farnesol üretimini artırdığını tespit etmişlerdir (104).

Antifungal ve farnesol kombinasyonlarının çalışıldığı pek fazla yayın bulunmamaktadır. Ancak Cordeiro ve ark. 2013 yılının başlarında AMB, azoller ve kaspofungin ile farnesol kombinasyonunu çalışmışlardır. 24 *C. albicans*, 16 *C. parapsilosis* ve 5 *C. tropicalis* toplamda 45 suşun farnesol ve dirençli olduğu antifungal kombinasyonu ile MİK değerleri kıyaslanmıştır. *Candida* türleri için FAR MİK değerlerini 4,68-150 μ M arasında bulmuşlar. Çalışılan izolatların MİK değerleri sırasıyla AMB, FLU, ITC ve CAS için 19'u >1 mg/l, 18'i ≥ 64 mg/l, 35'i ≥ 1 mg/l ve 6'sı da ≥ 2 mg/l olarak bulunmuştur. Farnesolün, metanolle dilüe edildiği çalışmaların aksine %30'luk DMSO ile seyreltilerek stok çözeltileri hazırlanmıştır (100).

Sonuç olarak; çalışmamızda farnesolün AMB ile kombinasyonunda başarı elde edilmiş, farnesol AMB MİK değerini düşürmüştür (500 μ M ve üzeri). Fakat farnesol kullandığımız diğer ilaçların (FLU, VOR) MİK değerlerinde anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir. Farnesolün AMB ile olumlu etkileşimi net olarak *C. albicans*'ta gözlenmiştir.

Canlılar üzerindeki yan etkileri (kimyasal olarak etkisi) tam olarak bilinmeyen farnesolün (105) biyofilm oluşumlarına ilişkin az da olsa çalışmalar yapılmışken, antifungallerle etkileşimini ele alan yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda AMB ile olumlu etkileşimi gözlenen ve adjuvan olarak kullanılabileceği düşünülen farnesolün diğer antifungallerle *in vitro* kombinasyonunu farnesolün hem mayaların/küflerin antifungal duyarlılıklarına hem de biyofilm oluşumuna ve mayaların dimorfizmine etkisini araştıran *in vitro* ve özellikle de *in vivo* çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Douglas J. L. *Candida* biofilms and their role in infection. Trends in Microbiology Vol.11 No.1 Ocak 2003.
2. Vinitha M. ve Ballal M. Biofilm as Virulence Marker in *Candida* Isolated from Blood. World Journal of Medical Sciences 2 (1): 46-48, 2007.
3. Gültekin B., Eyigör M., Tiryaki Y., Kırdar S. ve Aydın N. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Suşlarında Antifungal Duyarlılığın ve Bazı Virülans Faktörlerinin Araştırılması ve RAPD-PCR ile Genotiplendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2011; 45(2): 306-317.
4. Hornby J. M., Jensen E. C., Lisec A. D., Tasto J. J., Jahnke B., Shoemaker R., Dussault P. ve Nickerson K. W. Quorum Sensing in the Dimorphic Fungus *Candida albicans* Is Mediated by Farnesol. Applied and Environmental Microbiology. P. 2982–2992 Vol. 67, No. 7. Nebraska 2001
5. Alem M. A. S., Oteef M. D. Y., Flowers T. H. ve Douglas L. J. Production of Tyrosol by *Candida albicans* Biofilms and Its Role in Quorum Sensing and Biofilm Development. Eukaryotic Cell, p. 1770-1779, Vol. 5, No. 10. 2006.
6. Kromidas L., Perrier E., Flanagan J., Rivero R. ve Bonnet I. Release of Antimicrobial Actives from Microcapsules by the Action of Axillary Bacteria. International Journal of Cosmetic Science Vol. 28, Issue 2, p 103-108. İspanya 2006.
7. Arslan A. *Candida* Türlerinde Subinhibitör Konsantrasyonda Antifungal İlaç Uygulamalarının Slime Faktör Oluşumuna Etkileri. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Tez No: 2007-018.
8. Yücel A. Tıp Mikolojisinin Dünü ve Bugünü. (Medical mycology: Yesterday and Today). Cerrahpasa J Med 1999; 30 (2): 191-198.
9. Susever S. İnvazif mantar infeksiyonlarının tanımlanmasında moleküler yöntemlerin önemi; uygulanması ve geleneksel yöntemler ile karşılaştırılarak

değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Doktora Tezi. İstanbul 2006.

10. Keskin E. Kandidemi Saptanan Hastalarda Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi ve in vitro Antifungal Duyarlılıklarının İncalanması. Celal Bayar Üniversitesi. Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Uzmanlık Tezi. Manisa 2007.
11. Taş S. İnvaziv *Candida* Enfeksiyonunun Panfungal Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Erken Tanısı. Mersin Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD Uzmanlık Tezi. Mersin 2007.
12. Karakoç E. Çeşitli *Candida* Türlerinin Dört Değişik Antifungale Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon Yöntemi ile Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Uzmanlık Tezi. Erzurum 2007.
13. Kurtaran B. Hastane Enfeksiyonu Etkeni *Candida* Türlerinin Epidemiyolojisi ve Antifungal Duyarlılık Sonuçları. Çukurova Üniversitesi Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD. Uzmanlık Tezi. Adana 2004.
14. Aysan Akçam E. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzlenen Kandidemi Olgularının Epidemiyolojik, Klinik ve Antifungal Duyarlılık Yönünden İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Uzmanlık Tezi. Adana 2009.
15. Gayyurhan E. D. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* Türlerindeki Virülans Faktörlerinin Araştırılması ve Antifungal Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Gaziantep 2009.
16. İnmez E. İnvaziv Enfeksiyonlardan İzole Edilen *Candida* Türlerinin Flukonazol, Vorikonazol, Amfoterisin B Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon ve Time Kill Yöntemi (Zamana Bağlı Öldürme Kinetiği) ile Araştırılması. Celal Bayar

Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD Uzmanlık Tezi. Manisa 2007.

17. Dağ İ. Kaspofunginin *Candida glabrata*'nın Klinik İzolatlarına Karşı Vorikonazol, Flukonazol, İtrakonazol ve Amfoterisin B ile kombinasyonlarının Time-Kill metodu, E-Test metodu (iki farklı yöntemle) ve Disk difüzyon yöntemleriyle in vitro Etkilerinin Değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Eskişehir 2007.
18. Mitchell T. G. Medical Mycology. In: Brooks GF, Butel JS, Morse SA, editors. Jawetz Medical Microbiology. 23th ed. Boston: McGraw-Hill; 2004. 623-61.
19. Hazen K. C., Howell S. A., Hazen K. C. ve Howell S. A. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007. p. 1762-88.
20. Hazen K. C. ve Howell AS. Mycology and Antifungal Susceptibility Testing. In: Isenberg HD, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. Washington DC: ASM Press; 2004. 8.0.1.
21. Calderone R ve Gow N. A. R. Host Recognition by *Candida* Species. In: Calderone RA, editor. *Candida* and Candidiasis. Washington: ASM Press; 2002. p. 67-87.
22. De Hoog G. S., Gene G. J. ve Figueras M. J. Atlas of Clinical Fungi. 2nd ed. The Netherlands: Centraalbureau Voor Schimmelcultures; 2000.
23. Redmond A., Dancer C. ve Woods M. L. Fungal infections of the central nervous system: A review of fungal pathogens and treatment. Neurol India. 2007; 55(3): 251-9.

24. Hachem R., Hanna H., Kontoyiannis D., Jiang Y. ve Raad I. The changing epidemiology of invasive candidiasis: *Candida glabrata* and *Candida krusei* as the leading causes of candidemia in hematologic malignancy. *Cancer*. 2008; 112(11): 2493-9.
25. Hohl T. M., Rivera A. ve Pamer E. G. Immunity to fungi. *Curr Opin Immunol*. 2006; 18(4): 465-72.
26. Alva EM, Khayr W. *Candida krusei* sinusitis. *Am J Ther*. 1998; 5(2): 121-3.
27. Romani L. Immunology of Invasive Candidiasis. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. Washington: ASM Press; 2002. p.223-42.
28. Calderone R. A. Introduction and Historical Perspectives. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. Washington: ASM Press; 2002. p. 3-14
29. De Rosa F. G., Garazzino S., Pasero D., Di Perri G. ve Ranieri V. M. Invasive candidiasis and candidemia: new guidelines. *Minerva Anesthesiol*. 2009; 75(7-8): 453-8.
30. Ruhnke M. Skin and Mucous Membran Infections. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. Washington: ASM Press; 2002. p. 307-26.
31. Fidel P. L. ve Sobel J. D. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Microbiol Rev*. 1996; 9(3): 335-48.
32. Kullberg B. J. ve Filler S. G. Candidemia. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. Washington: ASM Press; 2002. p. 327-40.
33. Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S. M., Seifert H., Wenzel R. P. ve Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clin Infect Dis*. 2004; 39(3): 309–17.

34. Lehmann P. F. Fungal structure and morphology. In: Merz WG, Hay RJ, editors. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 10th ed. London: Hodder Arnold; 2005. p. 69-81.
35. Sallah S, Wan J. Y., Nguyen N. P., Vos P. ve Sigounas G. Analysis of factors related to the occurrence of chronic disseminated candidiasis in patients with acute leukemia in a non-bone marrow transplant setting: a follow-up study. *Cancer*. 2001; 92(6): 1349-53.
36. Walsh T. J. ve Chanock S. J. Diagnosis of invasive fungal infections: advances in nonculture systems. *Curr Clin Top Infect Dis*. 1998;18: 101-53.
37. Richardson M. D. ve Carlson P. Culture- and Non-culture-Based Diagnostics for *Candida* Species. In: Calderone RA, editor. *Candida* and Candidiasis. Washington: ASM Press; 2002. p. 387-94.
38. Morrell M., Fraser V. J. ve Kollef M. H. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(9): 3640-5.
39. Laín A, Elgueabal N, Amutio E, Fernández de Larrinoa I, Moragues M. D. ve Pontón J. Use of recombinant antigens for the diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Dev Immunol*. 2008; 721950.
40. Martínez J. P., Gil M. L., López-Ribot J. L. ve Chaffin W. L. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev*. 1998 ;11(1): 121-41.
41. Sendid B, Tabouret M, Poirot J. L., et al. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan

- antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol.* 1999 ;37(5): 1510-7.
42. Wheat L. J. Antigen detection, serology, and molecular diagnosis of invasive mycoses in the immunocompromised host. *Transplant Infect Dis.* 2006; 8: 128-39.
 43. Chauhan N., Li D., Singh P., Calderone R. ve Kruppa M. The cell wall of *Candida* spp. In: Calderone RA, editor. *Candida* and Candidiasis. Washington: ASM Press; 2002. p. 159-79.
 44. Moran G. P., Sullivan D. J. ve Coleman D. C. Emergence of Non-*Candida albicans* *Candida* species as Pathogens. In: Calderone RA, editor. *Candida* and Candidiasis. Washington: ASM Press; 2002. p. 37-55.
 45. Pujol C., Renaud F., Mallie M., De Meeus T. ve Bastide J. M. Atypical strains of *Candida albicans* recovered from AIDS patients. *J Med Vet Mycology.* 1997; 35: 115-21.
 46. Sendid B., Poirot J. L., Tabouret M., Bonnin A., Caillot D., Camus D. ve Poulain D. Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol.* 2002; 51(5): 433-42.
 47. Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, Maesaki S, Tanaka K, Ishikawa N ve Hara K. Plasma (1-->3)-beta-D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(12): 3115-8.
 48. Odabasi Z., Mattiuzzi G., Estey E., Kantarjian H., Saeki F., Ridge R. J., Ketchum P. A., Finkelman M. A., Rex J. H. ve Ostrosky-Zeichner L. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff

development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*. 2004; 39(2): 199-205.

49. Pickering J. W., Sant H. W., Bowles C. A., Roberts W. L. ve Woods G. L. Evaluation of a (1->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J. Clin Microbiol*. 2005; 43(12): 5957-62.
50. Obayashi T., Yoshida M., Mori T., Goto H., Yasuoka A., Iwasaki H., Teshima H., Kohno S., Horiuchi A., Ito A., et al. Plasma (1->3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet*. 1995; 345(8941): 17-20.
51. Yeo S. F. ve Wong B. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15(3): 465-84.
52. Yeo S. F., Huie S., Sofair A. N., Campbell S., Durante A. ve Wong B. Measurement of serum D-arabinitol/creatinine ratios for initial diagnosis and for predicting outcome in an unselected, population-based sample of patients with *Candida* fungemia. *J Clin Microbiol*. 2006; 44(11): 3894-9.
53. White P. L., Linton C. J., Perry M. D., Johnson E. M. ve Barnes R. A. The evolution and evaluation of a whole blood polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 479–86.
54. Fredricks D. N., Smith C. ve Meier A. Comparison of six DNA extraction methods for recovery of fungal DNA as assessed by quantitative PCR. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(10): 5122-8.
55. Borman A. M., Linton C. J., Miles S. J., Campbell C. K. ve Johnson E. M. Ultra-rapid preparation of total genomic DNA from isolates of yeast and mould using Whatman FTA filter paper technology - a reusable DNA archiving system. *Med Mycol*. 2006; 44(5): 389-98.

56. Einsele H. ve Loeffler J. Contribution of new diagnostic approaches to antifungal treatment plans in high-risk haematology patients. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14(4): 37-45.
57. White P. L., Archer A. E. ve Barnes R. A. Comparison of non-culture-based methods for detection of systemic fungal infections, with an emphasis on invasive *Candida* infections. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(5): 2181-7.
58. Chen S. C. ve Sorrell T. C. Antifungal agents. *Med J Aust.* 2007; 187(7): 404-9.
59. Murray P. R., Rosenthal K. S. ve Tenoer P. C. *Medical Microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Mosby; 2009.
60. Arikan S. ve Rex J. H. Antifungal Agents. In: Murray P. R., Baron E. J., Tenover J. C., Tenover F. C., editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007. p. 1949-60.
61. Martinez R. An update on the use of antifungal agents. *J Bras Pneumol.* 2006; 32(5): 449-60.
62. Tiphine M., Letscher-Bru V. ve Herbrecht R. Amphotericin B and its new formulations: pharmacologic characteristics, clinical efficacy, and tolerability. *Transpl Infect Dis.* 1999; 1(4): 273-83.
63. Herbrecht R., Nivoix Y., Fohrer C., Natarajan-Amé S. ve Letscher-Bru V. Management of systemic fungal infections: alternatives to itraconazole. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56(1): i39-i48.
64. Herbrecht R., Denning D. W., Patterson T. F., Bennett J. E., Greene R. E., Oestmann J. W., Kern W. V., Marr K. A., Ribaud P, Lortholary O, Sylvester R, Rubin R. H., Wingard J. R., Stark P, Durand C, Caillot D, Thiel E, Chandrasekar P. H., Hodges M. R., Schlamm H. T., Troke P. F. ve De Pauw B.

Invasive Fungal Infections Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer and the Global *Aspergillus* Study Group. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med*. 2002; 347(6): 408-15.

65. Johnson L. B. ve Kauffman C. A. Voriconazole: a new triazole antifungal agent. *Clin Infect Dis*. 2003; 36(5): 630-7.
66. Letscher-Bru V. ve Herbrecht R. Caspofungin: the first representative of a new antifungal class. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 51(3): 513-21.
67. Sucher A. J., Chahine E. B. ve Balcer H. E. Echinocandins: the newest class of antifungals. *Ann Pharmacother*. 2009; 43(10): 1647-57.
68. Eliopoulos GM, Moellering RC. Antimicrobial Combinations. In: Lorian V, editor. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 2000. p. 432-49.
69. Uzun Ö. Antifungal Kombinasyon Tedavisi. *Ankem Derg*. 2006; 20(2): 36-7.
70. Johnson M. D., MacDougall C., Ostrosky-Zeichner L., Perfect J. R. ve Rex J. H. Combination antifungal therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48(3): 693-715.
71. Howden B. P., Slavin M. A., Schwarzer A. P. ve Mijch A. M. Successful control of disseminated *Scedosporium prolificans* infection with a combination of voriconazole and terbinafine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2003; 22: 111–3.
72. Park D. W., Sohn J. W., Cheong H. J., Kim W. J., Kim M. J., Kim J. H. ve Shin C. Combination therapy of disseminated coccidioidomycosis with caspofungin and fluconazole. *BMC Infect Dis*. 2006; 6: 26.

73. Ustun C., Huls G., Stewart M. ve Marr K. A. Resistant *Microascus cirrosus* pneumonia can be treated with a combination of surgery, multiple anti-fungal agents and a growth factor. *Mycopathologia*. 2006; 162(4): 299-302.
74. Pfaller M. A., Diekema D. J., Gibbs D. L., Newell V. A., Nagy E., Dobiasova S., Rinaldi M., Barton R. ve Veselov A. Global Antifungal Surveillance Group. *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the Artemis Disk Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol*. 2008;46(2) :515-21.
75. Shea Y. R. Algorithms for Detection and Identification of Fungi. In: Murray P. R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Landry M. L., Pfaller M. A., editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007. p.1745-61.
76. Lewis R. E. Pharmacodynamic implications for use of antifungal agents. *Curr Opin Pharmacol*. 2007; 7(5): 491-7.
77. Andes D. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antifungals. *Infect Dis Clin North Am*. 2006; 20(3): 679-97.
78. Ernst E. J., Klepser M. E. ve Pfaller M. A. Postantifungal effects of echinocandin, azole, and polyene antifungal agents against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44(4): 1108-11.
79. Smith J. ve Andes D. Therapeutic drug monitoring of antifungals: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Ther Drug Monit*. 2008; 30(2): 167-72.
80. Arikan S. Current status of antifungal susceptibility testing methods. *Med Mycol*. 2007; 45(7): 569-87.

81. Clinical Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast; Approved Standard, NCCLS Document M27-A3, CLSI, Wayne, Pa, 2008.
82. Clinical Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard NCCLS Document M38-A2, Vol.28, No.16, CLSI, Wayne, Pa, 2008.
83. Clinical Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing in yeasts, Approved Guideline, M-44-A, Vol.24, No.15, CLSI, Wayne, PA, 2004.
84. EUCAST definitive Document E.DEF 7.1: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for fermentative yeasts. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 398-405.
85. Alexander B. D., Byrne T. C., Smith K. L., Hanson K. E., Anstrom K. J., Perfect J. R. ve Reller L. B. Comparative Evaluation of Etest and Sensititre YeastOne 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.
86. Johnson E. M. Issues in antifungal susceptibility testing. J Antimicrob Chemother. 2008; 61(1): i13-8.
87. Canton E., Espinel-Ingroff A. ve Pemán J. Trends in antifungal susceptibility testing using CLSI reference and commercial methods. Expert Rev Anti Infect Ther. 2009; 7(1): 107-19.
88. Lewis R. E., Diekema D. J., Messer S. A., Pfaller M. A. ve Klepser M. E. Comparison of Etest, checkerboard dilution and time-kill studies for the detection of synergy or antagonism between antifungal agents tested against *Candida* species. J Antimicrob Chemother. 2002; 49: 345-51.

89. Klepser M. E., Ernst E. J., Lewis R. E., Ernst M. E. ve Pfaller M. A. Influence of test conditions on antifungal time-kill curve results: Proposal for standardized methods. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 1207-12.
90. Fothergill A. W., Rinaldi M. G. ve Sutton D. A. Antifungal susceptibility testing. *Infect Dis Clin North Am.* 2006; 20(3): 699-709.
91. Henriques M., Martins M., Azeredo J. ve Oliveira R. Effect of farnesol on *Candida dubliniensis* morphogenesis. *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology* 44 199–205. Portekiz 2007.
92. Kiraz N., Dağ İ., Yamaç M., Kiremitçi A., Kaşifoğlu N. ve Öz Y. Synergistic Activities of Three Triazoles with Caspofungin against *Candida glabrata* Isolates Determined by Time-Kill, Etest, and Disc Diffusion Methods. *Antimicrobial Agents and Microbiology*, p. 2244–2247 Vol. 54, No. 5. Eskişehir 2010.
93. Yu L-H., Wei X., Ma M., Chen X.-J. ve Xu S.-B. Possible Inhibitory Molecular Mechanism of Farnesol on the Development of Fluconazole Resistance in *Candida albicans* Biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 0066-4804, p. 770–775. Çin 2011.
94. Langford M. L., Hasim S., Nickerson K. W. ve Atkin A. L. Activity and Toxicity of Farnesol towards *Candida albicans* Are Dependent on Growth Conditions. *Antimicrobial Agents and Chamotherapy*, p. 940–942 Vol. 54, No. 2. Nebraska 2010.
95. Scheper M. A., Mark E. S., Meiller T. M., Peters B. M. ve Jabra-Rizk M. Farnesol, a Fungal Quorum-Sensing Molecule Triggers Apaptosis in Human Oral squamous Carcinoma Cells. *Neoplasia.* 10(9): 954–963. ABD 2008.

96. İskender S. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, Yaşlı Hastalarda Görülen Hastanede Edinilmiş İnfeksiyonlar. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları AD. Uzmanlık Tezi. Trabzon 2008.
97. Kapmaz M. Klinikte Sık Kullanılan Seftriakson, Piperasilin-Tazobaktam ve İmipenem-Silastatinin *Candida* Kolonizasyonuna Etkisinin Prospektif Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniveritesi İstanbul Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD Uzmanlık Tezi. İstanbul 2011.
98. Oz Y. Vorikonazol, Amfoterisin B ve Kaspofunginin Tek başına ve Kombinasyonda *Candida krusei* izolatlarına karşı in vitro etkinliği. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikoloji AD. Uzmanlık Tezi. Eskişehir 2010.
99. Tümer S. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* Türlerinin Dağılımı ve Antifungal Duyarlılıkları. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Uzmanlık Tezi. Şanlıurfa 2011.
100. Cordeiro R. A., Teixeira C. E. C., Brilhante R. S. N., Castelo D. S. C M., Paiva M. A. N., Leite J. J. G., Lima D. T., Monteiro A. J., Sidrim J. J. ve Rocha M. F. G. Minimum inhibitory concentration of amphotericin B, azoles and caspofungin against *Candida* species are reduced by farnesol. Medical Mycology 51, 53–59. Brezilya 2013.
101. Langford M. L. Farnesol signalling in *Candida albicans*. The Graduate College at the University of Nebraska In Partial Fulfillment of Requirements For the Degree of Doctor of Philosophy. Nebraska 2010.
102. Mosel D. D., Dumitru R., Hornby J. M., Atkin A. L. ve Nickerson K. Farnesol Concentrations Required To Block Germ Tube Formation in *Candida albicans* in the Presence and Absence of Serum. Applied and Environmental Microbiology, p. 4938–4940 Vol. 71, No. 8. Nebraska 2005.

103. Jabra-Rizk M. A., Shirtliff M., James C ve Meiller T. Effect of farnesol on *Candida dubliniensis* biofilm formation and fluconazole resistance. FEMS Yeast Res 6 1063–1073. ABD 2006.
104. Hornby J. M. ve Nickerson K. W. Enhanced Production of Farnesol by *Candida albicans* Treated with Four Azoles. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, p. 2305–2307 Vol. 48, No. 6. Nebraska 2004.
105. Sigma-Aldrich Safety Data Sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006
Version 5.1. Revision Date 18.05.2013. Print Date 18.08.2013.
<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=TR&language=tr&productNumber=F203&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2Ff203%3Flang%3Den>

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Sayı: B.30.2.İST.0.30.90.00/10203

Konu:

İstanbul/...../.....

09 Nisan 2012

Temel Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığına

İlgi:23.02.2012 tarihli, 322 sayılı yazınıza:

Fakültemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Nuri KİRAZ'ın danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi Sümeyye ŞEN'in yürütücülüğünde "Bazı Antifungal İlaçların *Candida* spp. Türlerine Karşı in vitro Aktiviteleri Üzerine Quorum Sensing Molekülü Olan Farnesolün Etkisinin Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri 03.04.2012 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz olunur.

Eki:
1 Dosya

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ
Dekan Yardımcısı ve Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Not: Yanıtlarınızda yazınızın gün ve sayısının belirtilmesi rica olunur.
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/İSTANBUL
Telefon 0 (212) 414 32 52 Dahili: 22300 Faks: 0(212) 632 00 40 e-posta: ctfetik@istanbul.edu.tr.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sümeyye	Soyadı	ŞEN
Doğ.Yeri	SAKARYA	Doğ.Tar.	1987
Uyruğu	TC	TC Kim No	
Email	smyy.1987@hotmail.com	Tel	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İÜ CTF Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2013
Lisans	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2010
Lise	Figen Sakallıoğlu Anadolu Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	orta	orta	orta	78	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	86,29573	83,63562	68,59487
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi