



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

+

**NOZOKOMİYAL KANDİDÜRİLİ HASTALARDAN İZOLE
EDİLEN CANDIDA TÜRLERİ, DUYARLILIKLARININ
E-TEST VE SIVI MİKRODİLÜSYON
YÖNTEMLERİ İLE ARAŞTIRILMASI**

Dr. Betil ÖZHAK

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Tümer VURAL

“Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir”

“Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
2003.04.0103.007 numaralı proje ile desteklenmiştir”

Antalya, 2004

TEŞEKKÜR

Eğitimimde ve tez çalışmamda emeği geçen tez danışmanı hocam Prof.Dr. Tümer Vural başta olmak üzere, hocalarım Prof.Dr. Gönül Mutlu, Prof.Dr. Meral Gültekin, Prof.Dr. Dilek Çolak, Doç.Dr. Dilara Ögünç, Yrd.Doç.Dr. Gözde Öngüt'e yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Uzman arkadaşlarım Dr. Feryal Öztürk, Dr. Şenay Tuğlu Ataman, Dr. Filiz Ünlü ve Dr. Derya Mutlu'ya yardımları ve moral destekleri için teşekkür ederim.

Tüm asistan arkadaşlarıma, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'nin tüm çalışanlarına yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Hastanemizin Enfeksiyon Kontrol Hemşiresi Sevim Keskin'e çalışma grubumun belirlenmesindeki yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim. Verilerimin değerlendirilmesi ve istatistik sonuçlarımın belirlenmesinde Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Levent Dönmez'e ve Biyoistatistik Anabilim Dalı Araştırma görevlisi Özgür Tosun'a çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca bana mutlu ve huzurlu bir ortam sağlayarak, tüm zorlukları aşıp başarıya ulaşmamda en büyük desteğim olan anneme teşekkür ederim.

Dr. Betil ÖZHAK

Antalya, 2004

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe ve Taksonomi	2
2.2. Üreme Özellikleri	5
2.3. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	5
2.4. Epidemiyoloji	7
2.5. Virulans Faktörleri	10
2.6. Patogenez	11
2.7. Klinik	13
2.8. Tanı	18
2.9. Candida Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungal İlaçlar	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Hastaların Belirlenmesi	31
3.2. Candida Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu	31
3.3. Antifungal Duyarlılık Testleri	35
3.4. Sonuçların İstatistiksel Analizi	48
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	61
5.1. Antifungal Duyarlılığın Araştırılması	65
5.2. E-test ve Referans Yöntem Sıvı Mikrodilüsyonun Karşılaştırılması	71
6. SONUÇLAR	73
ÖZET	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	90
EK 1	90

SİMGELER VE KISALTMALAR

E-test	Epsilometer test
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
NNIS	National Nosocomial Infections Surveillance
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
ATCC	American Type Culture Collection
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	Acquired Immun Deficiency Syndrome
HIV	Human Immun Deficiency Virus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
CFU	Colony Forming Unit
SD	Standart Deviation
MOPS	Morfolinopropan sülfonik asit
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis
REA	Restriction Enzyme Analysis
SDA	Sabouraud Dekstroza Agar
BHI	Brain Heart Infusion
SABHI	Sabouraud Brain Heart Infusion
S	Smooth
TPN	Total Parenteral Nutrition
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
DM	Diabetes Mellitus
PAS	Periyodik Asit-Schiff
kDa	Kilo Dalton
ABLC	Amfoterisin B Lipid Kompleksi
İYE	İdrar Yolu İnfeksiyonu
GİS	Gastrointestinal Sistem
*PNL	Polimorfonüveli Lökositler
KOH	Potasyum Hidroksit
NaOH	Sodyum Hidroksit

K^{+}	Potasyum
NaCl	Sodyum Klorür
KH_2PO_4	Hidrojen Potasyum Fosfat
Na_2PO_4	Disodyum Fosfat
Mg^{+2}	Magnezyum
CO_2	Karbondioksit
DMSO	Dimetilsülfoksit
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi
S	Duyarlı
S-DD	Doza Bağlı Duyarlı
R	Dirençli
MIK_{50}	Suşların 50'sini inhibe eden konsantrasyon
MIK_{90}	Suşların 90'ını inhibe eden konsantrasyon
mm	Milimetre
ml	Mililitre
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
μg	Mikrogram
g	Gram
L	Litre
cm	Santimetre
kg	Kilogram
mM	Milimolar
CD ₄	Cluster of Differentiation

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Germ tüp oluşumunun mikroskopik görüntüsü (x40).	21
2.2. <i>C. albicans</i> 'ın Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).	21
2.3. <i>C. tropicalis</i> 'in Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).	22
2.4. <i>C. krusei</i> 'nin Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).	22
2.5. <i>C. glabrata</i> 'nın Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).	23
2.6. <i>C. guilliermondii</i> 'nin Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).	23
3.1. Candida türlerinde vorikonazol, itrakonazol MİK değerlerinin E-test yöntemi ile saptanması.	38
3.2. Candida türlerinde flukonazolün MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.	46
3.3. Candida türlerinde vorikonazolün MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.	46
3.4. Candida türlerinde amfoterisin B'nin MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.	47
3.5. Candida türlerinde kaspofunginin MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	sayfa
2.1. Taksonomik sınıflama	4
2.2. Yüzeyel ve derin kandida infeksiyonlarında risk faktörleri	13
2.3. Yüzeyel ve derin kandidoz tipleri	14
2.4. Bazı önemli Candida türlerinin biyokimyasal özellikleri	25
3.1. Flukonazol ve itrakonazol antifungalleri için NCCLS tarafından belirlenen sınır değerleri.	39
3.2. RPMI 1640 besiyerinin içeriği.	40
3.3. Flukonazol ve kaspofungin antifungallerinin çift kat dilüsyonlarının hazırlanması	43
3.4. Amfoterisin B ve vorikonazol antifungallerinin çift kat dilüsyonlarının hazırlanması	44
3.5. Mikrodilüsyon yönteminde flukonazol sonuçlarını değerlendirirken esas alınan MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$).	45
4.1. İdrar örneklerinden izole edilen Candida türlerinin dağılımı	49
4.2. Yaş gruplarına göre Candida türlerinin dağılımı	50
4.3. Nozokomiyal kandidüri risk faktörlerinin dağılımı.	51
4.4. Candida türlerinin azol grubu antifungallere, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan MİK ₅₀ , MİK ₉₀ , alt ve üst MİK sınır değerleri.	53
4.5. Candida türlerinin amfoterisin B ve kaspofungin antifungallerine, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan MİK ₅₀ , MİK ₉₀ , alt ve üst MİK sınır değerleri.	54
4.6. Tüm Candida türlerinde antifungallerin 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan MİK ₅₀ , MİK ₉₀ , alt ve üst MİK sınır değerleri.	54
4.7. E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile 24 ve 48 saat inkübasyon sonunda $\pm 1\text{-log}_2$ ve $\pm 2\text{log}_2$ dilüsyon sınırları arasında bulunan suşların yüzde oranları.	55

4.8. Candida türlerinde 24-48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ile saptanan flukonazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı.	56
4.9. Candida türlerinde sıvı mikrodilüsyon ile saptanan flukonazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı.	56
4.10. Candida türlerinde 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon ile saptanan flukonazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı	57
4.11. Flukonazol için 48 saatlik sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile diğer yöntemlerin uyumu.	57
4.12. Candida türlerinde 24-48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ile saptanan itraconazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı.	58
4.13. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kaspofungin'in 48 saatlik MİK değerleri	59
4.14. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile amfoterisin B'nin MİK değerleri.	60
4.15. E-test yöntemi ile amfoterisin B'nin MİK değerleri.	60
5.1. <i>C. albicans</i> suşlarının flukonazole duyarlılık oranlarının dağılımı.	66

1. GİRİŞ

Doğada, bugüne kadar tanımlanan 100,000 mantar türü yanında, tanımlanacak daha birçok tür bulunduğu tahmin edilmektedir. Bu türlerden yaklaşık 150'si insan ve hayvanlar için patojen olarak tanımlanmıştır. Canlıların beş aleminden birini oluşturan mantarlar, ökaryotik hücre yapısına sahiptirler ve infeksiyonlarda "fırsatçı patojen" olarak rol alırlar (1).

Candida türleri, deri ve müköz membranlarda normal flora üyesi olarak bulunan, immün sistemin çeşitli nedenlerle baskılanmasıyla, fırsatçı patojen olarak infeksiyon etkeni olabilen mikroorganizmalardır. Son yıllarda, Candida türlerinin idrar yollarında kolonizasyonunu takiben, artan oranlarda hastane infeksiyonu oluşturmaları nedeni ile kandidürilerin risk faktörlerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (2)

Tedavi sırasında karşılaşılan direnç problemleri ve yeni antifungallerin geliştirilmesi bu konudaki araştırmaların önemini artırmıştır (3, 4)

Bu çalışmada; Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde hastane kaynaklı (nozokomiyal) kandidüri tanısı alan 100 hastanın idrar örneklerinden izole edilen Candida türleri araştırmaya alınarak, idrar örneklerinden;

- Candida türlerinin izolasyonu ,
- Nozokomiyal kandidürilerde etken olan Candida türlerinin belirlenmesi ve tür dağılımının saptanması,
- İzole edilen suşların, günümüzde yaygın olarak kullanılan antifungal ajanlardan; amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve uygulanmaya başlanmış yeni antifungallerden vorikonazol ve kaspofungine duyarlılıklarının araştırılması,
- Antifungal duyarlılığı saptamada son yıllarda kullanımı yaygınlaşan Epsilometer test (E-test) yönteminin, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyonla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Candida türleri, fırsatçı mantar infeksiyonlarına neden olan etkenler arasında ilk sırayı alırlar ve bu nedenle mantar alemi içinde oldukça önemli bir yere sahiptirler (5)

Candida türleri insanların deri, solunum sistemi, gastrointestinal sistem (GİS) ve ürogenital sistem floralarında bulunan, infeksiyonlarının çoğu endojen kaynaklı olan mikroorganizmalardır. Doğum sırasında veya doğumdan kısa süre sonra yenidoğana bulaşarak, normal florada yerlerini alırlar. *Candida* türleri akut veya kronik seyirli, yüzeysel ya da sistemik tutulum yapan infeksiyonlar oluşturabilir. Sistemik mikoz etkenleri arasında ilk sırada yer almaktadırlar (2)

Son 20 yıl içinde mantarların etken olduğu nozokomiyal infeksiyonların sıklığında belirgin bir artış olup, bu etkenler arasında en sık (%85) *Candida* türleri gözlenmektedir (6). *Candida* türlerine bağlı idrar yolu infeksiyonlarının sıklığında da son yıllarda belirgin bir artış gözlenmektedir (7, 8).

2.1. Tarihçe ve Taksonomi

Milattan önce IV. yüzyılda Hipokrat, "Epidemics" adlı kitabında altta yatan ciddi hastalığı olan iki hastada oral aftları (thrush: pamukçuk) tanımlamıştır (1). 1771'de Rosen von Rosenstein ve 1784'de Underwood pamukçuğun, infantlarda görülen bir durum olduğunu ifade etmişler, oral ve gastrointestinal pamukçuk tanımlarını pediatri ders kitaplarında açıklamışlardır (1).

1835'de Véron, özefagusta mantar infeksiyonunu ilk olarak tanımlamış ve bu hastalığı yeni doğanların doğum sırasında doğum kanalından geçerken alabileceklerini belirtmiştir (1).

1839'da Langenbeck, bir hastanın oral lezyonundan mantarı izole etmiştir. 1841'de Berg, aftlı sağlıklı bebeklerdeki pamukçuğa mantarın sebep olduğunu saptamıştır (9).

1842'de Gruby, mantarı tanımlamış ve *Sporotrichum* genusuna dahil etmiştir (1). 1843'te Robin, mantara "*Oidium albicans*" ismini vermiştir (9).

1844'te Bennett, mantarın mikroskopik özelliklerini açıklamıştır (1). 1861'de Zenker, ilk sistemik mantar infeksiyonu vakasını bildirmiştir (9).

1868'de Quinquad, "*O. albicans*" yerine "*Syngospora robinii*" ismini

önermiştir (1). 1875'de Haussmann, oral ve vaginal pamukçuğun etiyolojik ajanının aynı olduğunu belirtmiş ve infantlara, annenin vaginal lezyonlarından geçtiğini saptamıştır (1)

1877'de Reess, "*Saccharomyces albicans*" ismini önermiş, aynı yıl Grawitz, mantarın dimorfik yapısına dikkat çekmiştir. Tomurcuklanan maya formunu, hif yapısını, klamidosporeleri tarif etmesine karşın bu yapıları adlandıramamıştır (1).

1886'da Saccardo, *Monilia* genusunun, çürümüş meyvelerden izole edilen bazı filamentöz mantarları içerdiğini açıklamıştır (1).

1890'da Zopf, mantar infeksiyonu moniliyazisten esinlenerek mantarı "*Monilia albicans*" olarak isimlendirmiştir (1, 9).

1923'te Berkhout, klinik yönden önemli *Monilia*'ların çürük meyvelerdeki *Monilia*'lardan fizyolojik ve morfolojik olarak farklı olduğunu belirtmiş, ilk defa "*Candida albicans*" ismini kullanmıştır. *Candida* genusunu askospor oluşturmayan, psödohif yapan maya türleri olarak tanımlamıştır (1, 9). Yirminci yüzyılın başlarında Castellani, *Monilia albicans* dışında diğer türlerin de mantar infeksiyonunda etken olabileceğini ileri sürmüş, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida kefyr* ve *Candida guilliermondii* olarak bilinen türleri ilk olarak tanımlamıştır. *C. albicans*'a benzer pek çok yeni tür tarif etmiştir (1).

1940'da ilk kez *Candida* endokarditi tanımlanmış, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmasına bağlı olarak *Candida* infeksiyonlarının insidansı artmıştır (1, 9). 1954'te Paris'de yapılan sekizinci Botanik Kongresi'nde "*Candida*" cins ismi olarak kabul edilmiştir (10).

1980'de Whelan ve arkadaşları *C. albicans*'ın diploid mikroorganizma olduğunu saptamışlardır (1). 1986'da Kurtz ve arkadaşları *C. albicans* için DNA dizi analiz yöntemini seçici gösterge olarak kullanmış ve böylece *Candida* türleri için ileri moleküler çalışmalar hızlanmıştır (1).

Candida cinsine ait türler arasındaki taksonomik ilişkiler henüz çok iyi tanımlanamamıştır. Telemorfik genuslar, kandidaların seksüel (eşeyli) formları anemorfik genuslar ise aseksüel (eşeysiz) formlarıdır. Mantarlar alemi; Mastigomycota ve Amastigomycota bölümlerine ayrılır. *Candida* türleri Amastigomycota bölümünde yer alır (Çizelge 2.1) (1, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

Çizelge 2.1. Taksonomik Sınıflama

Bölüm	Alt bölüm	Sınıf	Altsınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
Amastigomycota	Ascomycotina	Ascomycetes (Ascomycota)	Hemiascomycetidae	Endomycetales (Endomycetes)	Saccharomycetaceae	Issatchenkia	orientalis *
						(Candida)	krusei
					Endomycetaceae	Debaryomyces	hansenii *
						(Candida)	famata
						Hansenula	anomala *
						(Candida)	pelliculosa
						Pichia	guilliermondii*
						(Candida)	guilliermondii
						Pichia	norvegensis*
						(Candida)	norvegensis
						Stephanoascus	ciferrii*
						(Candida)	ciferrii
					Dipodascaceae	Clavispora	lusitaniae*
						(Candida)	lusitaniae
					Lipomycetaceae	Kluyveromyces	marxianus*
						(Candida)	kefyr
	Deuteromycotina (Deuteromycota, Fungi Imperfecti , Aseksüel fungi)	Deuteromycetes	Blastomycetes	Cryptococcales	Cryptococcaceae	Candida	sp.

*Bazı Candida türlerinin telemorfik (seksüel) cinsleridir.

2.2. Üreme Özellikleri

Candida türleri, bakteriyolojik ve mikolojik besiyerlerinin çoğunda üreyebilme yeteneğindedirler. Klinik örneklerden mantarların izolasyonu için en yaygın kullanılan besiyerleri Sabouraud dekstroz agar (SDA), SDA'nın Emmon modifikasyonu (nötral SDA), kanlı beyin-kalp infüzyon (BHI) agar, Sabouraud-BHI (SABHI) agar, inhibitör mold agar, mikobiyotik agar, maya özütü fosfat agardır. Bu besiyerlerine kloramfenikol+ gentamisin veya penisilin+ streptomisin veya kloramfenikol+ sikloheksimid gibi antibiyotik kombinasyonları eklenerek besiyerleri seçici hale getirilebilir. Kloramfenikol+ gentamisin ilave edilmiş SDA besiyeri *Candida* türlerinin üretilmesinde en sık kullanılan besiyeridir. Kloramfenikol+ gentamisin kombinasyonu, geniş antibakteriyel etki spektrumlu olmaları, güvenli şekilde otoklavlanabilmeleri nedeniyle tercih edilmektedir. *C. albicans* sikloheksimidl besiyerlerinde üreyebilirken, diğer maya türleri inhibe olabilmektedir (17)

Candida türleri, SDA besiyerinde 25-37°C'de 24 saat gibi kısa sürede üreyebilirlerse de, çoğunlukla 48-72 saatte 1-2 mm çapında koloniler oluştururlar. Oluşan koloniler beyazdan kreme kadar değişen renkte, düzgün yüzeyli, parlak veya mat, genellikle S tipi kolonilerdir. Yaklaşık bir ay sonra; krem renkli mumsu, yumuşak, düzgün veya buruşuk yüzeyli olabilirler ve miçel yapıları oluşturabilirler. Mayaların 37°C'de üreme özelliği önemlidir. Çoğu patojen tür 25-37°C'de üreyebilirken, patojen olmayan türler genel olarak 37°C'de üreyemezler (1).

2.3. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Candida türleri 4-6 µm büyüklüğünde, genellikle oval veya yuvarlak şekilli tek veya tomurcuklanmış hücreler şeklinde görülebilen, ökaryotik, maya formunda mantarlardır. Seksüel (telemorfik) üreme özelliği gösterebilmesine karşın esas olarak tomurcuklanarak (aseksüel=anamorfik) çoğalırlar. Tomurcuklanarak oluşan yavru hücreye blastokonidya veya blastospor adı verilir. Yavru hücre ana hücreden ayrılabilir veya ayrılmayabilir. Tıbbi önemi olan maya mantarları ana hücreye tutunmuş bir veya birden fazla yavru hücre taşıyabilirler. Oluşan blastokonidyum ana hücreden ayrılmayıp doğrusal olarak arka arkaya tomurcuklanarak uzun, aralarında boğumlar olan hücreler zinciri oluşturabilir.

Meydana gelen bu yapı psöдохif adını alır *Candida* türleri %5-10 CO₂ içeren ortamlarda; konak dokuları, katı besiyerlerinde koloninin besiyerine gömülü kısmında, sıvı besiyerlerinde besiyerinin alt bölümü gibi düşük oksijen içeren ortamlarda gerçek hif (germ tüp) oluşturabilirler. Gerçek hif, maya hücresinin boğumlanmadan filamentöz uzantılar oluşturmasıdır. *Candida* türlerinin gerçek hif oluşturup oluşturmadıkları germ tüp testi ile saptanabilmektedir. Türler arasında *C. albicans* ve *Candida dubliniensis* germ tüp oluşturabilmektedir. *Candida* türleri kanlı agar gibi bakteriyolojik besiyerleri ve SDA gibi mikolojik besiyerlerinin çoğunda üreyebilme yeteneğindedir. Kanlı agar veya SDA'da üreyen maya kolonilerinin incelenmesi tür hakkında bir ön fikir verebilirse de *Candida* türlerinin morfolojik özellikleri, mısırunu-Tween 80 agar besiyerinde incelendiğinde daha iyi gözlenir. Mısırunu-Tween 80 besinden fakir bir ortam olup blastokonidyumların özellikleri ve blastokonidyumların yalancı hif boyunca dizilimleri türler arasında farklılıklar gösterir. Yine bu besiyerinde klamidospore adı verilen *C. albicans* ve *C. dubliniensis* türlerince oluşturulabilen küresel, kalın duvarlı 8-12 µm büyüklüğünde dirençli sporlar saptanabilir (1, 2, 13, 16, 18).

Mısırunu Tween 80 agarda *Candida* türlerinin morfolojik özellikleri:

C. albicans, yalancı ve gerçek hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler oluşturmuş yuvarlak blastokonidyumlar ve hif uçlarında türe özgü kalın duvarlı, tek veya birkaç tane klamidospore yapar (2, 15)

C. tropicalis, yalancı hif boyunca tek tek veya küçük kümeler oluşturmuş yuvarlağımsı blastokonidyumlar, bazen yalancı hif uçlarında klamidospore benzer ancak ince duvarlı yuvarlak veya armut şeklinde hücreler oluşturur (2, 15).

C. guilliermondii de az sayıda kısa yalancı hif ve bunların boğumları çevresinde küçük blastosporların oluşturduğu kümeler görülür (2, 15).

Candida parapsilosis'in yalancı hif boyunca tek tek veya bazen küçük kümeler yapacak biçimde dizilmiş blastokonidyumlar, arada iri hiflerin bulunması (dev hücreler) çok önemli bir özelliğidir (2, 15).

C. krusei yalancı hifler ve uzun 'ağaca benzer' dizilim gösteren blastokonidyumlar oluşturur (2, 15).

Candida glabrata küçük, oval ve uçlarından tomurcuklanan blastokonidyumlar yapar ancak yalancı hif oluşturmaz (2, 15)

C. kefyr (pseudotropicalis) de yalancı hifler ve uzun blastokonidyumlar görülür. Blastokonidyumlar çoğu kez yalancı hiften ayrılıp birbirine koştur bir dizilim (ırmakta yüzen kütük dizileri) gösterirler (2, 15).

Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin ayırımında kullanılan morfolojik özelliklerin yanı sıra; türlerin kesin tanısı şeker fermentasyon ve asimilasyonu gibi biyokimyasal testlerle konulur (2, 15).

2.4. Epidemiyoloji

Candida türleri toprak, yiyecekler, su ve bitkiler gibi çevresel örneklerden izole edilebilse de bu türlerle oluşan infeksiyonların çoğu endojen kaynaklıdır. Hastaların çoğu önce infeksiyon oluşturan suşla kolonize olurlar ve bunu infeksiyon takip eder. Ancak, *C. parapsilosis* ile oluşan infeksiyonlar kolonizasyon olmadan ekzojen kaynaklı olabilmektedir. Bu şekilde intravenöz infüzyonlarla ilişkili *C. parapsilosis* salgınları gelişebilmektedir. Yenidoğanlardaki *Candida* infeksiyonları genellikle ekzojen kaynaklıdır. Bununla birlikte hastanenin diğer bölümlerinde tek bir *C. albicans* suşunun yayılımı ile oluşan nozokomiyal infeksiyonlar bildirilmektedir (1, 9, 13).

Konak popülasyonunun özelliklerine göre oluşan *Candida* infeksiyonunun tipi de değişebilmektedir. İmmün sistemi sağlam konaklarda *Candida* infeksiyonları deride ve vajende görülmektedir. Hücresel immün yanıtı bozuk kişilerde, diyabet hastaları ve geniş spektrumlu antibakteriyel ilaç kullanan kişilerde ise orofaringeal mukokütanöz kandidiazis daha sıktır. *Candida* türleri ile oluşan dolaşım sistemi ve solid organ infeksiyonları sıklıkla yanıklı, operasyon geçirmiş, immün yetmezlikli hastalarda gözlenmektedir. Bu hasta grubunda kandidemi ve derin doku infeksiyonları ile ilişkili spesifik risk faktörleri; intravenöz kateter, parenteral beslenme, geniş spektrumlu antibakteriyel ve uzun süreli nötropeniye yol açan yoğun kemoterapötik rejimlerin kullanılmasıdır (1, 2, 13).

Candida türleri normal insan florasında bulunduğu için infeksiyonları coğrafik dağılım göstermez (1). Son yıllarda yeni tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile kemik iliği nakli ve organ transplantasyonlarının artması, kemoterapötik ilaçların daha sık kullanılması, immünsüpresif hastaların sayısını artırmıştır. Travma ve yanık gibi spesifik ünitelerin geliştirilmesi, invaziv monitörize

cihazların kullanımının artması, total parenteral beslenme (TPN) uygulanması, geniş etki spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması mortalite oranını azaltmasına karşın, fırsatçı mantar infeksiyonlarının görülme sıklığını artırmıştır (19, 20) İmmünsüpresif hastalar, düşük virulansa sahip mantarlar ya da non patojenik ajanlar tarafından oluşturulan nozokomiyal infeksiyonlara duyarlıdır. Fungal infeksiyonlar; bu hastalarda sıklıkla ciddi, hızlı ilerleyen, tanı ve tedavisi zor infeksiyonlardır (21, 22, 23, 24).

Üniversite ve kamu hastanelerinde, kanser araştırma merkezlerinde hastane infeksiyonları etkenleri arasında mantarlar, 1980-1990 yılları arasında daha sık rapor edilmeye başlanmıştır (21, 23, 25, 26) Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ve National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS)'in raporlarında, 1990 yılı başlarında %0.2'den %0.4'e artan oranlarda nozokomiyal fungal infeksiyonlar bildirilmiştir (5, 18). *C. albicans* insidansı nozokomiyal fungal infeksiyonlarında orantısız olarak artarak 1992'de tüm nozokomiyal patojenler arasında yedinci sırada yer almıştır. *C. albicans*'ın en sık oluşturduğu hastane infeksiyonları; idrar yolu infeksiyonları, bakteremi, sepsis ve pnömonidir. *C. albicans* hastane kaynaklı idrar yolu infeksiyonlarından izole edilen tüm patojenler arasında da dördüncü sırada yer almaktadır (21, 27).

C. albicans, kandidozlardan en sık izole edilen türdür. Diğer sık izole edilen türler ise *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* ve *Candida lusitanae*'dir (9, 28, 29). Kandidemi nozokomiyal invaziv fungal infeksiyonlara, pyelonefrit, peritonit, artrit, hepatosplenik apse, pnömoni, makronodüler lezyonlar, osteomyelit, endoftalmit, menenjit, endokardit yapabilirler (21, 23, 24, 25).

Sağlıklı bireylerde kandidüri nadir görülür. Buna karşılık mantarların neden olduğu idrar yolları infeksiyonlarının ve özellikle kandidürilerin insidansı, hastanede yatan veya ayaktan kateterizasyon uygulanan hastalarda artmaktadır (8, 30, 31). Kandidüri prevalansı özellikle yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) yatan hastalarda yüksektir (30, 32). Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastaların idrar örneklerinden en sık izole edilen mikrobiyal patojen *Candida* türleridir (30).

Diyabetli (DM) hastalarda, idrar yolu infeksiyonu (İYE) riski yüksektir ve önemli etkenlerden biri de mantarlardır (33, 34). Diyabetli kadınlarda vulvovestibuler bölgenin kandida kolonizasyonu, glikozüri, bozuk fagositik aktivite ve nörojenik mesanede idrar stazı fungal invazyonu artırmaktadır. Candida türleri normal yetişkinlerin %30'unda GIS de kolonize olmasına karşın, geniş spektrumlu antibiyotik alımıyla bu oran %100'e çıkmaktadır. Sistemik antibiyotik kullanımı, Candida türlerinin proliferasyon ve virulansı etkilemekte, endojen bakteriyel florayı baskılayarak, alt üriner sistem ve üretral meatusta Candida türlerinin kolonizasyonuna neden olmaktadır (30, 35). Üriner kateterizasyon, kolonizasyon açısından risk faktörüdür (30, 36)

Kandidüri için diğer risk faktörleri; yaş, kadın cinsiyeti, immünsüpresif ilaç kullanımı, intravenöz katater, herhangi bir sebeple idrar akışının kesintiye uğraması, idrar stazı, pelvik radyoterapi, genitoüriner tüberküloz, kortikosteroid kullanımı, nötropeni, ciddi yanıklar, AIDS, organ transplantasyonları v b dir (2, 20, 30, 34, 35, 37). Kandidürilerin %50'sinde *C. albicans*, %25'inde *C. glabrata* etkindir. Üçüncü sıklıkta *C. tropicalis* gelmektedir. İki veya daha fazla tür %5 hastada eş zamanlı etken olabilir (38, 39). Kandidürilerde en sık etken *C. albicans* olmakla birlikte, diğer vücut bölgelerindeki Candida enfeksiyonlarına göre non *C. albicans* türlerinin de idrar yolu enfeksiyonlarına sıklıkla yol açabildiği epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir. İdrar içeriğindeki bazı bileşimler ve pH, non *C. albicans* türleri için zemin hazırlamakta, kandidüriler sıklıkla bir bakteriüriyle beraber bulunmaktadır (30)

Nozokomiyal kandidozları önleyebilmek için infeksiyonun endojen ya da ekzojen kaynaklı olup olmadığının belirlenmesi gerekir (21, 40). Endojen infeksiyon kaynakları arasında en sık gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem, deri ve oral mukoza kolonizasyonu sayılabilir. Aynı hastada floradan ve infeksiyon bölgesinden izole edilen Candida suşlarının DNA yapıları, moleküler yöntemlerle incelenerek identik oldukları gösterilmiştir. Kemik iliği transplant hastaları ve hematoloji-onkoloji hastalarında genellikle endojen kaynaklı infeksiyonlar gelişir. Bu hastalara, antifungal profilaksi başlanmalı ve bu bölümlerde rutin sürveyans çalışmaları yapılmalıdır. Yanık üniteleri ve yoğun bakımlardaki nozokomiyal kandidozlarda esas geçiş yolunun fiziksel şartlara bağlı

olarak ekzojen olduğu düşünülmektedir. Kontamine sıvılar, biyomedikal aletler, sağlık personelinin el temizliği ve çevre temizliği nozokomiyal infeksiyonlar açısından çok önemlidir. En sık ekzojen kaynaklı nozokomiyal kandidoz etkenleri *C. albicans* ve *C. parapsilosis* iken; *C. glabrata* ve *C. krusei* genellikle endojen kaynaklı infeksiyonlara neden olmaktadır. Moleküler yöntemler ile infekte hastaların örneklerinden tip tayini yapılarak infeksiyon kaynakları gösterilebilmektedir (21, 40).

2.5. Virulans Faktörleri

Klinik ve hayvan çalışmaları farklı *Candida* türlerinin virulanslarında önemli ayrılıklar olduğunu göstermiştir. Virulans faktörleri; adezyon molekülleri, maya formundan hif formuna hızla değişebilme yeteneği, hidrolitik enzimlerin üretimi (asid proteaz, fosfolipaz salgılanması), fenotipik değişim, kromozomal-antijenik değişimler ve toksin üretimidir (12, 41, 42, 43, 44).

Adezyon molekülleri; epitel hücreleri, endotel hücreleri, ekstrasellüler matriks ve plastik yüzeylere tutunmayı sağlamaktadır. *C. albicans* suşlarının tutunma yeteneği en fazla iken bunu *C. tropicalis* ve *C. krusei* izlemektedir. *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. kefyr* suşlarının adezyon yetenekleri daha zayıftır. Fibronektin, laminin reseptörleri, fibrinojen bağlayan protein, mannoprotein ve adezin adezyon molekülleri *C. albicans* ve diğer birçok tür, maya formundan hif formuna geçebilmektedir. Hif formu tutunma ve invazyonu artırmaktadır. Örneğin *C. glabrata*'nın hif formunun olmaması virulansını azaltmaktadır (12, 44).

Fenotipik değişim, mantarın genotipinde değişim olmadan koloni görüntüsünün değişimidir. Fenotipik değişikliklerin invaziv infeksiyon yapan kökenlerde, kommensal kökenlere göre daha sık olduğu ve kökenin invazyon için optimal olan fenotipi seçtiği saptanmıştır. Tekrarlayan *C. albicans* vaginitlerinde kolonilerin fenotipik değişime uğradığı bildirilmiştir. Bu özellik *C. glabrata* suşlarında da görülebilmektedir (12, 44).

C. albicans tarafından oluşturulan fosfolipaz ve proteinaz gibi hidrolitik enzimler mantarın invazyon yeteneğini artırdığı bilinmektedir. Bu enzimler diğer türlerde pek araştırılmamıştır (12, 44).

Patogeneizde tek bir virulans faktörü değil birden fazla faktör birlikte rol oynamaktadır (45, 46).

2.6. Patogeneiz

Candida türleri normal koşullarda, GİS başta olmak üzere, normal floralarda bulunduğundan infeksiyonları çoğu kez endojen kaynaklıdır. İnfeksiyondan önce florada bulunan mantar türleri genellikle sayıca bir artış göstererek kolonizasyon oluşturur. Kolonizasyonu sıklıkla infeksiyon izler (2).

Kandidozlar, yüzeysel ve derin infeksiyonlar olarak iki grupta incelenebilirler. Yüzeysel kandidozlar deri ve mukozaların, derin kandidozlar ise iç organ ve dokuların mantar infeksiyonlarıdır. Yüzeysel kandidozlarda Candida türleri deri veya mukozadaki bir çatlaktan yalancı hifleri ile doku içine girer, yalancı hifler ve bunlardan tomurcuklanma ile oluşan blastokonidyumları ile dokuya yayılır. Derin veya sistemik kandidozlarda çoğu kez önce gastrointestinal kanalda bir kolonizasyon vardır. Gastrointestinal mukozayı geçerek veya başka yolla kana geçebilen mantar türleri, fagositik etkinliği yetersiz olan hastalarda her organ veya dokuya yerleşerek mikroapseler oluşturabilmektedir. Histolojik yanıt granülomatöz yangıdır (2, 9)

İnsan için kommensal olan bir mikroorganizmanın patojenite kazanabilmesi için konak savunma mekanizmalarında bozukluk olması gerekmektedir. Bu bozukluk doğal ya da iatrojenik olarak oluşabilmektedir. Diyabette doğal olarak konak savunması bozulmuş olup, bu kişiler kandidiazis için aday kişilerdir (44, 46).

Candida infeksiyonlarında, özellikle de yaygın kandidiazis olgularında en önemli predispozan faktörler iatrojeniktir. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı GİS başta olmak üzere normal bakteriyel florayı baskılayarak Candida türlerinin çoğalmasını sağlar. İntravenöz uyuşturucu ve hiperalbuminasyon sıvılarının kullanımı, polietilen kateterlerin uygulanması Candida türlerinin çevreden dolaşım sistemine giriş yolunu oluşturmaktadır. Kalp kapakları, yapay kalp gibi prostetik materyallerin implantasyonu Candida infeksiyon insidansında artışa neden olmaktadır. Çok sayıda batın ameliyatı geçirilmesi, renal transplantasyon, neoplastik hastalıklar, steroid kullanımı ve ciddi yanık vakalarında genel bir immünsüpresyon bulunmaktadır. Bu hastalarda sıklıkla

antibiyotik, hiperalimentasyon sıvı tedavisi ve diğer tedavi yaklaşımlarının birlikte uygulanması nedeniyle bu hastalar Candida infeksiyonlarına açık hale gelmektedirler (2, 9, 44, 46).

Candida türlerine karşı konak savunma mekanizmaları kapsamlı olarak araştırılmıştır. Sağlam deri, kutanöz kandidiazise direnci sağlayan önemli bir bariyerdir. Derideki maserasyon, travma, oklüzyon, yanık gibi membran bütünlüğünü bozan olaylar sağlam bireylerde de lezyonlu bölgeyi Candida invazyonuna duyarlı hale getirirler (47).

Mantar dermisi invaze ettiğinde ya da dolaşım sistemine girdiğinde polimorfonüveli lökositler (PNL) psödohipleri hasarlayarak ve fagosite ederek, blastosporları öldürerek savunmada rol alırlar. Monosit ve eozinofiller de Candida türlerini fagosite etme ve öldürme yeteneğindedirler. Monositlerin öldürme kapasiteleri invitro şartlarda PNL'lerden daha etkilidir. Nötrofil ve monositlerdeki miyeloperoksidaz, hidrojen peroksit veya süperoksit anyon sistemi fagosite edilen *C. albicans* ın öldürülmesinde en önemli mekanizmadır. Doku makrofajlarının da konak savunmasında rolleri vardır (9).

Başta CD4+ hücreleri olmak üzere hücresel bağışıklık mukokütanöz kandidozun kontrolünde önemlidir. Sistemik kandidoza dirençte nötrofil etkinliğinin en önemli faktör olduğu düşünülmektedir (2).

C. albicans infeksiyonlarında kısa sürede antikor yanıtı oluşmasına karşın, oluşan antikorların koruyucu rolü olup olmadığı açıklık kazanmamıştır. Spesifik antikorların koruyucu rolünün olmadığını gösteren çalışmalar olduğu gibi, bu antikorların deneysel sistemik ve vaginal *C. albicans* infeksiyonlarında koruyucu rolünün olduğunu bildiren çalışmalar da vardır. Ancak klinik deneyimler B lenfosit defekti olan bireylerin *C. albicans* infeksiyonlarına karşı duyarlılıklarının artmadığını göstermektedir (2, 44, 46).

Candida türleri alt üriner sisteme kolonize olup alt veya üst üriner sistem infeksiyonları oluşturabilmektedir. Üst üriner sistem infeksiyonu sıklıkla assendan yolla oluşmasına karşın hematogen yolla da meydana gelebilmektedir (2).

2.7. Klinik

Candida türleri, “ kandidoz” adı verilen yüzeysel veya derin enfeksiyonlar oluştururlar. Yüzeysel kandidozlar deri ve mukozaların, derin kandidozlar ise iç organ ve sistemlerin enfeksiyonlarıdır. Sistemik kandidozlarda konaktaki risk faktörleri çok önemlidir (2). Candida enfeksiyonlarında risk faktörleri Çizelge 2.2’de, yüzeysel ve derin kandidoz tipleri Çizelge 2.3’te gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Yüzeysel ve derin Candida enfeksiyonlarında risk faktörleri (2).

Candida Enfeksiyonlarında Risk Faktörleri

-
- İmmünsüpresif ve sitotoksik ilaçlar
 - Geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi
 - İntravenöz kateterler
 - Düşük doğum ağırlığı
 - AIDS
 - Diyabet
 - İlaç bağımlılığı
 - Hücresel immün yetmezlikler
 - Nötropeni
 - Organ transplantasyonları
 - Gastrointestinal sistem ve kalp ameliyatları
 - Ciddi yanıklar
 - Malnütrisyon
 - Total parenteral nütrisyon
 - Derinin maserasyonu
 - Kronik yatağa bağlayıcı hastalıklar
-

Kandidüri riski; yaşlı kişilerde, diyabetli hastalarda, üriner kateteri olan, çoklu ve uzun süre antibiyotik tedavisi, kortikosteroid, kemoterapi alan hastalarda, hematolojik veya solid organ maligniteleri olan hastalarda, kateterizasyon ve IPN uygulananlarda, nötropenik, YBÜ’nde yatan, yanıklı, malnütrisyonlu, hemodiyaliz hastalarında artmaktadır (2, 21, 48, 49, 50, 51,52).

Çizelge 2.3. Yüzeyel ve derin kandidoz tipleri (1).
Candida İnfeksiyonlarının Klinik Şekilleri

Yüzeyel Kandidoz Tipleri

- Kutanöz infeksiyon
- Kronik mukokutanöz infeksiyon
- Onikomikoz
- Orofaringeal infeksiyon
- Vulvovaginit
- Keratit
- Konjonktivit

Derin Kandidoz Tipleri

Lokal Yerleşim

- Özefajit
- Gastrointestinal kandidoz
- Üriner sistem infeksiyonları
(üreterde mantar topu, sistit, renal abse, pyelit)
- Peritonit/ intra abdominal infeksiyon

Hematojen yolla yayılan infeksiyonlar

- Kandidemi
 - Kronik yaygın kandidoz
 - Süpüratif flebit
 - Endokardit
 - Menenjit
 - Endoftalmit
 - Artrit
 - Osteomiyelit
-

2.7.1. Yüzeyel Kandidozlar

Deri Kandidozu

Derinin nemli ve kıvrımlı bölgelerinde, yanma hissi ve kaşıntı ile başlayarak vezikülopüstüler lezyonlar, maserasyon ve fissürler oluşturabilir (1, 2)

Kronik Mukokutanöz Kandidoz

Genellikle erken çocukluk döneminde başlayan, hücrel immün yetmezlik ve endokrinopatilerle ilişkili bir hastalıktır (1, 9, 44)

Onikomikoz

Candida türlerinin tırnaklarda renk değişikliği, kalınlaşma, tırnak kaybı ile karakterli lezyonlar oluşturarak yaptıkları infeksiyonlardır. Hastalığın oluşumunda nem faktörü çok önemli olduğundan elleri uzun süre suya maruz kalan kişilerde daha sık görülür (2).

Orofaringeal Kandidoz

Dudaklar, dil, damak, dişetleri, yanak mukozasında beyaz, ayrı ayrı küçük, katman oluşturmuş lezyonlar şeklindedir. Orofaringeal kandidoz, HIV ile infekte hastalarda en yaygın görülen mantar infeksiyonudur (44).

Vulvovaginal Kandidoz

Candida türleri, vulvovaginitlerin en sık rastlanan etkenleri arasındadır. Vulvovaginal kandidoz gelişiminde hormonal değişiklikler rol alır. Hastalarda en yaygın semptomlar, beyaz renkli akıntı, kaşıntı, yanma hissi ve dispareni'dir. Infekte kişilerin eşleri ile tedavi görmeleri önemlidir (44).

Oküler Kandidoz

Candida türlerinin gözdeki en ciddi ve yaygın infeksiyonu endoftalmittir. Primer infeksiyonları travma ve cerrahi ile, sekonder infeksiyonları candidemiye bağlı gelişebilir. Candida keratiti ve keratokonjonktiviti çok yaygın olmayan, yüzeysel infeksiyonlardır (9).

2.7.2. Derin Kandidozlar

Özefajit

Candida özefajitine genellikle immünsüprese hastalar ve AIDS olgularında rastlanır. Asemptomatik veya substernal bölgede yanma hissi, epigastriumda ağrı gibi semptomlarla belirebilir. Tipik özofagoskopi bulgusu olarak beyaz mukozal plakların, mukozal ülserasyonların görülmesidir (1, 9).

Gastrointestinal Kandidoz

Peptik ülser, malignitelerin komplikasyonu olarak mukozal gastrit ve duodenal kandidiazis görülebilir (1).

Peritonit ve İntraabdominal Apse

Candida peritonitleri, karın ameliyatları özellikle barsak ameliyatları sonrasında, periton dializi uygulanan hastalarda, immünsüprese hastalarda karın ağrısı, bulantı, kusma gibi semptomlarla seyreden infeksiyonlardır (1)

Candida Endokarditi

Fungal endokarditlerin sıklıkla nedenleri arasında Candida türleri yer alır Risk faktörleri arasında kalp ameliyatları, prostetik kalp kapakları, santral venöz kateterler ve intravenöz ilaç kullanımı sayılabilir (1).

Candida Menenjit

Candida türlerinin, santral sinir sistemi infeksiyonları çok az görülür Bu infeksiyonlar içinde en sık menenjit yaparlar. Diğer klinik bulgular arasında mikotik anevrizma ve beyin abseleri yer alır. Santral venöz sistem infeksiyonları, ventriküloperitoneal şantlar, yakın zamanda beyin ameliyatı geçirme öyküsü, hematolojik maligniteler risk faktörleri arasında sayılabilir. Candida menenjitleri prematüre infantlarda sıklıkla görülür (9)

Artrit

Yaygın kandidozun sık görülen bir komplikasyonudur. Prostetik ve romatoid eklemler Candida infeksiyonlarına daha yatkındır. Etken sıklıkla *C. albicans* dışı Candida türleridir (1, 9)

Osteomyelit

Candida osteomyelitinde hematogen yoldan yayılım sonucu vertebralar, intervertebral diskler, bilek, femur, humerus, servikal omurlar, kostakondral eklemler ve skapula enfekte olur. Kandideminin geç komplikasyonudur. Kan kültürleri genellikle negatif olup radyoloji bulguları yol gösterici değildir. Tanı; perkütan ince iğne aspirasyon biyopsisi ile konmaktadır (1, 9).

Yaygın Kandidoz ve Kandidemi

Kandidemi; kanda Candida türlerinin bulunması, yaygın kandidoz ise Candida türlerinin çeşitli organ ve dokulara giderek yerleşmesi ile ortaya çıkan ve

olguların %30-50'sinde kan kültürlerinde pozitif sonuç alınan bir tablodur. Lösemik hastalarda vücudun birçok bölgesinde kandida kolonizasyonunun olması yaygın kandidiazis için risktir. Septisemilerin %10-15'i Candida türlerine bağlıdır. İnvaziv Candida infeksiyonları yüksek mortalite ve morbidite riski taşırlar (1).

Solunum Sistemi Kandidozu

Candida türleri solunum sisteminde yüksek oranda kolonize olduklarından, balgam veya endotrakeal kültürlerin tanısal değeri düşüktür. Candida pnömonileri endobronşiyal yerleşim sonucu lokal ya da diffüz bronkopnömoni, hematojen yolla yayılım sonucunda da her iki akciğerde yaygın nodüler infiltratlar oluşturabilirler. Klinik tablo ve radyolojik bulgular spesifik olmadığından tanıda en güvenilir yöntem akciğer dokusunun histolojik olarak incelenmesidir (1).

Üriner Sistem Kandidozu

Candida türleri alt üriner sisteme kolonize olarak alt ve üst üriner sistem infeksiyonlarına yol açabilmektedir. Alt üriner sistem infeksiyonu olan hastaların çoğunda semptomatik olarak sık sık ve ağrılı idrar yapma olduğundan mikrobiyolojik inceleme yapmaksızın bakteriyel infeksiyonlardan ayırt etmek mümkün olamamaktadır (1, 8).

Üst üriner sistem infeksiyonları hematojen yolla oluşabileceği gibi genellikle alt üriner sistem infeksiyonunun assendan yolla yayılımı ile oluşmaktadır. Perinefrik apseler, papiller nekroz, mikroapseler ve mantar topu Candida türlerinin etken olduğu üst üriner sistem infeksiyonlarının belirtilerindendir (1, 8, 9).

Candida türleri ile oluşan üriner infeksiyonlar genellikle üriner kateter uygulanan hastalarda görülmektedir. Diyabet ve geniş spektrumlu antibiyotik veya immünsüpresif ilaç kullanımı diğer risk faktörleridir. Mantarlara bağlı üriner sistem infeksiyonlarının en sık sebebi Candida türleridir. Üriner sistem infeksiyonlarında en sık etken *C. albicans* türüdür (1).

Kandidürinin saptanması her zaman idrar yolu infeksiyonunu göstermemektedir. Kontaminasyon, asemptomatik kolonizasyon, lokalize alt veya üst üriner sistem infeksiyonu veya yaygın kandidiazis sonucu kandidüri oluşabilmektedir. İdrar kültüründe Candida türleri izole edildiğinde hastanın semptomları, fizik muayene bulguları, altta yatan hastalığı, üriner kateter varlığı

ya da invaziv girişim öyküsünün olup olmadığı gibi risk faktörlerini de içeren klinik tablo ile birlikte değerlendirilmelidir. Candida türlerine bağlı üriner sistem infeksiyonlarında bakteriyel infeksiyonlarda olduğu gibi idrardaki koloni sayısı ile infeksiyon oluşumu arasında korelasyon bulunmamaktadır. Bu nedenle infeksiyon olarak değerlendirilecek spesifik sınır değer de bulunmamaktadır. Gerçek infeksiyonu değerlendirmek için ilk olarak kateter varsa değiştirilmeli ve idrarın biyokimyasal incelemesi ile birlikte kültürü tekrarlanmalıdır. Hastaya genitoüriner girişim uygulanmışsa, hasta üriner obstrüksiyon veya diğer yapısal anomaliler ile yaygın kandidiazis açısından değerlendirilmelidir (1, 8, 9, 30, 41).

Yenidoğanlar, nötropenik hastalar veya semptomatik olgular, renal transplantasyon yapılmış ve genitoüriner sisteme girişim yapılacak hastalarda kandidüri saptandığında mutlaka tedavi edilmelidir (30, 41).

2.8. Tanı

Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı, klinik örneklerin mikroskopik incelenmesi ve kültürden mantar türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu ile konulur (2)

Yüzeyel mantar infeksiyonlarının tanısı için deri ve tırnak kazıntı örnekleri ile mukozalardan alınan sürüntü örnekleri, derin/ sistemik kandidoz tanısında kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), balgam, idrar, doku biyopsi örnekleri ve damar içi katater uçları incelenmektedir (2)

2.8.1. Örneklerin Laboratuvara Transportu

Klinik örnekler laboratuvara iki saat içinde ulaştırılmalıdır. Gecikme durumunda steril bölgelerden alınan örnekler 37°C'de, flora ile kontamine bölgelerden alınan örnekler +4°C'de saklanmalıdır. Bakteriyel ve mikolojik örnekler benzer şekilde işlemlerden geçirilerek, özel besiyerlerine ekimleri yapılmaktadır (13, 17).

2.8.2. Mikroskopik Tanı

Mantar infeksiyonlarının laboratuvar tanısında ilk adım örneklerin direkt incelenmesidir. Direkt inceleme ile dokuda tomurcuk yapmış mayaların, psöдохif ve hif yapılarının gösterilmesi infeksiyonun Candida türleri veya maya benzeri mantarlarca oluştuğunun göstergesidir. Tomurcuklanan maya hücreleri, dallanan

psödohifler, septa ve septalardan çıkan oval blastosporlar patojenik *Candida* türlerinin çoğunda bulunduğundan bu özelliklerine göre tür ayrımı yapmak mümkün değildir. Ancak *C. glabrata*, diğer *Candida* türlerinden daha küçük olması ve hif veya psödohif oluşturmaması nedeniyle direkt inceleme ile türlerden ayrılabilir (17).

Direkt inceleme için uygun örnekler; deriden veya mukokutanöz lezyonlardan alınan kazıntı örnekleri, derin dokulardan alınan biyopsi örnekleri, santrifüj edilmemiş veya edilmiş idrar, BOS sedimentleridir (1, 13, 17).

Klinik örneklerin nativ mikroskopik incelenmesi sonucu maya hücreleri görülebilir. Hif yapıları, %15'lik KOH solüsyonu ile 5-10 dakikada epitel yapılarının ayrılması ile daha iyi görülür. Floresan mikroskobu ile incelemede kalkoflor beyazı kullanılarak hazırlanmış boyalı preparatlar, nativ preparatlardan daha iyi kontrast oluşturmaları nedeniyle tanıyı kolaylaştırır (1). Sitolojik örneklerin gram boyası ile boyanması organizmaların mikroskopik tanısı için iyi bir yöntemdir. Kandidemi vakalarında kan yaymalarının Gram veya Giemsa (Wright) boyama yöntemi ile boyanması sonucunda maya hücrelerinin gösterilmesi ile tanı konur. Histolojik yaymaların Gomori Metanamin Gümüş boyası ile boyanarak mikroskopik incelenmesi en duyarlı yöntemdir. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyası mantar histopatolojisinin incelenmesinde en yaygın kullanılan boyalardan biridir. Mantar hücre duvarındaki polisakkaritleri boyar (1, 12, 53).

2.8.3. Kültür

İnfeksiyonun kesin tanısı kültür yöntemleri ile konur. Risk faktörleri olan hastalarda, gastrointestinal, ürogenital, solunum sistemi gibi *Candida* kolonizasyonunun sık olduğu bölgelerden *Candida* türlerinin izolasyonunda ve infeksiyon tanısını koymak zordur. Boğaz sürüntüsü, balgam, trakea, bronş sıvıları, gastrik sıvı ve dışkı örneklerinden üreyen *Candida* türleri klinik olarak her zaman anlamlı olmayabilir. Periton, BOS, eklem sıvısı, derin doku biyopsilerinden özellikle immünsüprese hastalarda *Candida* türlerinin izolasyonu çok önemlidir ve her zaman anlamlı kabul edilir. Kandan *Candida* türlerinin izolasyonu mutlaka yaygın infeksiyon varlığını göstermez, ancak önemli infeksiyon bulgusudur (1, 2).

Maya mantarlarının izolasyon ve identifikasyonu için SDA, kloramfenikol ve gentamisin eklenmiş SDA ve BHI besiyerlerine ekim yapılır. Aerobik ortamda 37°C'de 48-72 saat inkübe edilir. Candida türleri beyaz-krem rengi, düzgün, tipik maya kokulu koloniler oluştururlar. Tek kolonilerden pasajlar yapılarak saf kültürler elde edilir ve identifikasyon işlemlerine geçilir (2, 13).

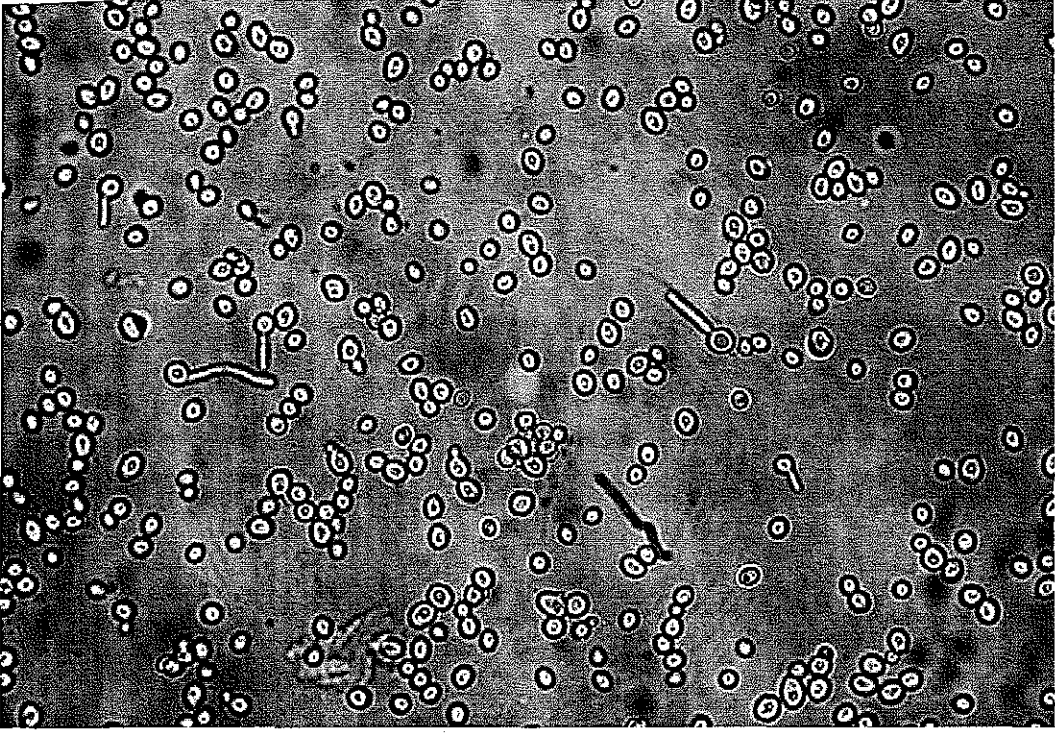
2.8.4. Germ Tüp Testi

C. albicans tanısında ilk basamakta kullanılan basit, hızlı sonuç veren değerli bir testir. *C. albicans* izolatlarının %90'ından fazlası serumda 37°C'de 2-3 saat inkübe edildiklerinde germ tüp oluşturmaktadırlar (Şekil 2 1). Maya hücrelerinden oluşan ve kısa bir hif başlangıcı olan germ tüpler, septumlarında boğumlanmanın olmamasıyla yalancı hiflerden ayrılabilen gerçek hiflerdir. Tüm *C. albicans* suşlarının germ tüp oluşturmaması ve yalancı pozitif sonuçların alınabilmesi nedeniyle germ tüpü pozitif bulunan suşlar *C. albicans* ön tanısı alır (12, 13, 16). İnokulum miktarı ve inkübasyon süresi germ tüp testi sonucunu etkileyen parametrelerdir. Germ tüp oluşma derecesi, inokulumun ml'sinde 10^5 - 10^6 maya hücresi bulunduğunda en yüksek düzeyde gerçekleşmekte, hücre konsantrasyonu arttıkça da germ tüp formasyonu azalmaktadır. İnokulum, dört saatin üzerinde inkübe edildiğinde, diğer Candida türlerinin oluşturduğu kısa psödohifler germ tüp gibi değerlendirilebileceğinden yalancı pozitiflikler artmaktadır (54) Yalancı pozitif sonuçlar genellikle *C. tropicalis* ile alınır ve *C. tropicalis* suşlarının oluşturduğu gerçek hif değil, psödohif başlangıcıdır. *C. albicans* dışında *C. dubliniensis* suşları da germ tüp testi pozitifdir (12, 13, 16).

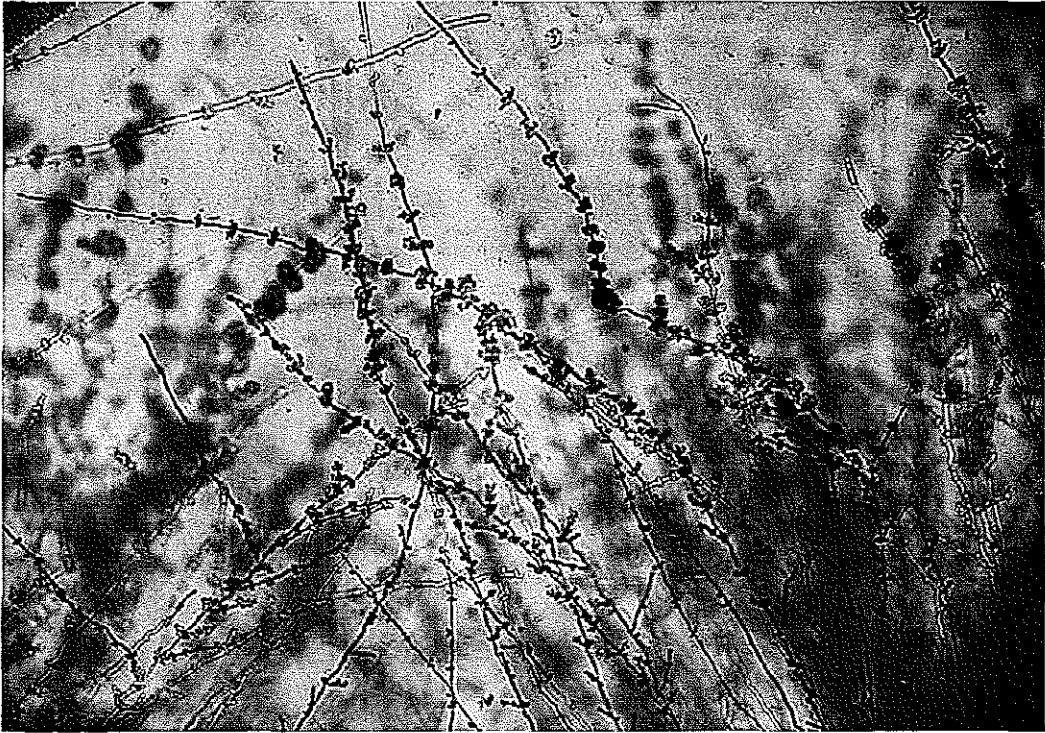
2.8.5. Morfolojik Özelliklerin Araştırılması

Candida türlerinin morfolojik özelliklerini belirlemek amacıyla mısırunu-Tween 80 Agar, Corn Meal Agar besiyerleri kullanılır. Bu besiyerlerinde Candida türlerinin klamidospor, psödohif, blastokonidyum oluşturma özellikleri saptanır. Blastokonidyumların psödohif boyunca dizilimlerine göre tür ayrımları yapılır. *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* türlerinin Corn Meal Agar besiyerlerindeki morfolojik görünimleri Şekil 2.2, Şekil 2.3, Şekil 2 4, Şekil 2.5 ve Şekil 2 6'da gösterilmiştir. Ancak türlerin kesin tanısı şeker fermentasyon ve asimilasyon deneyleri ile konur (2, 13).

Şekil 2. 1. Germ tüp oluşumunun mikroskopik görüntüsü (x40).



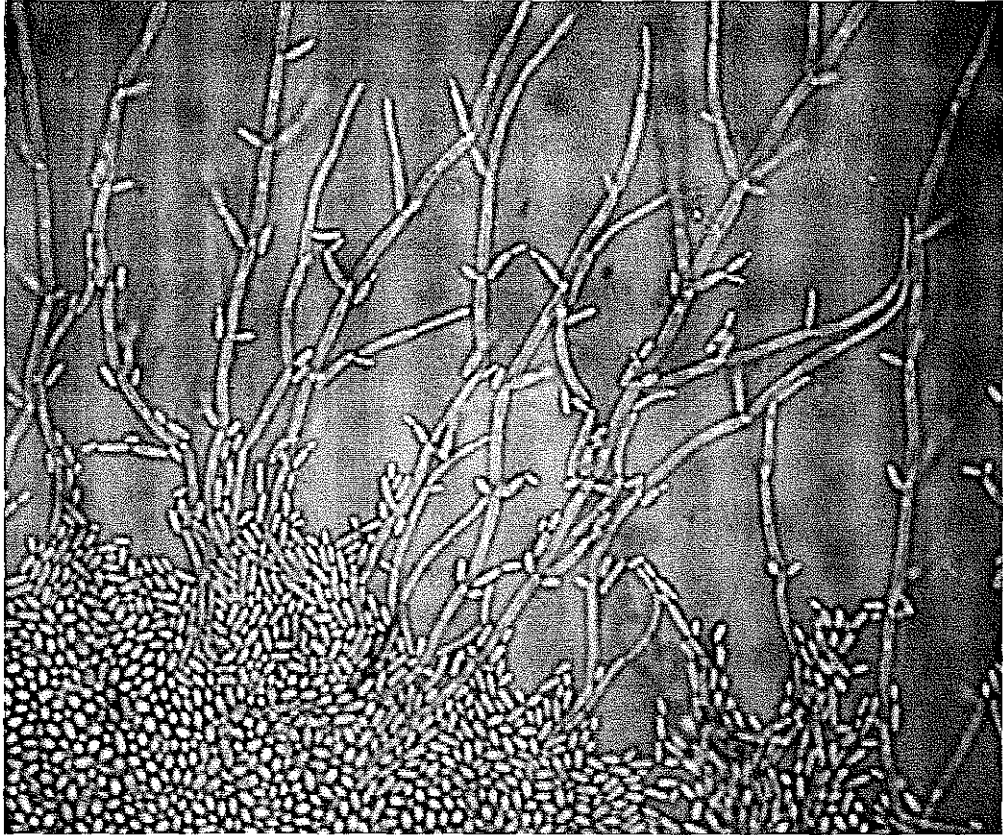
Şekil 2. 2. *C. albicans*'ın Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).



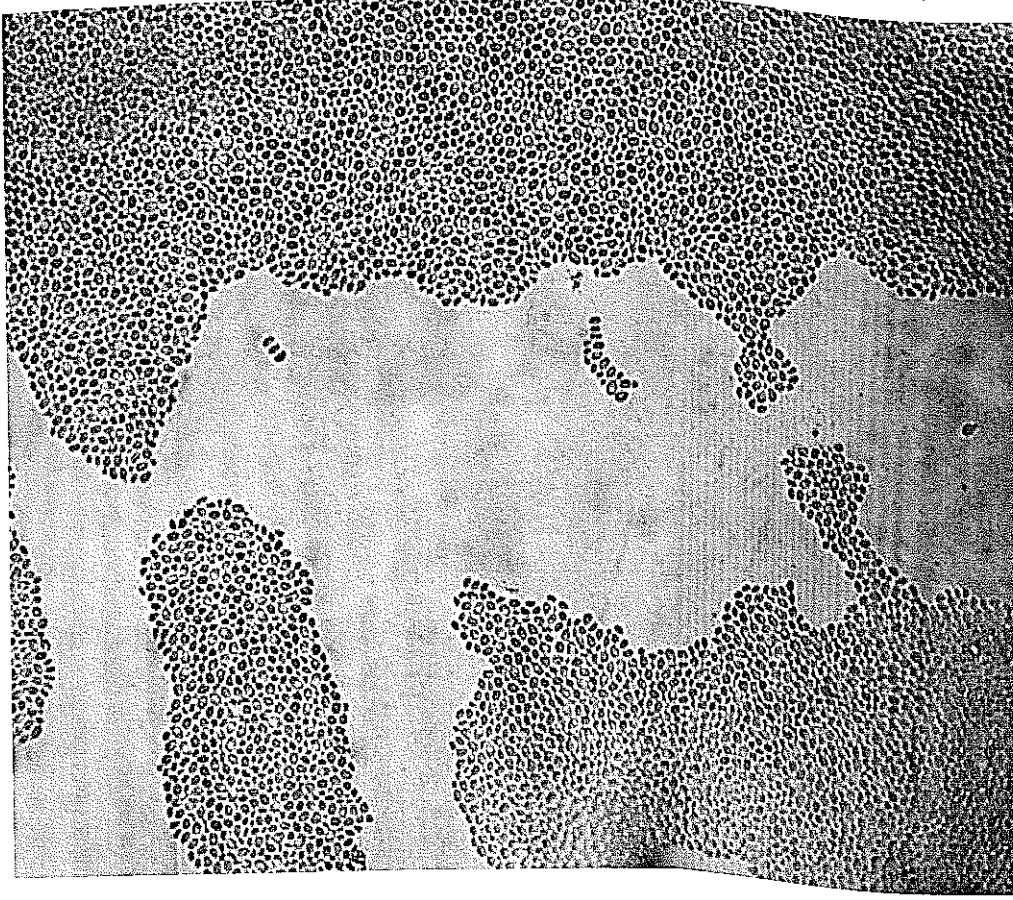
Şekil 2. 3. *C. tropicalis*'in Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).



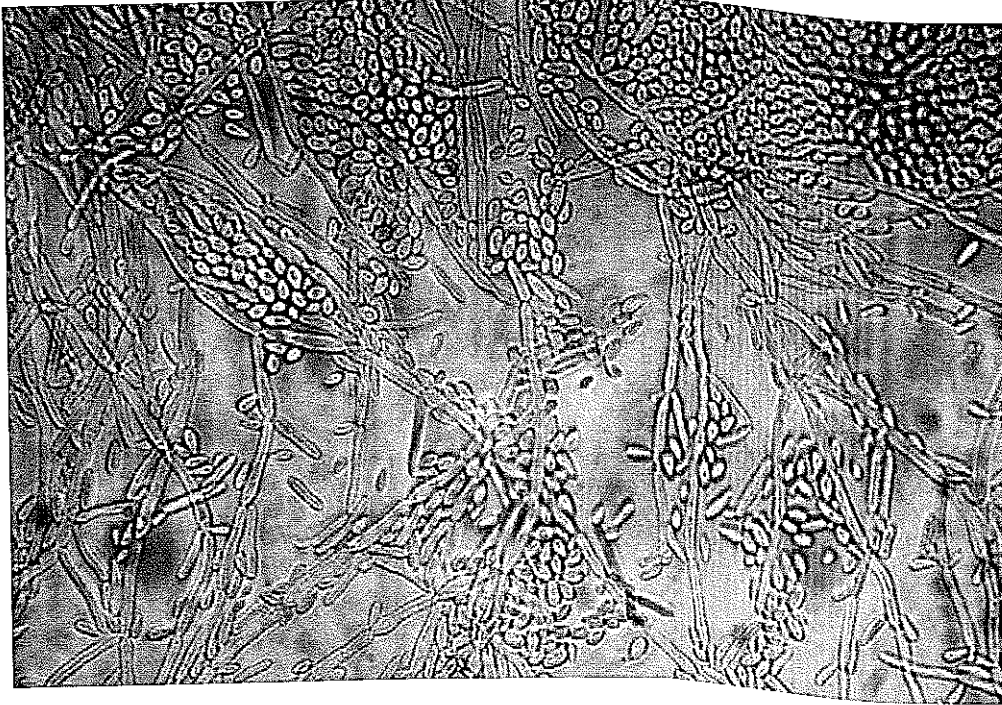
Şekil 2. 4. *C. krusei*'nin Corn Meal Agarda mikroskopik görüntüsü (x40).



Şekil 2. 5. *C. glabrata*'nın Corn Meal Agarda mikroskobik görüntüsü (x40).



Şekil 2. 6. *C. guilliermondii*'nin Corn Meal Agarda mikroskobik görüntüsü (x40).



2.8.6. Üreaz Testi

Mayaların üreaz enzimi ile üreyi hidrolize edebilme yeteneğini saptar. Üreaz enzimi ile üreden açığa çıkan amonyağın neden olduğu alkali pH, renk indikatörünü pembeye dönüştürür. Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinden *C. krusei*, *Candida lipolytica* dışındaki türler üreaz negatif olup besiyerinin rengini değiştirmez (12, 13).

2.8.7. Karbonhidrat Fermentasyon ve Asimilasyon Testleri

Asimilasyon testleri; mayaların oksijen varlığında karbon kaynağı olarak spesifik karbonhidratları kullanabilme yeteneklerine, fermentasyon testleri ise fermentatif mayaların karbondioksit ve alkol üretmeleri sonucu gaz oluşturmaları esasına dayanır. Maya identifikasyonunda uzun zaman aldıkları için rutin laboratuvarlarda kullanılmamaktadır (1, 10). Mayaların hızlı identifikasyonu için temeli karbonhidrat asimilasyon testlerine dayanan çok sayıda ticari identifikasyon sistemleri bulunmaktadır. Yaygın kullanımı olan bu sistemler, klinikte sıkça görülen türlerin identifikasyonunda kesin ve hızlı sonuçlar verdiğinden tercih edilmektedir (1).

API ID 32C (bioMérieux, Fransa); asimilasyon testlerinin kullanıldığı, standardize, özel hazırlanmış veri tabanlı bir identifikasyon sistemidir. Striplerin her biri dehidrate karbonhidrat maddesi içeren 32 kuyucuktan oluşmuştur. Organizmanın süspansiyonu hazırlanarak kimyasal içeriği bilinen yarı katı besiyerine inoküle edilir 24-48 saatlik inkübasyondan sonra her kuyucuktaki reaksiyon API sisteminde otomatize olarak değerlendirilir (1). *Candida* türlerinin asimilasyon ve fermentasyon testleri Çizelge 2.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Bazı önemli Candida türlerinin biyokimyasal özellikleri (2, 13).

Türler	ASİMİLASYON												FERMENTASYON						
	Glukoz	Maltoz	Sukroz	Laktoz	Galaktoz	Melibioz	Sellobioz	İnositol	Ksiloz	Rafinoz	Trehaloz	Dulsitol	Glukoz	Maltoz	Sukroz	Laktoz	Galaktoz	Trehaloz	Üreaz
<i>C. albicans</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	F	-	-	F	F	-
<i>C. dubliniensis</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	F	-	-	F	F	-
<i>C. famata</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	W	-	W	-	-	W	-
<i>C. glabrata</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	F	-	-	-	-	F	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	F	-	F	-	F	F	-
<i>C. kefyr</i>	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	F	-	F	F	F	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	-	+
<i>C. lipolytica</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. lusitaniae</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	-	F	-	F	F	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	F	F	-	F	F	-

F şekerleri fermente eder

W şekerleri zayıf fermente eder.

2.8.8. Serolojik Testler

Fungal serolojik testler genellikle kültür ve histopatolojik bulguları destekleyici özelliktedirler. Serolojik testler için serum, idrar, BOS gibi vücut sıvılarının aseptik koşullarda, uygun dönemde toplanması ve uygun şartlarda laboratuvara ulaştırılması gereklidir (55).

Antijen Saptanması

Candida infeksiyonlarının serolojik tanısında, özellikle immünsüprese hastalar, Candida antijenlerine karşı antikor yanıtı üretmekte yetersiz kalacağından, mantar antijenlerinin saptanması daha uygundur. Spesifik antijenleri göstererek tanıyı sağlamak yüksek derecede özgül ama duyarlılığı düşüktür. Kandidoz tanısında kullanılan belirteçler arasında mannan, β glukan, kitin gibi Candida hücre duvarı antijenleri, özellikle D-arabinitol olmak üzere Candida metabolitleri, Candida enolazının 48 kDa protein antijeni gibi sitoplazmik antijenler vardır (55).

Antikor Saptanması

Candida infeksiyonlarının tanısında antikor saptanmasının değeri sınırlıdır. Sağlıklı bireylerde florada bulunan Candida türlerine karşı antikorların olması yalancı pozitif sonuçlara neden olmaktadır. Ancak son yıllarda özgül antijenlere karşı oluşan antikorların antijen ile birlikte saptanmasının tanıda değerli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu amaçla sitoplazmik antijenlere, hücre duvarı mannan antijenine ve germ tüp antijenine karşı oluşan antikorlar araştırılır (55).

2.8.9. Moleküler Tanı Yöntemleri

Mantar infeksiyonlarının öneminin artmasıyla etken mantarın tanımı, tür tayinleri ve tiplendirilmeleri amacıyla moleküler tanı yöntemleri hızla önem kazanmıştır (13, 56).

Günümüzde moleküler yöntemlerin rutin laboratuvarında maya identifikasyonunda yaygın kullanılmamasına karşın Restriction Enzyme Analysis (REA), türe spesifik proplarla hibridizasyon, Pulsed Field Gel Elektroforezi (PFGE), Polimeraz Zincir Tepkimesi (PZT veya PCR) ve dizi analizi gibi

tekniklerin uygulandığı çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Her bir yöntemin duyarlılık, özgüllük, tekrarlanabilirlik, maliyet veya cihaz gerektirmesi gibi farklı kısıtlılıklarının olmasına karşın, konvansiyonel yöntemlerle doğru identifikasyonun yapılamadığı veya besiyerinde yeterince üretilmeyen suşlarda kullanılabilecek yöntemlerdir (13, 56).

2.9. Candida İnfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungal İlaçlar

Mantarlar insan hücresine benzerlik gösteren ökaryot hücre yapısındadırlar. Mantar infeksiyonlarının insidansının artmasıyla oral veya parenteral kullanılabilen yeni antifungal ilaçlar geliştirilmiş ve bazı mantar türleri için antifungal duyarlılık deneyleri standardize edilmiştir (57)

Antifungal ilaçlar kimyasal yapılarına göre poliyenler, pirimidin türevi, azoller ve ayrıca topikal kullanılan antifungaller olarak sınıflandırılır (57)

2.9.1. Poliyen Makrolid Grubu Antifungaller

Amfoterisin B

Sistemik antifungaller içinde günümüzde en etkili ajandır. Aerobik aktinomiçes olan *Streptomyces nodosus* suşundan elde edilen, makrosiklik poliyen grubu antifungaldir (1, 57, 58). Amfoterisin B, bir ucunda hidrofilik polihidroksil zinciri, diğer ucunda ise lipofilik poliyen hidrokarbon zinciri içeren amfoterik bir bileşiktir (58, 59).

Amfoterisin B, mantar hücre zarındaki ergosterole (yapısal sterol) bağlanıp porlar oluşturarak zarın geçirgenliğini artırır. Böylece hücre içindeki makromoleküller (K^+ , Mg^{+2} , glikoz, metabolitler) hücre dışına sızar ve hücre ölümü meydana gelir (58, 59, 60). Amfoterisin B'nin mantar hücre zarında oksidatif zedelenmeye de yol açtığı kabul edilmektedir. İn vivo antioksidan etkiye sahip olduğu saptanmıştır (57, 58, 61). Oral yoldan alındığında absorbe olmaz, bu nedenle sistemik kandidozda intravenöz uygulanmalıdır. BOS'a geçişi zor olup santral sinir sistemi infeksiyonlarında intratekal verilmelidir. Esas olarak böbrekler ve safra yolu ile atılır (59).

Amfoterisin B'nin başlıca yan etkileri nefrotoksisite ve hipokalemidir. Amfoterisin B'nin lipid formulasyonları geliştirilerek nefrotoksik etkileri azaltılmıştır. Lipozomal amfoterisin B (AmBisome[®], Nexstar Pharmaceuticals,

San Dimas, Calif.), amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC® veya Abelcet®, Liposome Co., Princeton, N.I.), amfoterisin B kolloidal dispersiyonu (Amphocil veya Amphotec, Sequus Pharmaceuticals, Menlo Park, Calif.) gibi farmakolojik üretim şekilleri bulunmaktadır (58, 59, 62). İnvaziv kandidiazis, kriptokokal enfeksiyon, aspergillozis tedavisinde kullanılır. Bununla beraber *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. krusei* gibi bazı türlerin amfoterisin B'ye duyarlılığı azdır (58, 59)

Nistatin

Streptomyces noursei'den elde edilen poliyen grubunda topikal etkili bir antifungaldir (63).

2.9.2. Azol Grubu Antifungaller

Azoller, sitokrom P450 aracılığı ile lanosterolden ergosterol sentezi için gerekli C-14 α demetilaz enzimini inhibe ederler. Bu enzimin inhibisyonu sonucunda ergosterol azalır ve hücrede metillenmiş sterollerin birikimiyle birlikte hücre zarına bağlı işlevler bozulur (57)

Flukonazol

Flukonazol suda kolay çözünen, oral iyi emilen sentetik triazol bileşigidir. Plazma proteinlerine az bağlanması nedeniyle tüm vücut dokularına dağılır. Özellikle kandidiazis tedavisinde geniş kullanım alanına sahiptir. Kronik supresif tedavi gören özellikle transplant hastalarında kullanılan oral ve parenteral formları vardır. BOS'a kolay geçtiğinden kriptokokal menenjitli AIDS hastalarında kullanımı tercih edilir (57, 58, 59).

Candida türleri ve *Cryptococcus neoformans* enfeksiyonlarında çok yaygın kullanılan bir antifungaldir. *C. krusei* flukonazole dirençli (58, 64) *C. glabrata* suşları doza bağlı duyarlılık gösterirler (58, 65). *C. tropicalis*, *Candida norvegensis*, *C. dubliniensis* ve *Candida inconspicua* genellikle yüksek flukonazol minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerine sahiptirler (58, 66, 67).

Uzun süre flukonazol profilaksisi yapılan özellikle AIDS hastalarında *C. albicans* izolatlarında flukonazol direnci görülmektedir (58, 68). Flukonazol genellikle iyi tolere edilir. En sık görülen yan etkisi bulantıdır. Allerjik reaksiyonlar, anjiyoödem, trombositopeni ve alopesi gözlenmektedir (1, 58).

İtrakonazol

Geniş antifungal etki spektrumuna sahip bir triazoldür. Flukonazole dirençli *C. krusei*, *C. glabrata* gibi Candida türleri ve *C. neoformans*, Aspergillus türlerine etkilidir. BOS'a zor geçer, ağız ve vagina kandidozunda oral kapsülleri etkilidir. Büyük oranda karaciğerde metabolize olur. En sık yan etkileri hipokalemi, parestezi, ödem ve hipertansiyondur (58, 59)

Ketokonazol

Sentetik imidazol bileşiği olup kronik mukokutanöz kandidozun tedavisinde oral, deri mikozlarının tedavisinde ise topikal preparatları kullanılır (1).

2.9.3. Alilaminler ve Tiyokarbamatlar

Antifungal etkilerini ergosterol biyosentezindeki skualen epoksidaz enzimini inhibe ederek gösterirler (57).

2.9.4. Morfolinler

Ergosterol biyosentezi yolunun sterol 14 reduktaz ve 7-8 izomerazı inhibe ederek etki gösterirler (57).

2.9.5. Nükleik Asit İnhibitörü

Flusitozin (5-Florositozin)

Florlanmış bir primidin olup DNA sentezinde etkin timidilat sentetazın özgül inhibitörü olarak etki gösterir (57).

2.9.6. Griseofulvin

Mantar hücresinin mikrotubuler proteinlerine bağlanıp mitozu önleyerek ve ayrıca nükleik asit sentezini engelleyerek etki gösterir (57).

2.9.7. Yeni Antifungaller

Vorikonazol

Azoller arasında yer alan vorikonazol (UK-109,496, Vfend®, Pfizer Pharm.) mantar hücre membranına etki eder. Geniş etki spektrumlu olup, maya türlerinin yanı sıra Aspergillus türlerine de etkilidir. Oral ve intravenöz formu vardır (69, 70, 71) Atılımı karaciğerde metabolik yolla olmaktadır. Vorikonazol

genellikle iyi tolere edilir. Biyoyararlanımı ve vücutta dağılımı iyidir. Yan etki olarak görme bozukluğu yapabilir (60, 72, 73).

Ekinokandinler

Ekinokandin türevleri, lipopeptid yapısında ve geniş spektrumlu antifungal aktiviteye sahiptirler MK-0991 (Caspofungin®, Cancidas, Merck Research Lab.), anidulafungin (VER-002 ve LY303366, Eli Lilly Pharmaceuticals), mikafungin (FK463, Fujisawa Healthcare Inc.) bu grup içindedir (59, 74).

Glukan sentezini inhibe ederek fungal hücre duvar sentezini durdururlar. Genellikle ekinokandinler doza bağımlı farmakolojik özellikler gösterirler. Oral biyoyararlanımları sınırlıdır. Elimizdeki veriler kandidiazis ve aspergillozisteki etkilerinin iyi olduğunu göstermektedir. Kronik aspergillozis tedavisinde kaspo fungin kullanımı Amerika'da yeni onaylanmıştır. Kaspo fungin orofaringeal ve özefagial kandidiaziste de uygun aktiviteye sahiptir. Benzer şekilde mikafunginin de özefagial kandidiazis tedavisinde etkinliği kanıtlanmıştır (75, 76).

Ekinokandinler minimal toksisitesi olan genellikle güvenli terapötik ajanlardır. Bugüne kadar ciddi yan etkileri bildirilmemiştir. Ateş, bulantı, kusma, kaspo fungin tedavisi sırasında oluşabilir (58, 59, 75, 76)

Kaspo fungin duyarlılığı NCCLS referans yöntem kullanılarak saptanmaktadır. Ancak bu yöntem ekinokandinler için standardize edilmemiştir, sınır değerleri saptanmamış ve in vitro çalışmalar ile klinik yanıt ilişkisi belirlenememiştir (74).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastaların Belirlenmesi

Araştırmamızın türü; tanımlayıcı ve metodolojik olup, Mart 2003-Mayıs 2004 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde servis ve yoğun bakımlarda yatan hastaların idrar örneklerinden *Candida* suşları izole edildiğinde; Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından CDC'nin kriterlerine göre nozokomiyal enfeksiyonlar belirlendi ve bu enfeksiyonlara neden olan izolatlar alınarak araştırma evreni oluşturuldu (77). Evren içinden bir yıl boyunca hastanede yatan tüm hastaların ilk 100 tanesi seçilerek örneklem oluşturuldu ve çalışmamız örneklemini oluşturan izolatlarda yapıldı. İstatistiksel analiz için veriler; nozokomiyal kandidüri oluşumu için risk faktörleri ve hastaların tanımlayıcı özellikleri göz önüne alınarak, her hasta için ayrı anket formu doldurularak toplandı (Ek 1).

3.2. Candida Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu

Hastalardan alınan idrar örnekleri laboratuvarımızda kanlı agar, Mac Conkey agar ve SDA besiyerlerine ekilerek 37°C'de inkübe edildi. Üreyen koloniler Gram boyası ile boyanarak mikroskopik inceleme ile Gram pozitif maya hücreleri belirlendi ve ait oldukları kolonilerden SDA besiyerine saf kültür elde etmek amacıyla pasajları yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. İdrar kültürlerinde maya üremesi olan foley kateterli hastaların kateterleri çıkarılıp, idrar kültürleri tekrarlandı. Üreyen kolonilerden yeniden pasaj yapılarak saf kültürler elde edildi.

Saf kültürlerden germ tüp testi, üreaz testi yapıldı ve Corn Meal Agar besiyerinde morfolojik özelliklerine göre üremeleri değerlendirildi. API ID 32C (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon özelliklerine göre identifikasyon yapıldı.

3.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyonda Kullanılan Boya, Besiyeri ve Diğer Sistemlerin İçerikleri ve Hazırlanış Yöntemleri Aşağıda Belirtilmiştir:

1) SDA Besiyeri

Çalışmamızda *Candida* türlerinin izolasyonu ve saf kültürleri, mantarların izole edilmesinde kullanılan, SDA (OXOID, İngiltere) seçici besiyerinde yapıldı.

İçeriği: gram / litre (g/L)

Mikolojik pepton	10 g
Glukoz	40 g
Agar	15 g
Distile su	1 L
pH	5.6 ± 0.2

Uygulanışı: Toz besiyeri distile su içinde eritilerek 121°C'de 15 dakika sterilize edildi Besiyerine 50°C'de geniş spektrumlu antibiyotik eklenerek plaklara dağıtıldı.

SDA besiyerinde üreyen kolonilerden hazırlanan preparatlar Gram yöntemiyle boyandı

2) Gram Boyama

Boyama işleminde kullanılan maddeler:

Kristal viyole eriyiği (Crystal violet solution, Sigma)

Lugol eriyiği (Gram's iodine solution, Sigma)

%96'lık etil alkol

Safranin eriyiği (Safranin O solution, Sigma)'dir.

Uygulanışı: Gram boyama için, kurumuş preparat alevden geçirilerek tespit edildi, üzerine kristal viyole dökülüp bir dakika bekledikten sonra preparat eğilerek boya uzaklaştırıldı. Sonra lugol dökülüp bir dakika beklendi. Tekrar boya uzaklaştırıldıktan sonra preparat üzerine %96'lık etil alkol döküldü, tüm preparat yüzeyinin alkolle teması sağlandıktan sonra preparat musluk suyu ile yıkandı. Bu işlem mor boya akmayıncaya kadar 2-3 defa tekrarlandı. Son yıkama işleminden sonra preparat üzerine safranin dökülerek, 30 saniye beklendi. Preparat, musluk suyu altında yıkandıktan sonra kurumaya bırakıldı (78). Hazırlanan preparatlar mikroskopun x100'lük objektifinde incelenerek, Gram pozitif maya morfolojisinde mantar hücreleri araştırıldı.

3) Üreaz Testi

Üre agar (OXOID, İngiltere) besiyerinde Candida türlerinin üreaz aktiviteleri değerlendirildi.

İçeriği: gram / litre (g/L)

Pepton	1 g
NaCl	5 g
KH ₂ PO ₄	0.8 g
Na ₂ PO ₄	1.2 g
D-Glukoz	1 g
Fenol kırmızısı	12 mg
Agar	15 g
Distile su	1 L
pH	6.8±0.2

Uygulanışı: Toz besiyeri distile su içinde eritilerek, otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Besiyerine 50-55°C'de iken 5 ml steril %40 üre eriyiği eklendi. Besiyerinin pH'ı 6.8'e ayarlanarak tüplere dağıtıldı.

Saf kültürlerden maya hücreleri alınıp besiyerinin yüzeyine ekilerek 35°C'de 48-72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerinin rengini pembeye dönüştürenler üreaz pozitif, besiyerinde değişiklik oluşturmayanlar üreaz negatif olarak değerlendirildi.

4) Germ Tüp Testi

Uygulanışı: Steril bir özeyle saf kültürlerden maya hücreleri alındı. Oda ısısında 0.3-0.5 ml fetal dana, sıgır, tavşan veya insan serumu içeren tüp içinde süspanse edilerek 37°C'de 2.5-3 saat inkübe edildi. Öze ile bu serum kültüründen bir damla alınarak temiz bir lam üzerine konup ve üzeri lamelle kapatıldı. Mikroskopun küçük büyütmesi (x10 objektif) ile hücre grupları bulunarak büyük büyütme (x40 objektif) ile germ tüp varlığı açısından incelendi (54).

5) Corn Meal Agar Besiyeri

Mayaları morfolojik özelliklerine göre değerlendirip identifiye edebilmek için Corn Meal Agar (OXOID, İngiltere) besiyeri kullanıldı.

İçeriği: (g/L)

Corn Meal Ekstresi	2.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1 L

Uygulanışı: Toz besiyeri distile su içinde eritilerek, 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra plaklara döküldü

Morfolojik özelliklerin incelenmesi için, Dalmau plak tekniği (Corn Meal Agar lam kültürü) kullanıldı: İğne öze ile saf kültürden agar besiyeri yüzeyine 2 cm uzunluğunda ince çizgi ekimler yapıldı. Çizgi ekimin orta kısmına alevde steril edilmiş ve soğutulmuş bir lamel (22x22 mm) yerleştirilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Plak kapağı kaldırıldıktan sonra mikroskop tablasına yerleştirilerek lamel kaplı alan incelendi. Küçük büyütme objektif (x10) kullanılarak blastokonidyumların hif boyunca dizilim özellikleri ve klamidospore oluşumu araştırılarak Candida türleri tanımlandı (2).

6) API ID 32C (bioMérieux, Fransa) Sistemi

Hızlı identifikasyon yöntemlerinden biri olan API ID 32C (bioMérieux, Fransa) sistemi kullanıldı

API ID 32C (bioMérieux, Fransa) sisteminde kullanılan besiyerinin içeriği:

Suspension Medium	Distile su	
C Medium	Amonyum sülfat	5 g
	Monopotasyum fosfat	0.31 g
	Dipotasyum fosfat	0.45 g
	Disodyum fosfat	0.92 g
	Sodyum klorid	0.1 g
	Kalsiyum klorid	0.005 g
	Magnezyum sülfat	0.2 g
	Histidin	0.005 g
	Triptofan	0.02 g
	Metiyonin	0.02 g
	Agar	0.5 g
	Vitamin solüsyonu	1 ml
	Eser elementler	10 ml
	Distile su	1000 ml

Uygulanışı : Testin uygulanmasında üretici firmanın önerileri dikkate alındı. SDA besiyerinde 24-48 saatlik inkübasyondan sonra üreyen kolonilerden

Suspension Medium ya da 2 ml steril distile su içinde, McFarland 2 bulanıklığında süspansiyonlar hazırlandı. Bir ampul C Medium açılarak içine 250 µl hazırlanan süspansiyondan aktarıldı. Bu karışım, her kuyucukta 135 µl olacak şekilde ID 32C stripine dağıtıldı. Stripin kapağı kapatılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda miniAPI (bioMérieux, Fransa) cihazında değerlendirildi.

API ID 32C (bioMérieux, Fransa) sisteminde kullanılan strip kuyucuklarında yer alan maddeler:

0.0 SOR SORbitol	1.0 GAL GALactose
0.1 XYL D-XYLose	1.1 ACT ACTidione
0.2 RIB RIBose	1.2 SAC Sucrose
0.3 GLY GLYcerol	1.3 NAG N-acetyl-Glucosamine
0.4 RHA RHAmnose	1.4 LAT DL-LacTate
0.5 PLE PaLatinosE	1.5 ARA L-ARABinose
0.6 ERY ERYthritol	1.6 CEL CELlobiose
0.7 MEL MELibiose	1.7 RAF RAFfinose
0.8 GRT GlucoRonaTe	1.8 MAL MALtose
0.9 MLZ MeLeZitose	1.9 IRE IREhalose
0.A GNT GlucoNaTe	1.A 2KG 2-Keto-Gluconate
0.B LVI LeVulinaTE	1.B MDG α-Methyl-D-Glucoside
0.C GLU GLUcose	1.C MAN MANnitrol
0.D SBE SorBosE	1.D LAC LACtose
0.E GLN GlucosamiNe	1.E INO INOsitrol
0.F ESC ESCulin	1.F 0 Kontrol

Kontrol suşları olarak ATCC 90028 *C. albicans*, ATCC 90018 *C. parapsilosis*, ATCC 6258 *C. krusei* kullanıldı.

3.3. Antifungal Duyarlılık Testleri

Tanımlanan tüm *Candida* türlerinin amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungin antifungallerine direnç özellikleri NCCLS'in önerdiği sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile; amfoterisin B, flukonazol, itraconazol ve vorikonazol antifungallerine direnç özellikleri ise E-test yöntemi ile araştırıldı. Amfoterisin B,

flukonazol, vorikonazol antifungallerine karşı her iki yöntemle elde edilen MİK değerleri karşılaştırıldı. NCCLS'in önerdiği sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 48 saat sonunda değerlendirilen MİK değerleri referans alındı (79)

Tanımlar:

Fungal hastane infeksiyonu; hastaneye yatış sırasında var olmayan veya kuluçka süresi içinde bulunmayan, hastaneye yatıştan 48-72 saat sonra başlayan infeksiyon olarak tanımlanabilir (5).

Antifungallere duyarlı; uygun antifungal dozu kullanıldığında yüksek olasılıkla hastanın tedaviye yanıt vereceğini gösterir (4).

Antifungallere doza bağlı duyarlı; antifungal ilaç yüksek dozda güvenli kullanılabiliyor ve infeksiyon bölgesinde yüksek konsantrasyonda bulunuyorsa tedaviye yanıt verebileceğini gösterir (4).

Antifungallere dirençli; tedavinin o antifungal ile başarısız olacağını gösterir (4).

$\pm 1\text{-log}_2$ dilüsyon; ± 1 dilüsyon sınırları içinde bulunan MİK değerlerini gösterir (80, 81).

$\pm 2\text{ log}_2$ dilüsyon; ± 2 dilüsyon sınırları içinde bulunan MİK değerlerini gösterir (80, 81).

Küçük hata; karşılaştırılan yöntemlerden biriyle doza bağımlı duyarlı saptanan suşun diğer yöntemle duyarlı veya dirençli olarak saptandığını göstermektedir (82).

Büyük hata; referans yöntemle duyarlı olarak saptanan suşun test edilen yöntemle dirençli olarak saptandığını gösterir (82)

Çok büyük hata; referans yöntemle dirençli olarak saptanan suşun test edilen yöntemle duyarlı olarak saptandığını gösterir (82).

3.3.1. E-Test Yöntemi

E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) yönteminin uygulanmasında üretici firmanın önerileri dikkate alındı. Besiyeri olarak; sodyum bikarbonatsız, L-glutaminli, 165 mM MOPS (morfolinopropan sülfonik asit) ilaveli ANGUS® (AB Biodisk, Solna, İsveç) RPMI 1640 agar besiyeri kullanıldı.

Besiyerinin hazırlanışı: ANGUS besiyeri 500 ml distile su içinde çözülerek 0.45 μm por çaplı filtrelerden geçirilerek steril edildi. Bacteriological agar

(OXOID, İngiltere) 7.5 g ve dextrose (OXOID, İngiltere) 10 g 500 ml distile su içinde çözülerek 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilmiş bu karışımlar birleştirilerek 90 mm çaplı plaklara dağıtıldı.

Testin yapılışı: Antifungal duyarlılığı araştırılacak *Candida* türlerinin SDA besiyerindeki 24 saatlik kültürlerinden, steril serum fizyolojik içinde 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlandı. Steril eküvyonlar ile besiyerinin tüm yüzeyi kaplanacak şekilde süspansiyonlardan yayma yapıldı. Besiyerinin yüzeyinin kuruması için plaklar en az 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra, amfoterisin B, flukonazol, itraconazol ve vorikonazol E-test stripleri, E-test aplikatörleri ile besiyerine yerleştirildi. Plaklar 37°C'de 24 ve 48 saat inkübe edildikten sonra sonuçlar değerlendirildi. Her çalışmada *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 90018, *C. krusei* ATCC 6258 kontrol suşları, test suşları ile birlikte çalışıldı.

E-test sonuçlarının değerlendirilmesi:

E-test striplerindeki konsantrasyon aralıkları:

Amfoterisin B 0.002-32 µg/ml

Flukonazol..... 0.016-256 µg/ml

İtraconazol 0.002-32 µg/ml

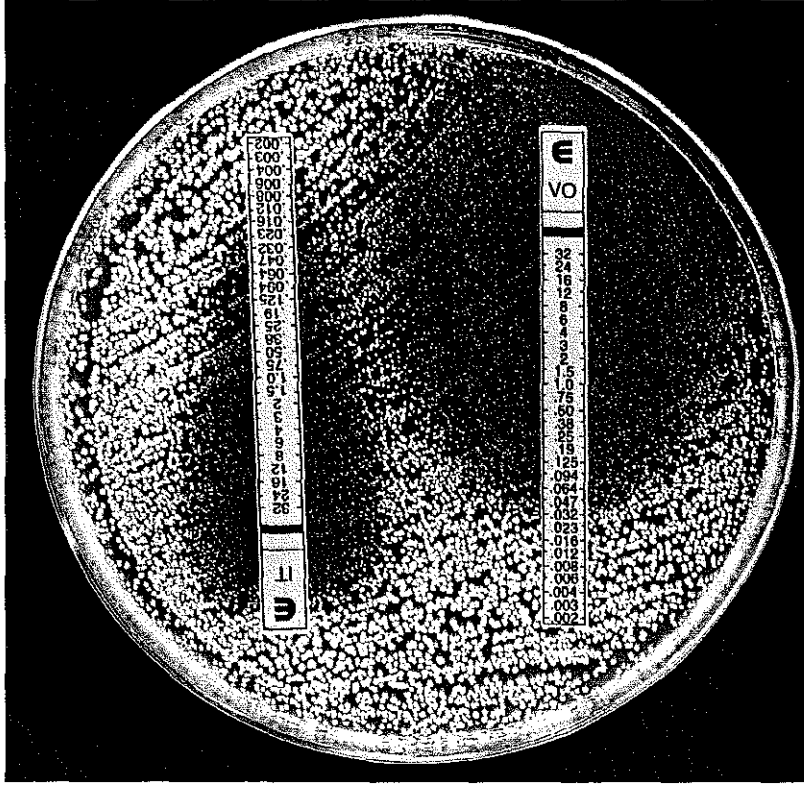
Vorikonazol. 0.002-32 µg/ml

a) Amfoterisin B E-test MİK sonuçlarının değerlendirilmesi; oluşan inhibisyon zonunun stripi kestiği noktadaki antifungal konsantrasyon değeri, araştırılan *Candida* türü için MİK değeri olarak kabul edildi. Kesim noktası iki konsantrasyon değerinin arasında kalıyorsa üstteki değer MİK değeri olarak alındı. Oluşan inhibisyon zonunun stripi kestiği bölge, keskin bir hat yerine yaygın görünümdeyse, MİK değeri olarak strip kenarında hiç üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon alındı.

b) Flukonazol, itraconazol, vorikonazol E-test MİK sonuçlarının değerlendirilmesi; azol grubu antifungallerle yapılan duyarlılık testlerinde bazen belli bir konsantrasyondan sonra belirgin azalan, ancak bütün ilaç konsantrasyonlarında devam eden üremeler gözlenebilir buna kısmi inhibisyon zonu (trailing endpoint) denilmektedir. Bu fenomen E-test yönteminde, sınırları belirgin eliptik inhibisyon zonu içinde yaygın üremiş mikrokoloniler şeklinde

görülür Çalışmamızda flukonazol, itraconazol ve vorikonazol duyarlılığı araştırılırken karşılaşılan kısmi inhibisyon durumlarında, mikrokoloniler dikkate alınmadan, oluşmuş belirgin eliptik inhibisyon zonunun stripi kestiği ilk nokta MİK değeri olarak kabul edildi (Şekil 3.1).

Şekil 3. 1. Candida türlerinde vorikonazol, itraconazol MİK değerlerinin E-test yöntemi ile saptanması



Flukonazol ve itraconazol için E-test yönteminde NCCLS tarafından belirlenmiş direnç sınır değerleri dikkate alındı. E-testler sonucunda MİK değerlerine göre Candida türleri flukonazol ve itraconazole “duyarlı”, “doza bağlı duyarlı” veya “dirençli” olarak nitelendirildi (Çizelge 3.1) (79). Amfoterisin B ve vorikonazol antifungallerinin E-test yöntemi ile saptanan MİK değerlerine yönelik standardize edilmiş duyarlılık sınırları belirlenmediği için, elde ettiğimiz sonuçlar NCCLS’in de dahil olduğu birçok çalışma sonuçları ile karşılaştırıldı. Antifungallerin MİK aralıkları, MİK₅₀ (suşların %50’sini inhibe eden konsantrasyon) ve MİK₉₀ (suşların %90’ını inhibe eden konsantrasyon) değerleri belirlendi.

Çizelge 3.1. Flukonazol ve itrakonazol antifungalleri için NCCLS tarafından belirlenen sınır değerleri

	S (µg/ml) (DUYARLI)	S-DD (µg/ml) (DOZA BAĞLI DUYARLI)	R (µg/ml) (DİRENÇLİ)
Flukonazol	≤ 8	16-32	≥ 64
İtrakonazol	≤ 0.125	0.25-0.5	≥ 1

Kaspofungin E-testi firmanın önerileri doğrultusunda henüz standardize edilmediğinden çalışmamıza alınmamıştır.

3.3.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Tüm Candida suşlarında, amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol, kaspofungin duyarlılıkları sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı. İtrakonazol etken toz maddesi ilgili firma tarafından temin edilemediği için, türlerin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile itrakonazole direnç özellikleri araştırılmadı. Yöntemin uygulanmasında NCCLS'in M27-A2 dökümanındaki önerileri dikkate alınarak sodyum bikarbonatsız, L-glutaminli RPMI 1640 (Sigma) besiyeri kullanıldı (79). Besiyerinin hazırlanması:

RPMI 1640 toz besiyeri	10 4g
MOPS (3-[N-Morpholino] propan sülfonik asit) (Sigma)	34.53 g
Distile su	900 ml

Toz halindeki RPMI 1640 besiyeri distile su içinde eritildi. Son konsantrasyonu 0.165 mol/L olacak şekilde MOPS (34.53 g/L) eklendi ve çözülünceye kadar karıştırıldı. Karıştırma işlemi devam ederken, 1 mol/L NaOH kullanılarak 25°C'de pH 7'ye ayarlandı. Distile su ile besiyeri hacmi bir litreye tamamlanarak 0.45 µm por çaplı filtrelerden geçirilerek steril edildi ve kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı. Toz halindeki besiyerinin içeriği Çizelge 3.2'de yer almaktadır.

Çizelge 3.2. RPMI 1640 besiyerinin içeriği.

Bileşen	g/L	Bileşen	g/L
L-arginin (serbest)	0.200	Biyotin	0.0002
L-asparjin (anhidro)	0.050	D-pantotenik asit	0.00025
L-aspartik asit	0.020	Kolin klorid	0.003
L-sistin . 2HCl	0.0652	Folik asit	0.001
L-glutamik asit	0.020	Myo-inositol	0.035
L-glutamin	0.300	Niasinamid	0.001
Glisin	0.010	PABA	0.001
L-histidin (serbest)	0.015	Pridoksin . HCl	0.001
L-hidroksiprolin	0.020	Riboflavin	0.0002
L-izolösin	0.050	Tiamin . HCl	0.001
L-lösin	0.050	Vitamin B12	0.000005
L-lizin . HCl	0.040	Kalsiyum nitrat . H ₂ O	0.100
L-metiyonin	0.015	Potasyum klorid	0.400
L-fenilalanin	0.015	Magnezyum sülfat (anhidro)	0.04884
L-prolin	0.020	Sodyum klorid	6.0
L-serin	0.030	Sodyum fosfat dibazik (anhidro)	0.800
L-treonin	0.020	D-glukoz	2.000
L-triptofan	0.005	Glutasyon (indirgenmiş)	0.001
L-tirozin . 2Na . 2H ₂ O	0.02883	Fenol kırmızısı . Na	0.0053
L-valin	0.020		

Antifungal ilaç solüsyonlarının hazırlanması: Aktivite değerleri belli olan amfoterisin B (Sigma, Almanya), flukonazol (Pfizer, ABD), vorikonazol (Pfizer, ABD) ve kaspofungin (Merck, Avustralya) aşağıdaki formüle göre hazırlandı

$$\text{Tartılacak miktar (mg)} = \frac{\text{Hacim (ml)} \times \text{İstenilen konsantrasyon } (\mu\text{g/ml})}{\text{Aktivite değeri } (\mu\text{g/mg})}$$

Antifungal	aktivite değeri (μg/mg)
Amfoterisin B	800
Flukonazol	1000
Vorikonazol	992
Kaspofungin	987

Antifungal ilaçların stok solüsyonlarının hazırlanması: Antifungal ilaçların stok solüsyonları su (flukonazol, kaspo fungin) veya dimetilsülfoksit (DMSO) (amfoterisin B, vorikonazol) içinde, testte kullanılacak en yüksek konsantrasyonun 10 katı (10x) olacak şekilde hazırlandı ve 0.45 μm por çapları olan membran filtrelerden geçirilerek steril edildi. Steril stok solüsyonları steril polipropilen şişelere dağıtılarak -70°C’de saklandı.

Flukonazol ve kaspo fungin için; stok ilaç solüsyonlarından, testte kullanılacak son konsantrasyonların 10 katı olacak şekilde test besiyerinde (RPMI besiyeri) iki kat seri sulandırım lar yapılarak 10x ilaç konsantrasyonları hazırlandı 10x ilaç konsantrasyonları test besiyeri ile 1/5 oranında sulandırılarak 2x ilaç son konsantrasyonları elde edildi (Çizelge 3.3)

Amfoterisin B ve vorikonazol için; stok ilaç solüsyonlarından testte kullanılacak son konsantrasyonların 100 katı olacak şekilde DMSO içinde iki kat seri sulandırım lar yapılarak ara konsantrasyon lar hazırlandı (100x ilaç konsantrasyonu) (Çizelge 3.4) (79).

100x ilaç konsantrasyonları test besiyeri (RPMI besiyeri) ile 1/10 oranında sulandırılarak ilaçların 10x konsantrasyonları elde edildi. İlaç konsantrasyonları (10x), test besiyeri ile 1/5 oranında sulandırılarak ilaç son konsantrasyonları (2x) elde edildi (79).

İnokulum hazırlanması; Candida türlerinin SDA’da 35°C’de kültürleri 24 saat inkübe edilerek, üreyen ≥1 mm çapındaki saf kolonilerden beş koloni

alınarak, 5 ml serum fizyolojik içine karıştırıldı. Onbeş saniye vortekslenerek 0.5 Mc Farland eşeline göre bulanıklık ayarı yapıldı. RPMI besiyerinde önce 1/50 sonra 1/20 olmak üzere toplam 1/1000 oranında dilüe edilerek 1×10^3 - 5×10^3 CFU/ml maya hücresi içeren 2x test inokulumu elde edildi (79).

Sıvı mikrodilüsyon testinin yapılışı: Steril 96 kuyucuklu mikrodilüsyon plaklarına 2x ilaç konsantrasyonlarından 100'er µl dağıtıldı. Üzerlerine 100'er µl 2x test inokulum süspansiyonları eklendi ve son inokulum konsantrasyonu 0.5×10^3 - 2.5×10^3 CFU/ml olarak elde edildi. Her suş için üreme kontrolü olarak, boş bir kuyucuğa 100 µl besiyeri ve 100 µl 2x test inokulum süspansiyonu eklendi. Besiyeri kontrolü olarak başka bir kuyucuğa da 200 µl besiyeri konuldu. Her çalışmada *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 90018, *C. krusei* ATCC 6258 kontrol suşları, test suşları ile birlikte çalışıldı. Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 24-48 saat inkübe edilerek değerlendirildi (79).

Çizelge 3.3. Flukonazol ve kaspofungin antifungallerinin çift kat dilüsyonlarının hazırlanması (79).

Basamak	Konsantrasyon (µg/ml)	Kaynak	Hacim+Besiye (ml) (ml)		Ara konsantrasyon (µg/ml)	Besiye ile 1/5 sulandırırda konsantrasyon (µg/ml)	Maya süspansiyonu ile plakta 1/2 sulandırırda konsantrasyon (µg/ml)
1	5120	Stok	1	7	640	128	64
2	640	1. basamak	1	1	320	64	32
3	640	1. basamak	1	3	160	32	16
4	160	3. basamak	1	1	80	16	8
5	160	3. basamak	0.5	1.5	40	8	4
6	160	3. basamak	0.5	3.5	20	4	2
7	20	6. basamak	1	1	10	2	1
8	20	6. basamak	0.5	1.5	5	1	0.5
9	20	6. basamak	0.5	3.5	2.5	0.5	0.25
10	25	9. basamak	1	1	1.25	0.25	0.125

Çizelge 3.4. Amfoterisin B ve vorikonazolün çift kat dilüsyonlarının hazırlanması (79).

Basamak	Konsantrasyon (µg/ml)	Kaynak	Hacim (ml) + Çözücü (ml) DMSO	Ara konsantrasyon (µg/ml)	Besiyeri ile 1/10 sulandırırmda konsantrasyon (µg/ml)	Besiyeri ile 1/5 sulandırırmda konsantrasyon (µg/ml)	Maya süspansiyonu ile plakta 1/2 sulandırırmda konsantrasyon (µg/ml)
1	1600	Stok	0.5 + 0.5	1600	160	32	16
2	1600	Stok	0.5 + 0.5	800	80	16	8
3	1600	Stok	0.5 + 0.5	400	40	8	4
4	1600	Stok	0.5 + 0.5	200	20	4	2
5	200	4.basamak	0.5 + 0.5	100	10	2	1
6	200	4.basamak	0.5 + 0.5	50	5	1	0.5
7	200	4.basamak	0.5 + 0.5	25	2.5	0.5	0.25
8	25	7.basamak	0.5 + 0.5	12.5	1.25	0.25	0.125
9	25	7.basamak	0.5 + 0.5	6.25	0.625	0.125	0.0625
10	25	7.basamak	0.5 + 0.5	3.13	0.313	0.0625	0.0313

Sıvı mikrodilüsyon test sonuçlarının değerlendirilmesi: Mikrodilüsyon plakları 37°C'de 24 ve 48 saat inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki bulanıklık; görsel olarak kontrol kuyucuğundaki bulanıklık ile karşılaştırıldı. Aşağıdaki skorlama sistemine göre değerlendirildi.

Bu sistemde;

0: Hiç bulanıklık görülmez

1: Hafif bulanıklık söz konusudur

2: Kontrole göre bulanıklıkta belirgin azalma vardır (%80 azalma).

3: Kontrole göre bulanıklıkta hafif azalma söz konusudur.

4: Kontrole göre bulanıklıkta azalma yoktur.

Amfoterisin B ve kaspofungin için 'skor 0'; flukonazol ve vorikonazol için 'skor 2' değerleri MİK değerleri olarak kabul edildi. Flukonazol ve vorikonazol sonuçları değerlendirilirken E-testte de görülen kısmi inhibisyon problemi ile karşılaşıldı. Bu nedenle üremenin kontrol kuyucuğuna göre %50 inhibe olduğu kuyucuktaki konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edildi. Sıvı mikrodilüsyon yönteminde flukonazol sonuçlarını değerlendirirken esas alınan MİK değerleri (µg/ml) Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

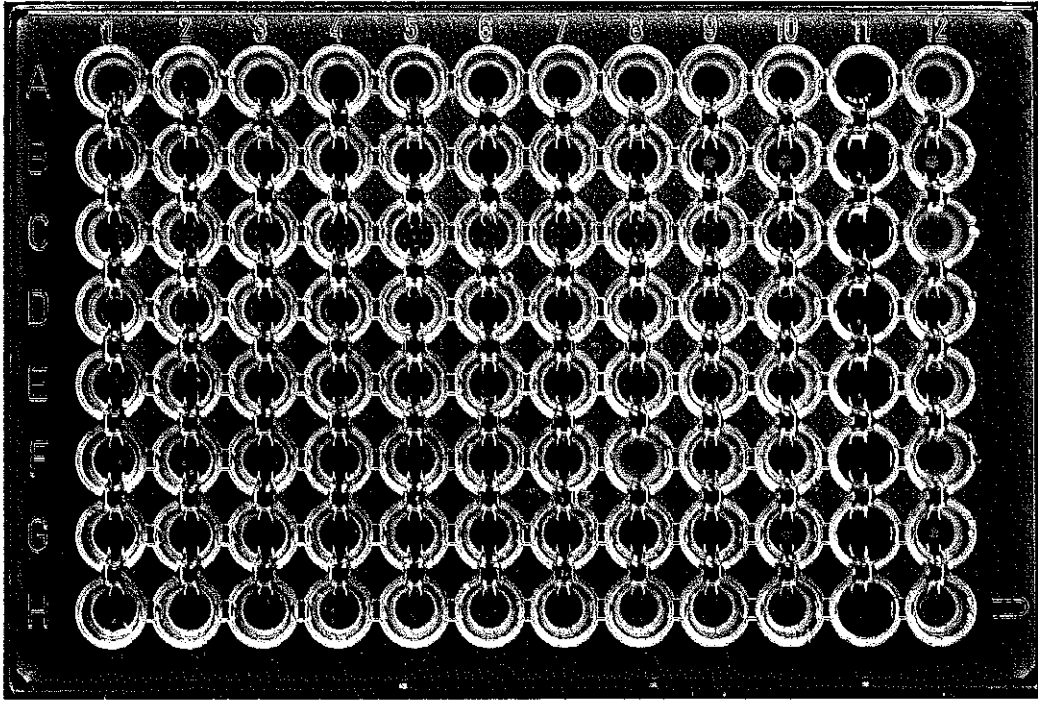
Çizelge 3.5. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazol sonuçlarını değerlendirirken esas alınan MİK değerleri (µg/ml).

	S (µg/ml) (DUYARLI)	S-DD (µg/ml) (DOZA BAĞLI DUYARLI)	R (µg/ml) (DİRENÇLİ)
Flukonazol	≤ 8	16-32	≥ 64

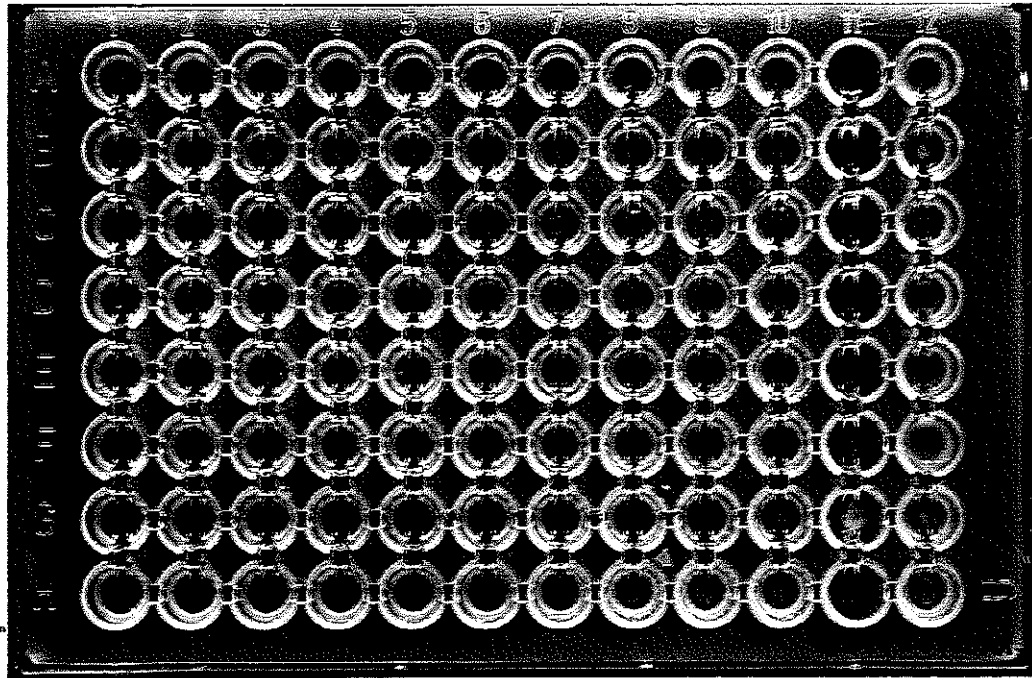
Amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için henüz direnç sınırlarını gösteren MİK değerleri kesin olarak belirlenememiştir. Çalışmamızda amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için saptanan MİK değerleri bugüne kadar yapılmış çalışmalardaki verilerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Antifungallerin MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri belirlendi. Candida türlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan flukonazol, vorikonazol, amfoterisin B ve kaspofungin MİK değerleri Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te gösterilmiştir.

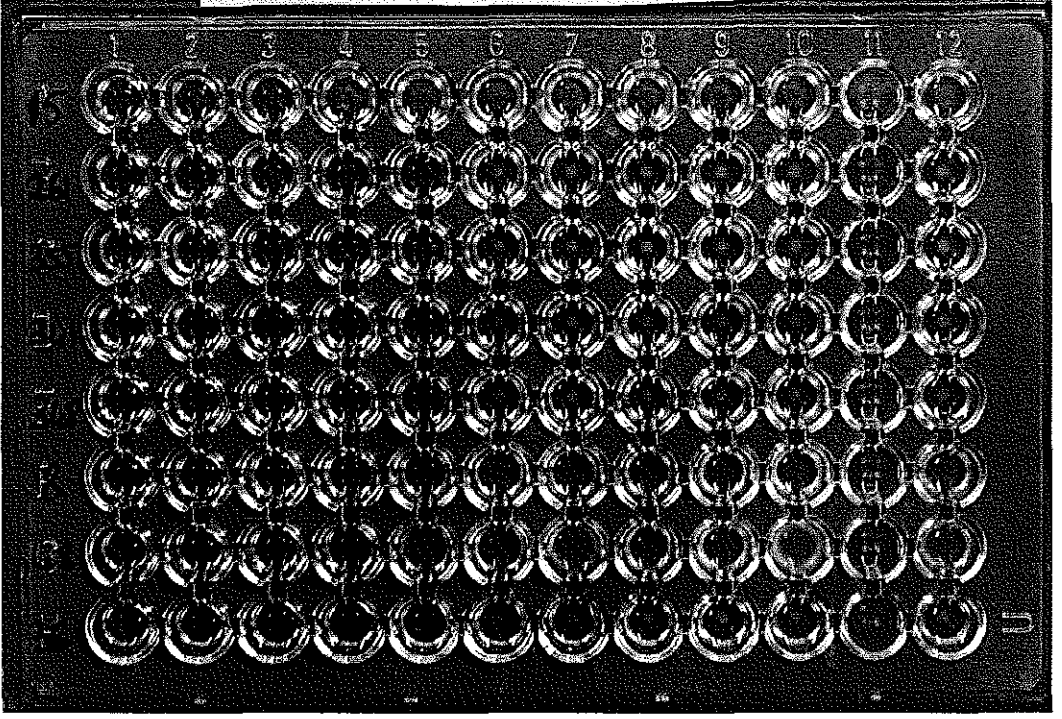
Şekil 3. 2. Candida türlerinde flukonazolün MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.



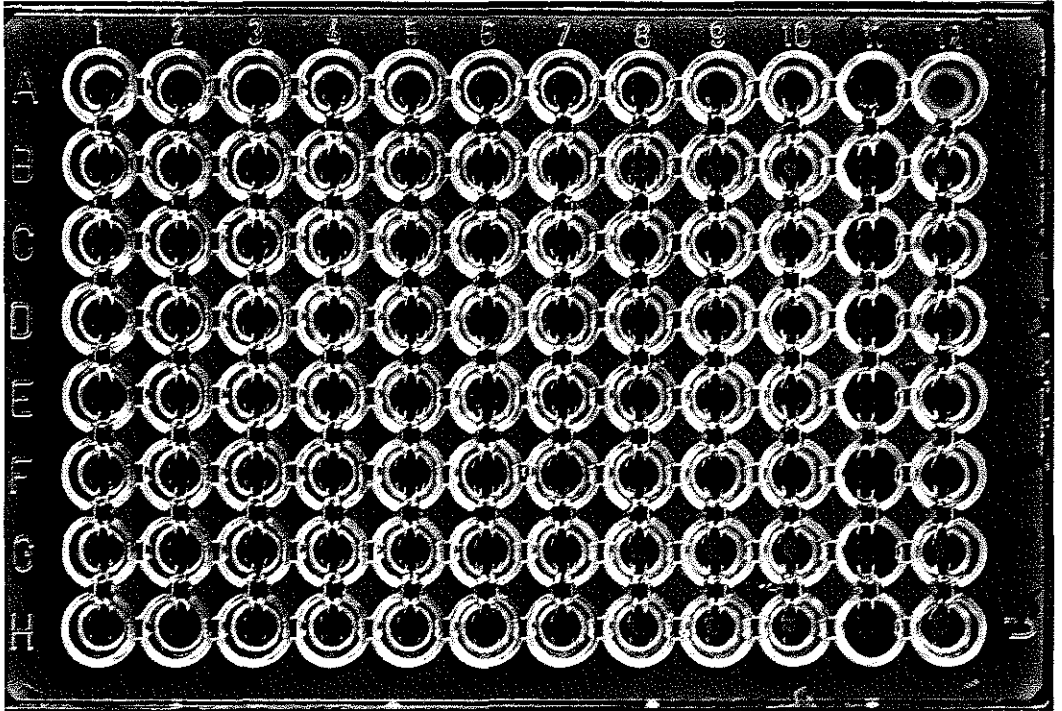
Şekil 3. 3. Candida türlerinde vorikonazolün MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.



Şekil 3 4. *Candida* türlerinde amfoterisin B'nin MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.



Şekil 3. 5. *Candida* türlerinde kaspofunginin MİK değerlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanması.



3.4. Sonuçların İstatistiksel Analizi

Verilerin Değerlendirilmesi:

- 1) Verilerin analizi; istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanıldı. Toplanan veriler çoğunluklu kesikli veri olması nedeniyle bulgular yüzde değerlerle ifade edildi.
- 2) E-testin “rezistansı tanımadaki” tanı değeri ölçülürken, referans test olan sıvı mikrodilüsyon testinin, E-testi ile olan ilişkileri diagnostik test ölçütlerinden tutarlılık (agreement) yüzdesi ile değerlendirildi. Uyum;
[Tutarlılık= (gerçek pozitifler + gerçek negatifler) / toplam örnek sayısı]
formülü ile hesaplandı (83, 84)

4. BULGULAR

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nin çeşitli bölümlerinde yatmakta olan ve nozokomiyal kandidüri tanısı alan 100 hastanın idrar örneklerinden *Candida* türleri izole edilerek, 44'ü (%44) *C. albicans*, 20'si (%20) *C. tropicalis*, 18'i (%18) *C. glabrata*, 6'sı (%6) *C. krusei*, 5'i (%5) *Candida famata*, 4'ü (%4) *C. parapsilosis*, 2'si (%2) *C. kefyr*, 1'i (%1) *C. guilliermondii* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 İdrar örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı

Türler	İzolat sayısı (n)	%
<i>C. albicans</i>	44	44
<i>C. tropicalis</i>	20	20
<i>C. glabrata</i>	18	18
<i>C. krusei</i>	6	6
<i>C. famata</i>	5	5
<i>C. parapsilosis</i>	4	4
<i>C. kefyr</i>	2	2
<i>C. guilliermondii</i>	1	1
Toplam	100	100

Hastaların 60'ı (%60) kadın, 40'ı (%40) erkek, yaş ortalamaları (yaş±SD) 43.5±26.6, alt ve üst sınır değerleri 0-94 yaşları arasında bulunmuştur. Kadınların ve erkeklerin yaş ortalaması sırasıyla (yaş±SD) 49.0±23.9 ve 35.2±28.5, ortanca değerleri 53.0 ile 33.5, alt ve üst sınır değerleri 0-94 ile 0-76 yaşları arasında saptanmıştır.

Yaş gruplarına göre; *Candida* türlerinin 12'si (%12) 0-1 yaş, 7'si (%7) 2-15 yaş, 51'i (%51) 16-64 yaş arası ve 30'u (%30) 65 ve üzeri yaş gruplarından izole edilmiştir. *C. albicans* tüm yaş gruplarında en sık izole edilen tür olarak saptanmıştır. *C. albicans*'tan sonra ikinci en sık saptanan tür 0-1 yaş grubunda *C. parapsilosis*, diğer yaş gruplarında *C. tropicalis* bulunmuştur. Yaş gruplarına göre *Candida* türlerinin dağılımı Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Yaş gruplarına göre *Candida* türlerinin dağılımı.

Türler (n)	Yaşlar (yıl)			
	0-1 n (%)	2-15 n (%)	16-64 n (%)	65 ve üzeri n (%)
<i>C. albicans</i> (44)	9 (75.0)	3 (42.8)	20 (39.2)	12 (40.0)
<i>C. tropicalis</i> (20)	-	2 (28.6)	10 (19.6)	8 (26.7)
<i>C. glabrata</i> (18)	1 (8.3)	1 (14.3)	9 (17.6)	7 (23.3)
<i>C. krusei</i> (6)	-	-	3 (5.9)	3 (10.0)
<i>C. famata</i> (5)	-	1 (14.3)	4 (7.8)	-
<i>C. parapsilosis</i> (4)	2 (16.7)	-	2 (3.9)	-
<i>C. kefyr</i> (2)	-	-	2 (3.9)	-
<i>C. guilliermondii</i> (1)	-	-	1 (2.0)	-
Toplam (100)	12 (12.0)	7 (7.0)	51 (51.0)	30 (30.0)

İncelenen örneklerin 64'ü (%64) yoğun bakım ünitelerinde (pediatri, dahiliye ve cerrahi yoğun bakımlar), 19'u (%19) cerrahi servislerinde, 11'i (%11) dahiliye, pediatri, infeksiyon servislerinde, 3'ü (%3) hematoloji-onkoloji servisinde, 1'i (%1) yenidoğan servisi, 1'i (%1) organ transplantasyonu servisi, 1'i (%1) dermatoloji servisinde yatan hastalardan alınmıştır. Çalışmamızda; servis ve yoğun bakımlarda 24'ü (%24) travma, 21'i (%21) nörolojik hastalıklar (subaraknoid kanama, hemipleji, ensefalit, iskemi v.b.), 13'ü (%13) malignite, 11'i (%11) akciğer ve kalp hastalıkları, 10'u (%10) üriner sistem hastalıkları, 8'i (%8) prematüre doğum, 4'ü (%4) organ transplantasyonu (3'ü böbrek ve 1'i karaciğer), 2'si (%2) yanık ve 7'si (%7) diğer hastalıklar (peptik ülser, diyabetik ayak, tetanoz, intoksikasyon v.b.) gibi çeşitli nedenlerle yatan hastalardan alınan idrar örnekleri araştırılmıştır.

Hastaların tümü 7-10 gün gibi uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi almıştır. Nozokomiyal üriner sistem infeksiyonları diğer risk faktörleri açısından incelendiğinde; hastaların 88'i (%88) foley kateterlidir, 12'si (%12) steroid, 13'ü (%13) immünsüpresif tedavi almaktadır, 18'i (%18) diyabet hastasıdır, 10'u (%10) üriner sistemle ilgili obstrüksiyon veya taşı olan ya da

üriner sistemle ilgili cerrahi girişim uygulanmış hastadır, 4'ü (%4) hemodiyaliz ve 2'si (%2) periton diyalizi hastasıdır. Nozokomiyal üriner sistem infeksiyonu ile ilgili risk faktörlerinin dağılımı Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Nozokomiyal kandidüri risk faktörlerinin dağılımı.

Kandidüri Risk Faktörleri	Sayı	(%)
Antibiyotik tedavisi (7-10 gün)	100	100
Foley kateter	88	88
Kadın cinsiyet	60	60
Diyabet	18	18
İmmünsüpresyon	13	13
Steroid tedavisi	12	12
Üriner sistem taş /obst.	7	7
Diyaliz	6	6
Üriner sistem cerrahisi	3	3
Nötropeni	3	3

Hastalar infeksiyon bulguları yönünden incelendiğinde; %73'ünde ateş, %36'sında idrar mikroskopisinde maya varlığı, %24'ünde piyüri varlığı saptanmıştır. Hastaların 63'ünde (%63) kandidüriye eşlik eden, pnömoni (%28), sepsis (%9), menenjit (%7), bakteremi (%7), bakteriyel idrar yolu infeksiyonu (%2) gibi diğer hastane infeksiyonları vardır.

Çalışmaya alınan 100 hastanın 63'ü (%63) hastanede kalış süreleri boyunca yalnızca tek bölümde yatmışlardır. Kalan 37 (%37) hasta ise birden fazla bölümde yatmış olup; halen servislerde yatmakta olan 20 (%20) hasta daha önce yoğun bakım ünitelerinde, halen yoğun bakımlarda yatmakta olan 17 hastadan 14'ü (%14) daha önce cerrahi servislerinde, 2'si (%2) organ transplantasyonu, 1'i (%1) ise dahili bölümlerde yatmıştır. Yirmi (%20) kişide daha önce bakteriyel idrar yolu infeksiyonu, 6 (%6) kişide fungal idrar yolu infeksiyonu geçirme hikayesi vardır. Herhangi bir nedenle son bir yıl içinde 8 (%8) kişinin 6'sı (%6) flukonazol, 2'si (%2) amfoterisin B olmak üzere antifungal tedavi almıştır.

Doksan hastada idrar kültürleri ile eş zamanlı olarak alınan kan kültürlerinin 15'inde (%15) *Candida* türleri üremiştir. Bunlardan 13'ünde (%13) (6 (%6) *C. albicans*, 5 (%5) *C. tropicalis* ve 2 (%2) *C. glabrata*) kan ve idrar

kültürlerinde aynı *Candida* türleri üremiştir. Diğer iki hastanın kan ve idrar kültürlerinde ise sırası ile *C. parapsilosis*, *C. krusei* ve *C. albicans*, kültüründe *C. kefyr* üremiştir. İdrar kültürlerinde *Candida* türlerinin üremesi sonucunda hastaların 78'ine (%78) flukonazol, 13'üne (%13) amfoterisin B, 3'üne (%3) amfoterisin B + flukonazol tedavisi verilmiştir.

Antifungallerin MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Çizelge 4.4, Çizelge 4.5, Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çalışmamızda antifungallerin türlere göre 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemlerine göre MİK değerleri arasındaki uyum $\pm 1\text{-log}_2$ dilüsyon ve $\pm 2\text{ log}_2$ dilüsyona göre Çizelge 4.7'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.4 Candida türlerinin azol grubu antifungallere, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan MİK₅₀, MİK₉₀, alt ve üst MİK sınır değerleri

Türler (n)	E-test (24 / 48 saat) Alt ve üst sınır değeri	Mikrodilüsyon (24 / 48 saat) Alt ve üst sınır değeri	E-test MİK ₅₀ (24 / 48 saat)	E-test MİK ₉₀ (24 / 48 saat)	Mikrodil MİK ₅₀ (24 / 48 saat)	Mikrodil MİK ₉₀ (24 / 48 saat)
<i>C. albicans</i> (44)						
Flukonazol	0.064-8 / 0.047-16	0.125-16 / 0.125-16	0.25/0.25	0.5/0.5	0.25 / 0.25	0.5 / 0.25
Vorikonazol	0.004-0.25 / 0.004-0.38	0.03-0.25 / 0.03-0.25	0.012 / 0.012	0.032 / 0.047	0.03 / 0.03	0.03 / 0.03
İtrakonazol	0.002-0.5 / 0.002-0.5	-	0.012 / 0.016	0.047 / 0.19	-	-
<i>C. tropicalis</i> (20)						
Flukonazol	0.125-1.5 / 0.19-1	0.125-0.5 / 0.125-0.25	0.38/0.38	0.5 / 0.75	0.125 / 0.125	0.25 / 0.25
Vorikonazol	0.006-0.094 / 0.016-0.125	0.03-0.03 / 0.03-0.06	0.023 / 0.032	0.047 / 0.047	0.03 / 0.03	0.03 / 0.06
İtrakonazol	0.002-0.125 / 0.002-0.5	-	0.012 / 0.012	0.032 / 0.032	-	-
<i>C. glabrata</i> (18)						
Flukonazol	0.064-256 / 0.19-256	0.125-64 / 0.125-64	2 / 4	256 / 256	0.5 / 2	64 / 64
Vorikonazol	0.002-0.5 / 0.002-1	0.03-2 / 0.03-2	0.016 / 0.032	0.064 / 0.094	0.06 / 0.06	0.5 / 1
İtrakonazol	0.002-2 / 0.002-32	-	0.016/0.19	0.75/12	-	-
<i>C. krusei</i> (6)						
Flukonazol	16-48 / 16-48	8-16 / 16-16	16 / 32	48 / 48	16 / 16	16 / 16
Vorikonazol	0.094-0.19 / 0.125-0.25	0.03-0.125 / 0.03-0.25	0.125 / 0.19	0.19 / 0.25	0.03 / 0.03	0.125 / 0.25
İtrakonazol	0.023-1 / 0.094-3	-	0.5/1	1/3	-	-
<i>C. famata</i> (5)						
Flukonazol	0.38-0.75 / 0.38-0.5	0.125-1 / 0.125-1	0.5 / 0.5	0.75 / 0.5	0.25 / 0.25	1 / 1
Vorikonazol	0.016-0.064 / 0.016-0.064	0.03-0.125 / 0.03-0.06	0.023 / 0.032	0.064 / 0.064	0.03 / 0.03	0.125 / 0.06
İtrakonazol	0.012-0.032 / 0.006-0.032	-	0.032 / 0.023	0.032 / 0.032	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (4)						
Flukonazol	0.38-1 / 0.38-1.5	0.125-0.125 / 0.25-1	0.38 / 0.75	1 / 1.5	0.125 / 0.25	0.125 / 1
Vorikonazol	0.006-0.16 / 0.008-0.16	0.03-0.03 / 0.03-0.03	0.016 / 0.008	0.016 / 0.016	0.03 / 0.03	0.03 / 0.03
İtrakonazol	0.002-0.008 / 0.003-0.012	-	0.004 / 0.004	0.008 / 0.012	-	-
<i>C. kefyr</i> (2)						
Flukonazol	0.19-0.25 / 0.19-0.5	0.125-0.125 / 0.125-0.125	0.19 / 0.19	0.25 / 0.5	0.125 / 0.125	0.125 / 0.125
Vorikonazol	0.008-0.008 / 0.008-0.016	0.03-0.03 / 0.03-0.03	0.008 / 0.008	0.008 / 0.016	0.03 / 0.03	0.03 / 0.03
İtrakonazol	0.012-0.047 / 0.016-0.064	-	0.012 / 0.016	0.047 / 0.064	-	-
<i>C. guilliermondii</i> (1)						
Flukonazol	0.25-0.25 / 0.38-0.38	2-2 / 4-4	0.25 / 0.38	0.25 / 0.38	2 / 4	2 / 4
Vorikonazol	0.016-0.016 / 0.047-0.047	0.125-0.125 / 0.25-0.25	0.016 / 0.047	0.016 / 0.047	0.125 / 0.25	0.125 / 0.25
İtrakonazol	0.016-0.016 / 0.032-0.032	-	0.016 / 0.032	0.016 / 0.032	-	-

Çizelge 4.5. *Candida* türlerinin amfoterisin B ve kaspofungin antifungallerine, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan MİK₅₀, MİK₉₀, alt ve üst MİK sınır değerleri.

Türler (n)	E-test (24 / 48 saat) Alt ve üst sınır değeri	Mikrodil (24 / 48 saat) Alt ve üst sınır değeri	E-test MİK ₅₀ (24 / 48 saat)	E-test MİK ₉₀ (24 / 48 saat)	Mikrodil MİK ₅₀ (24 / 48 saat)	Mikrodil MİK ₉₀ (24 / 48 saat)
<i>C. albicans</i> (44)						
Amfoterisin B	0.008-1 / 0.008- 1.5	0.06-1 / 0.06-2	0.047 / 0.125	0.19 / 0.75	0.25 / 0.5	1 / 1
Kaspofungin	-	0.03-0.5 / 0.06-16	-	-	0.125 / 0.25	0.5 / 1
<i>C. tropicalis</i> (20)						
Amfoterisin B	0.008-1 / 0.008-2	0.25-2 / 0.25-2	0.094 / 0.75	0.5 / 2	0.5 / 1	1 / 2
Kaspofungin	-	0.03-0.25 / 0.03-1	-	-	0.06 / 0.125	0.25 / 0.5
<i>C. glabrata</i> (18)						
Amfoterisin B	0.008-0.75 / 0.008-2	0.25-1 / 0.5-2	0.064 / 0.25	0.5 / 1.5	1 / 1	1 / 2
Kaspofungin	-	0.06-1 / 0.06-1	-	-	0.125 / 0.25	0.5 / 1
<i>C. krusei</i> (6)						
Amfoterisin B	0.008-1.5 / 1-2	0.5-2 / 1-2	0.75 / 2	1.5 / 2	1 / 2	2 / 2
Kaspofungin	-	0.06-0.5 / 0.06-0.25	-	-	0.25 / 0.125	0.5 / 0.25
<i>C. famata</i> (5)						
Amfoterisin B	0.047-0.38 / 0.19-2	0.5-1 / 1-1	0.19 / 1	0.38 / 1.5	0.5 / 1	1 / 1
Kaspofungin	-	0.06-0.5 / 0.125-0.5	-	-	0.125 / 0.125	0.5 / 0.5
<i>C. parapsilosis</i> (4)						
Amfoterisin B	0.008-0.064 / 0.032-1.5	0.06-0.25 / 0.5-1	0.023 / 0.38	0.064 / 1.5	0.125 / 1	0.25 / 1
Kaspofungin	-	0.25-2 / 0.25-2	-	-	0.5 / 1	2 / 2
<i>C. kefyr</i> (2)						
Amfoterisin B	0.094-1 / 0.25-1	1-1 / 1-1	0.094 / 0.25	1 / 1	1 / 1	1 / 1
Kaspofungin	-	0.25-0.5 / 0.25-0.5	-	-	0.25 / 0.25	0.5 / 0.5
<i>C. guilliermondii</i> (1)						
Amfoterisin B	0.125-0.125 / 0.125-0.125	0.5-0.5 / 1-1	0.125 / 0.125	0.125 / 0.125	0.5 / 1	0.5 / 1
Kaspofungin	-	0.5-0.5 / 0.5-0.5	-	-	0.5 / 0.5	0.5 / 0.5

Çizelge 4.6 Tüm *Candida* türlerinde antifungallerin 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan MİK₅₀, MİK₉₀, alt ve üst MİK sınır değerleri.

Antifungaller	E-test (24 / 48 saat) Alt ve üst sınır değeri	Mikrodilüsyon (24 / 48 saat) Alt ve üst sınır değeri	E-test MİK ₅₀ (24 / 48 saat)	E-test MİK ₉₀ (24 / 48 saat)	Mikrodil MİK ₅₀ (24 / 48 saat)	Mikrodil MİK ₉₀ (24 / 48 saat)
Flukonazol	0.064-256 / 0.047-256	0.125-64 / 0.125- 64	0.38 / 0.38	6 / 8	0.25 / 0.25	8 / 16
Vorikonazol	0.002-0.5 / 0.002-1	0.03-2 / 0.03-2	0.016 / 0.023	0.064 / 0.064	0.03 / 0.03	0.125 / 0.125
İtrakonazol	0.002-2 / 0.002-32	-	0.016 / 0.016	0.125 / 0.38	-	-
Amfoterisin B	0.008-1.5 / 0.008-2	0.06-2 / 0.06-2	0.064 / 0.25	0.75 / 2	0.5 / 1	1 / 2
Kaspofungin	-	0.03-2 / 0.03-16	-	-	0.125 / 0.25	0.5 / 1

Çizelge 4 7. E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile 24 ve 48 saat inkübasyon sonunda $\pm 1\text{-log}_2$ ve $\pm 2\text{log}_2$ dilüsyon sınırları arasında bulunan suşların yüzde oranları.

Türler (n)	E-test		Sıvı Mikrodilüsyon	
	$\pm 1\text{-log}_2$ dilüsyon (%)	$\pm 2 \log_2$ dilüsyon (%)	$\pm 1\text{-log}_2$ dilüsyon (%)	$\pm 2\log_2$ dilüsyon (%)
<i>C. albicans</i> (44)				
Flukonazol	86	100	98	100
Amfoterisin B	57	80	86	98
Vorikonazol	80	98	100	100
İtrakonazol	73	89	-	-
Kaspofungin	-	-	84	89
<i>C. tropicalis</i> (20)				
Flukonazol	95	100	95	100
Amfoterisin B	25	65	95	100
Vorikonazol	95	100	100	100
İtrakonazol	85	95	-	-
Kaspofungin	-	-	90	95
<i>C. glabrata</i> (18)				
Flukonazol	78	100	83	89
Amfoterisin B	56	67	100	100
Vorikonazol	67	94	78	100
İtrakonazol	33	56	-	-
Kaspofungin	-	-	89	100
<i>C. krusei</i> (6)				
Flukonazol	100	100	100	100
Amfoterisin B	67	83	100	100
Vorikonazol	100	100	83	100
İtrakonazol	83	83	-	-
Kaspofungin	-	-	83	100
<i>C. famata</i> (5)				
Flukonazol	100	100	80	100
Amfoterisin B	0	0	100	100
Vorikonazol	100	100	80	100
İtrakonazol	80	100	-	-
Kaspofungin	-	-	100	100
<i>C. parapsilosis</i> (4)				
Flukonazol	100	100	50	50
Amfoterisin B	25	25	25	25
Vorikonazol	100	100	100	100
İtrakonazol	100	100	-	-
Kaspofungin	-	-	100	100
<i>C. kefyr</i> (2)				
Flukonazol	100	100	100	100
Amfoterisin B	50	100	100	100
Vorikonazol	100	100	100	100
İtrakonazol	100	100	-	-
Kaspofungin	-	-	100	100
<i>C. guilliermandii</i> (1)				
Flukonazol	100	100	100	100
Amfoterisin B	100	100	100	100
Vorikonazol	0	100	100	100
İtrakonazol	100	100	-	-
Kaspofungin	-	-	100	100

Candida türlerinin flukonazol duyarlılıkları E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanarak suşların flukonazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı Çizelge 4.8, Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.8. Candida türlerinde 24-48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ile saptanan flukonazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı.

FLUKONAZOL E-Test							
Türler	Sayı	≤ 8 µg/ml (Duyarlı)		16-32 µg/ml (Doza Bağlı Duyarlı)		≥ 64 µg/ml (Dirençli)	
		24 st* (%)	48 st (%)	24 st (%)	48 st (%)	24 st (%)	48 st (%)
<i>C. albicans</i>	44	44 (100.0)	43 (97.7)	-	1 (2.3)	-	-
<i>C. tropicalis</i>	20	20 (100.0)	20 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	18	16 (88.9)	16 (88.9)	-	-	2 (11.1)	2 (11.1)
<i>C. krusei</i>	6	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (100.0)	6 (100.0)	-	-
<i>C. famata</i>	5	5 (100.0)	5 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	4	4 (100.0)	4 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. kefir</i>	2	2 (100.0)	2 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	1	1 (100.0)	1 (100.0)	-	-	-	-
Toplam	100	92 (92.0)	91 (91.0)	6 (6.0)	7 (7.0)	2 (2.0)	2 (2.0)

*st:saat

Çizelge 4.9. Candida türlerinde sıvı mikrodilüsyon ile saptanan flukonazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı.

FLUKONAZOL Sıvı Mikrodilüsyon							
Türler	Sayı	≤ 8 µg/ml (Duyarlı)		16-32 µg/ml (Doza Bağlı Duyarlı)		≥ 64 µg/ml (Dirençli)	
		24 st (%)	48 st (%)	24 st (%)	48 st (%)	24 st (%)	48 st (%)
<i>C. albicans</i>	44	43 (97.7)	43 (97.7)	1 (2.3)	1 (2.3)	-	-
<i>C. tropicalis</i>	20	20 (100.0)	20 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	18	14 (77.8)	12 (66.7)	2 (11.1)	4 (22.2)	2 (11.1)	2 (11.1)
<i>C. krusei</i>	6	2 (33.3)	0 (0.0)	4 (66.7)	6 (100)	-	-
<i>C. famata</i>	5	5 (100.0)	5 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	4	4 (100.0)	4 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. kefir</i>	2	2 (100.0)	2 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	1	1 (100.0)	1 (100.0)	-	-	-	-
Toplam	100	91 (91.0)	87 (87.0)	7 (7.0)	11 (11.0)	2 (2.0)	2 (2.0)

Candida türlerinin 87'si (%87) flukonazole duyarlı olup, flukonazol direnci sadece 2 (%2) *C. glabrata* suşunda saptanmıştır. Bu suşlardaki direnç hem 24 saatlik sıvı mikrodilüsyon, hem de 24-48 saat sonunda değerlendirilen E-test yöntemleri ile saptanmıştır. Altı (%100.0) *C. krusei*, 4 (%22.2) *C. glabrata* ve 1 (%2.3) *C. albicans* suşunda flukonazole karşı doza bağlı duyarlılık

saptanmıştır. Flukonazole doza bağlı duyarlı 1 (%2.3) *C. albicans* suşu 24 saatlik E-test yöntemi dışında tüm yöntemlerle doza bağlı duyarlı olarak saptanmıştır.

Flukonazole doza bağlı duyarlı 4 (%22.2) *C. glabrata* suşunun 2'si (%11.1) 24 saatlik sıvı mikrodilüsyon ile doza bağlı duyarlı olarak saptanmıştır. E-test yöntemleri bu suşları duyarlı olarak saptamıştır. Doza bağlı duyarlı 6 (%100.0) *C. krusei* suşunun 2'si (%33.3) 24 saatlik sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile duyarlı olarak saptanmıştır. E-test yöntemleri ile 6 (%100.0) suşun tümü doza bağlı duyarlı olarak saptamıştır.

Çizelge 4 10. *Candida* türlerinde 48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ve sıvı mikrodilüsyon ile saptanan flukonazol duyarlılıklarının NCCLS sınırı değerlerine göre dağılımı.

FLUKONAZOL E-Test / Sıvı Mikrodilüsyon							
Türler	Sayı	≤ 8 µg/ml (Duyarlı) E-Test / sıvı mikrodilüsyon (%)		16-32 µg/ml (Doza Bağlı Duyarlı) E-Test / sıvı mikrodilüsyon (%)		≥ 64 µg/ml (Dirençli) E-Test / sıvı mikrodilüsyon (%)	
<i>C. albicans</i>	44	43 (97.7)	43 (97.7)	1 (2.3)	1 (2.3)	-	-
<i>C. tropicalis</i>	20	20 (100)	20 (100)	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	18	16 (88.9)	12 (66.7)	0 (0.0)	4 (22.2)	2 (11.1)	2 (11.1)
<i>C. krusei</i>	6	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (100.0)	6 (100.0)	-	-
<i>C. famata</i>	5	5 (100.0)	5 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	4	4 (100.0)	4 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. kefyr</i>	2	2 (100.0)	2 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	1	1 (100.0)	1 (100.0)	-	-	-	-
Toplam	100	91 (91.0)	87 (87.0)	7 (7.0)	11 (11.0)	2 (2.0)	2 (2.0)

Referans yöntem olarak kabul edilen 48 saatlik sıvı mikrodilüsyon testi ile flukonazol duyarlılığının araştırıldığı diğer yöntemlerin sonuçlarının uyumu Çizelge 4 11'de gösterilmiştir.

Çizelge 4 11. Flukonazol için 48 saatlik sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile diğer yöntemlerin uyumu.

Yöntem	İnkübasyon zamanı	Sayı	Uyumsuzluk (%)			Uyum (%)
			küçük hata	büyük hata	çok büyük hata	
Sıvı Mikrodilüsyon	24	100	4	-	-	96
E-test	24	100	5	-	-	95
E-test	48	100	4	-	-	96

Candida türlerinin 24 ve 48 saatlik inkübasyonları sonunda itrakonazol duyarlılıkları sadece E-test yöntemi ile saptanarak sonuçlar Çizelge 4.12’de gösterilmiştir

Çizelge 4.12 Candida türlerinde 24-48 saatlik inkübasyon sonunda E-test ile saptanan itrakonazol duyarlılıklarının NCCLS sınır değerlerine göre dağılımı.

İTRAKONAZOL E-Test							
Türler	Sayı	$\leq 0.125 \mu\text{g/ml}$ (Duyarlı) 24 / 48 saat (%)		0.25-0.5 $\mu\text{g/ml}$ (Doza Bağlı Duyarlı) 24 / 48 saat (%)		$\geq 1 \mu\text{g/ml}$ (Dirençli) 24 / 48 saat (%)	
<i>C. albicans</i>	44	42 (95.5)	39 (88.6)	2 (4.5)	5 (11.4)	-	-
<i>C. tropicalis</i>	20	20 (100.0)	18 (90.0)	2 (10.0)	2 (10.0)	-	-
<i>C. glabrata</i>	18	14 (77.8)	8 (44.4)	3 (16.6)	8 (44.4)	1 (5.6)	2 (11.1)
<i>C. krusei</i>	6	2 (33.3)	1 (16.7)	2 (33.3)	1 (16.7)	2 (33.3)	4 (66.6)
<i>C. famata</i>	5	5 (100.0)	5 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	4	4 (100.0)	4 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. kefyr</i>	2	2 (100.0)	2 (100.0)	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	1	1 (100.0)	1 (100.0)	-	-	-	-
Toplam	100	90 (90.0)	78 (78.0)	7 (7.0)	16 (16.0)	3 (3.0)	6 (6.0)

Candida türlerinden 6’sının (%60) itrakonazole dirençli, 16’sının (%16.0) doza bağlı duyarlı olduğu saptanmıştır. İtrakonazole dirençli 4 (%66.6) *C. krusei*, 2 (%11.1) *C. glabrata*, doza bağlı duyarlı 8 (%44.4) *C. glabrata*, 5 (%11.4) *C. albicans*, 2 (%10.0) *C. tropicalis* suşları saptanmıştır. E-test yöntemi ile 24 ve referans alınan 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda alınan sonuçların uyumu incelendiğinde 3’ü *C. albicans*, 2’si *C. tropicalis*, 6’sı *C. glabrata*, 3’ü *C. krusei* olmak üzere toplam 14 suшта küçük hata saptanmıştır.

Vorikonazolün sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 24 ve 48 saat inkübasyon sonunda MİK değeri bir *C. glabrata* izolatında $=2 \mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Bu suşun E-test yöntemi ile 24 ve 48 saat inkübasyon sonunda MİK değerleri sırasıyla 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ve 1 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır.

Candida türlerinin kaspofungin duyarlılığı sadece sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılarak sonuçlar Çizelge 4.13’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.13. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kaspofunginin 48 saatlik MİK değerleri.

Türler (n)	Kaspofungin MİK (µg/ml) Değerleri (%)	
	≤1 µg/ml	≥ 2 µg/ml
<i>C. albicans</i> (44)	41 (93.2)	3 (6.8)
<i>C. tropicalis</i> (20)	20 (100.0)	-
<i>C. glabrata</i> (18)	18 (100.0)	-
<i>C. parapsilosis</i> (4)	3 (75.0)	1 (25.0)
<i>C. krusei</i> (6)	6 (100.0)	-
<i>C. famata</i> (5)	5 (100.0)	-
<i>C. kefyr</i> (2)	2 (100.0)	-
<i>C. guilliermondii</i> (1)	1 (100.0)	-
Toplam (100)	96 (96.0)	4 (4.0)

Candida türlerinin 96'sında (%96.0) kaspofungin MİK değeri ≤ 1 µg/ml, 3 (%6.8) *C. albicans* ve 1 (%25.0) *C. parapsilosis* suşunda kaspofungin MİK değeri ≥ 2 µg/ml olarak saptandı.

24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilen MİK sonuçlarını karşılaştırdığımızda flukonazol için 2 *C. glabrata* ve 2 *C. krusei* suşunda küçük hata, kaspofungin için 3 *C. albicans* suşunda çok büyük hata, amfoterisin B için 3 *C. albicans*, 5 *C. glabrata*, 6 *C. tropicalis*, 3 *C. krusei* suşunda çok büyük hata saptandı. Vorikonazol de %100 uyum saptandı. 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda oluşan E-test sonuçları referans yöntemle karşılaştırıldığında flukonazol için 24 ve 48 saatlik inkübasyonda 4 *C. glabrata* suşunda küçük hata saptandı. 24 saatte değerlendirilen E-testte 1 *C. albicans* suşunda küçük hata saptandı. Vorikonazol de her iki inkübasyonda da 1 *C. glabrata* suşunda çok büyük hata saptandı. Amfoterisin B de 24 saatlik inkübasyonda 3 *C. albicans*, 7 *C. tropicalis*, 5 *C. glabrata*, 3 *C. krusei* suşunda çok büyük hata, 48 saatlik inkübasyonda ise 1 *C. albicans*, 1 *C. tropicalis*, 2 *C. glabrata* suşunda çok büyük hata, 2 *C. famata*, 1 *C. parapsilosis* suşunda büyük hata saptandı. *Candida* türlerinin amfoterisin B duyarlılığı referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirildiğinde 80 (%80)

suşun 41'i (%93.2) *C. albicans*, 13'ü (%65.0) *C. tropicalis*, 13'ü (%72.2) *C. glabrata*, 1'i (%16.7) *C. krusei* ve diğer türlerin tümü MİK değeri ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. MİK değeri 2 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanan 20 (%20.0) suşun 3'ü (%6.8) *C. albicans*, 7'si (%35.0) *C. tropicalis*, 5'i (%27.8) *C. glabrata*, 5'i (%83.3) *C. krusei* olarak saptanmıştır. Bu değerler Çizelge 4.14 ve 4.15'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile amfoterisin B'nin MİK değerleri.

Türler (n)	Amfoterisin B sıvı mikrodilüsyon MİK ($\mu\text{g/ml}$)	
	Değerleri (%)	
	$\leq 1 \mu\text{g/ml}$ 24 /48 saat (%)	$> 1 \mu\text{g/ml}$ 24 /48 saat (%)
<i>C. albicans</i> (44)	44 (100.0) / 41 (93.2)	- / 3 (6.8)
<i>C. tropicalis</i> (20)	19 (95.0) / 13 (65.0)	1 (5.0) / 7 (35.0)
<i>C. glabrata</i> (18)	18 (100.0) / 13 (72.2)	- / 5 (27.8)
<i>C. krusei</i> (6)	4 (66.7) / 1 (16.7)	2 (33.3) / 5 (83.3)
<i>C. famata</i> (5)	5 (100.0) / 5 (100.0)	- / -
<i>C. parapsilosis</i> (4)	4 (100.0) / 4 (100.0)	- / -
<i>C. kefyr</i> (2)	2 (100.0) / 2 (100.0)	- / -
<i>C. guilliermondii</i> (1)	1 (100.0) / 1 (100.0)	- / -
Toplam (100)	97 (97.0) / 80 (80.0)	3 (3.0) / 20 (20.0)

Çizelge 4.15. E-test yöntemi ile amfoterisin B'nin MİK değerleri.

Türler (n)	Amfoterisin B E-test MİK ($\mu\text{g/ml}$) Değerleri	
	$\leq 1 \mu\text{g/ml}$	
	24 /48 saat (%)	$> 1 \mu\text{g/ml}$ 24 /48 saat (%)
<i>C. albicans</i> (44)	44 (100.0) / 42 (95.4)	- / 2 (4.5)
<i>C. tropicalis</i> (20)	20 (100.0) / 14 (70.0)	- / 6 (30.0)
<i>C. glabrata</i> (18)	18 (100.0) / 15 (83.3)	- / 3 (16.7)
<i>C. krusei</i> (6)	4 (66.7) / 1 (16.7)	2 (33.3) / 5 (83.3)
<i>C. famata</i> (5)	5 (100.0) / 3 (60.0)	- / 2 (40.0)
<i>C. parapsilosis</i> (4)	4 (100.0) / 3 (75.0)	- / 1 (25.0)
<i>C. kefyr</i> (2)	2 (100.0) / 2 (100.0)	- / -
<i>C. guilliermondii</i> (1)	1 (100.0) / 1 (100.0)	- / -
Toplam (100)	98 (98.0) / 81 (81.0)	2 (2.0) / 19 (19.0)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada nozokomiyal üriner sistem infeksiyonlarına neden olan *Candida* türlerinde; amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve yeni geliştirilen antifungaller olan vorikonazol ve kaspofunginin duyarlılıkları E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile araştırılmıştır.

Çalışmamızda hastaların 60'ı (%60) kadın, 40'ı (%40) erkek olup kadınlarda, erkeklere göre daha sık nozokomiyal üriner sistem infeksiyonu görülmüştür. İleri yaş ve kadın cinsiyetinin yapılan birçok çalışmada nozokomiyal üriner sistem infeksiyonları için risk faktörü olduğu gösterilmiştir (20, 37, 85). Kauffman ve arkadaşları çalışmalarında yaş ortalaması (yaş±SD) 64.5 ±18.2 olan nozokomiyal kandidürili hastaların %59.9'unu kadın, %40.1'ini erkeklerin oluşturduğunu göstermişlerdir (34). Goldberg ve arkadaşları çalışmalarında kadın cinsiyetinin kandidüri riskini artırdığı, erkeklerde ve kadınlarda kandidüri insidansının sırasıyla %4 ve %39 oranlarında olduğunu belirtmişlerdir (86). Yıldız ve arkadaşları yaş ortalaması 61.1 olan üriner kateterli erkek hastaların %30-35'inde nozokomiyal idrar yolu infeksiyonu geliştiğini göstermişlerdir (87).

Yapılan çalışmalarda infantlarda *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'in sıklıkla mantar infeksiyonlarına neden olduğu gösterilmiş olup, bizim çalışmamızda da etken olarak tüm yaş gruplarında en sık *C. albicans*, ikinci sıklıkta 0-1 yaş grubunda *C. parapsilosis* diğer yaş gruplarında ise *C. tropicalis* izole edilmiştir. Pfaller ve arkadaşları yaptıkları çok merkezli çalışmalarında 2047 hastanın kan kültürlerinden 0-1 yaş arası ve 2-15 yaş arasında en sık *C. albicans* ve *C. parapsilosis* izole etmişlerdir (88).

Çalışmamızda, nozokomiyal kandidürili hastaların 64'ü (%64) YBÜ'lerinde yatan hastalardan oluşmuştur. Yenidoğan ve erişkin YBÜ'nin sayısal olarak çoğalması; uzun süren büyük cerrahi girişimlerin artması, geniş spektrumlu birden fazla antibiyotik kullanımı ve invaziv girişimlerin sık yapılması YBÜ'lerinde kandidüri infeksiyonunu artırmaktadır (89). Özellikle hematolojik maligniteler ve diğer kanser hastalıkları, bağ dokusu hastalıkları gibi kronik hastalıklar, konjenital ve akkiz immün yetmezlikler, nozokomiyal kandidüri infeksiyonunda artışa neden olmaktadır (40).

Pittet ve arkadaşlarının yaptıkları nozokomiyal infeksiyonların risk faktörleri ile ilgili çok merkezli prevalans çalışmalarında, bizim çalışmamıza benzer olarak hastaların çoğunluğu (%25'i) yoğun bakım ünitelerinde, %12'si cerrahi servislerde, %9'u dahili servislerinde yatan hastalardan oluşmaktadır (90). Aynı çalışmada nozokomiyal infeksiyonlar arasında ikinci sıklıkta (%39.2) idrar yolu infeksiyonu saptanmış olup, Candida türleri nozokomiyal infeksiyon etkenlerinin %10'unu oluşturmuştur. Chen ve arkadaşları, nozokomiyal üriner sistem infeksiyonlarının en sık yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda meydana geldiğini ve en yaygın etkenlerin Candida türleri olduğunu belirtmektedirler. Aynı araştırmacılar yoğun bakımlarda ve servislerde yaptıkları çalışmada, dahiliye YBÜ'nde %50 (59/118), cerrahi YBÜ'nde %35.6 (62/174), pediatri YBÜ'nde %33.3 (14/42), dahiliye servisinde %43.5 (194/446) oranlarında nozokomiyal üriner sistem infeksiyonları saptamışlardır (91).

Bizim çalışmamızda nozokomiyal kandidürili hastaların en çok (%24) travmalı hastalar, ikinci sıklıkta beyin cerrahisi hastaları olduğu saptanmış olup, çoklu organ ve doku zedelenmesinin, bir çok tıbbi invaziv girişimi uygulanmasının YBÜ'nde nozokomiyal mantar infeksiyonlarının sıklığını artırdığını göstermektedir. Nassoura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, fungal üriner sistem infeksiyonu olan 47 yoğun bakım hastasının 20'sinin (%42.5) travma hastası, 15'inin (%31.9) genel cerrahi, 12'sinin (%25.5) ise beyin cerrahisi hastası olduğunu saptamışlardır (92). Bochicchio ve arkadaşları, iki yıllık sürede 1172 travmalı hastanın yattığı YBÜ'nde, %19 oranında nozokomiyal üriner sistem infeksiyonu olduğu saptanmıştır (93). Ayrıca fungal infeksiyonların konağın bağışık durumu ile doğrudan ilişkili olması; immünsüpresif hastalarda, organ nakli hastalarında ve nötropenik hastalarda nozokomiyal mantar infeksiyonlarını artırmaktadır (94, 95). Bizim çalışmamızda da hastaların 13'ü (%13) maligniteli hasta, 13'ü (%13) immünsüpresif tedavi, 12'si (%12) steroid tedavisi almış, 6'sı (%6) diyaliz hastası, 4'ü (%4) transplantasyon hastası (3'ü böbrek ve 1'i karaciğer), 3'ü (%3) nötropenik, 2'si (%2) yanık hastası olup immünsüprese hastalardır. Benzer olarak Fridkin ve Jarvis çalışmalarında, malignite, nötropeni ve geniş yanıkların nozokomiyal fungal infeksiyonlar için riskli olduğunu vurgulamışlardır (21). Bizim sonuçlarımıza göre; YBÜ'de yatan

travmalı hastaların nozokomiyal üriner mantar infeksiyonları açısından izlenmesi yararlı olacaktır.

Roilides ve arkadaşları, prematüre yenidoğanlarda sıklıkla invaziv kandidoz (kandidemi ve kandidüri) geliştiğini belirtmişlerdir (96). Baley ve arkadaşları da benzer olarak, IPN uygulanan, santral arteriyel veya venöz kateteri olan ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan düşük doğum ağırlıklı infantlarda kandidüri riskinin arttığını göstermişlerdir (97).

Macias ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, kandidürili hastalarda %57.4 oranında piyüri varlığına işaret edilmektedir (98). Yine benzer bir çalışmada Alvarez-Lerma ve arkadaşları %77.9 oranında kandidüri ile birlikte ateş ve piyüri varlığını saptamışlardır (99). Çalışmamızda hastaların %73'ünde ateş, %36'sında idrar mikroskopisinde maya varlığı saptanırken, piyüri %24 hastada saptanmış olup, bu durum üriner kandidiazisde her zaman piyüri bulunmayabileceğini göstermektedir. Hastaların büyük bölümünün immünyetmezlikli olması bu durumu açıklayabilir. Hastaların 63'ünde (%63) nozokomiyal kandidüri infeksiyonuna eşlik eden diğer hastane infeksiyonları (hastaların 28'inde pnömoni, 9'unda sepsis, 7'sinde menenjit, 7'sinde bakteremi, 2'sinde bakteriyel idrar yolu infeksiyonu gibi) vardı. Kauffman ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada fungüriye eş zamanlı infeksiyonlar, %43.4 idrar yolu infeksiyonu, %40 pnömoni, %23.6 bakteremi ve %1.4 santral sinir sistemi infeksiyonu olarak belirtilmiş olup, bu sonuç bizim bulgularımızdan farklıdır (34).

Bu çalışmada nozokomiyal kandidüri tanısı alan 100 hastanın idrar örneklerinden en sık *C. albicans* (%44) izole edilmiş olup, bunu sırasıyla *C. tropicalis* (%20), *C. glabrata* (%18), *C. krusei* (%6), *C. famata* (%5), *C. parapsilosis* (%4), *C. kefyr* (%2), *C. guilliermondii* (%1) izlemiştir. Sistemik infeksiyona yol açan Candida türleri arasında en sık izole edilen tür *C. albicans* olmasına rağmen, son 20 yıl boyunca *C. albicans* dışı türlerin sıklığının arttığı çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir (100, 101). Çalışmamızda *C. albicans* dışı türlerin suşların yarısından fazlasını oluşturması dikkat çekicidir. İzole edilen türlerin oranı coğrafi bölgelere hatta merkezden merkeze bile değişebilmektedir. Birçok faktör *C. albicans* / *C. albicans* dışı türler oranını değiştirebilmektedir. Örneğin azol profilaksisinin kullanımı *C. glabrata* ve *C. krusei* ile oluşan

infeksiyon sıklığını artırmış olup, intravasküler kateter bakımının iyi uygulanmaması da *C. parapsilosis* infeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur (13). Hastanemizde profilaktik azol kullanımının yaygın olmaması *C. glabrata* ve *C. krusei* türleri ile oluşan infeksiyonların artmasını önlemiş olabilir.

Bizim çalışmamıza benzer olarak Chen ve arkadaşları nozokomiyal fungal üriner sistem infeksiyon etkenleri arasında en sık *C. albicans*'ı (%31.2) ve sırasıyla *C. tropicalis* (%6.2), *C. glabrata* (%4.4) ve *C. parapsilosis*'i (%2.3) izole etmişlerdir (91). Kauffman ve arkadaşları, çok merkezli çalışmalarında 861 fungüriili hastanın %51.8'inde *C. albicans*, %15.6'sında *C. glabrata*, %7.9 *C. tropicalis*, %4.1 *C. parapsilosis*, %1 *C. krusei* saptamışlardır (34). Alvarez-Lerma ve arkadaşlarının çalışmasında kandidüri etkenleri olarak %68.4 *C. albicans*, %8.2 *C. glabrata*, %3.6 *C. tropicalis* bulmuşlardır (20). Morera ve arkadaşları kandidürili hastaların %56.7'sinde *C. albicans*, %21.7'sinde *C. glabrata*, %15'inde *C. tropicalis*, %5'inde *C. parapsilosis*, %1.7'sinde *C. kefyr* izole etmişlerdir (39).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda; Fındık ve Tuncer nozokomiyal infeksiyonlu hastalardan alınan 162 idrar örneğinin 123'ünde (%75.9) *C. albicans*, 14'ünde (%8.6) *C. glabrata*, 7'sinde (%4.3) *C. tropicalis*, 7'sinde (%4.3) *C. kefyr*, 4'ünde (%2.4) *C. lusitaniae*, 3'ünde (%1.8) *C. famata*, 3'ünde (%1.8) *C. krusei*, 1'inde (%0.6) *C. guilliermondii*'yi etken olarak saptamışlardır (102). Sayğan'ın üç yıl önce hastanemizde yaptığı tez çalışmasında, çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak saptanan Candida türlerinin %60.8'ini *C. albicans*, %17.3'ünü *C. tropicalis* ve %8.6'sını *C. glabrata* oluşturmaktadır (103). Aynı çalışmada en sık izole edilen örnek idrar (n=28, %60.8) olup 14'ünde (%50.0) etken *C. albicans* olarak tanımlanmıştır. Seçilen hastalar ve klinik örnekler arasında tam bir uyum olmasada; Sayğan'ın ve bizim sonuçlarımıza göre hastanemizde *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* fungal infeksiyon etkeni olarak ilk üç sırada yer almaktadır. Kaya ve arkadaşları, idrar yolu infeksiyonlarında en sık etkenin *C. albicans* (n=56, %75.7) olduğunu saptamışlardır (104). Kiraz ve arkadaşları, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan alınan 1798 idrar örneğinin, 246'sından (%13.6) maya izole etmişler; izole edilen mayaların 132'si (%53.7) *C. albicans*, 47'si (%19.1) *C. glabrata*,

45'i (%18.3) *C. tropicalis*, 8'i (%3.25) *C. krusei*, 7'si (%2.85) *C. kefyr*, 3'ü (%1.2) *C. parapsilosis* ve 2'si (%0.8) *C. guilliermondii* olarak tanımlanmıştır (105).

İdrar kültürleri ile eş zamanlı olarak alınan kan kültürlerinde üreme olan 15 hastanın 13'ünde (%86.7) kan ve idrar örneklerinden aynı *Candida* türü izole edilmiştir. Durupınar ve arkadaşları bizim sonucumuzla benzer olarak eş zamanlı üreme saptanan idrar ve kan örneklerinin %85.7'sinde aynı *Candida* türünü izole ettiklerini bildirmektedirler (106). Eş zamanlı kandidüri ve kandidemi etkenleri arasındaki ilişkinin daha ileri çalışmalarla araştırılması, özellikle moleküler genotipleme yöntemleri ile suşların özelliklerinin belirlenmesi gereklidir.

Çalışmamızda hastaların 88'i (%88) foley kateterli olup 18'i (%18) diyabet hastası, 10'u (%10) üriner sistemle ilgili obstrüksiyon-taşı olan veya üriner sistemle ilgili cerrahi girişim uygulanmış hastalardan oluşmuştu. Üriner kateter varlığı, üriner sistemde obstrüksiyon, diyabet önemli predispozan faktörler olarak kabul edilmektedir. Benzer olarak Kauffman ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, kandidüri risk faktörleri açısından değerlendirildiğinde hastaların %90'ı geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan, %83.2'si üriner kateterli, %52.3'ü cerrahi girişimli, %39'u diyabetli, %37.7'si üriner sistem hastalığı olan (nefrolitiazis, böbrek yetmezliği, nörojenik mesane, tekrarlayan infeksiyonlar, intrinsik renal hastalık gibi), %22.2 maligniteli hasta, %17'si malnütrisyon, %6.9'u travma, %4.3'ü nötropenik, %3.5'i transplant hastası idi. Ayrıca %14.4'ü kortikosteroid, %6.2'si immüsupresif ilaç tedavisi almıştı (34).

5.1. Antifungal Duyarlılığın Araştırılması

Flukonazol

Flukonazol günümüzde kandidiyazis tedavisinde etkinliği randomize kontrollü çalışmalarda kanıtlanmış bir antifungal ajandır (59). Çalışmamızın sonuçlarına göre 100 *Candida* izolatının 87'si (%87) NCCLS'in önerdiği sıvı mikrodilüsyon referans yöntemine göre 48 saatlik inkübasyon sonunda flukonazole duyarlı, 11'i (%11) doza bağlı duyarlı ve 2'si (%2) ise flukonazole dirençli olarak saptanmıştır. Dirençli olan bu iki izolat *C. glabrata* suşu olup tüm *C. glabrata* suşlarının %11.1'ini oluşturmaktadır. Colombo ve arkadaşlarının kan kültürlerinden izole ettikleri 200 *Candida* izolatının flukonazole duyarlılığını

araştırdıkları çalışmalarında, suşların %97.5'inin flukonazole duyarlı olduğu saptanmıştır (107). Bu oran bizim çalışmamızda saptadığımız flukonazole duyarlılık oranına yakındır.

Tür düzeyinde flukonazol duyarlılığını incelediğimizde çalışmamızda, *C. albicans* suşlarının %97.7'si flukonazole duyarlı 1'i (%2.3) ise doza bağlı duyarlı olarak saptanmış olup, klinik örneklerden izole ettiğimiz *C. albicans* izolatlarının büyük bölümünün flukonazole duyarlı olduğu görülmektedir. Morace ve arkadaşları 478 *C. albicans* suşunun %90.1'ini, Kiraz ve arkadaşları 300 *C. albicans* suşunun %100'ünü, Orhon ve arkadaşları 82 *C. albicans* suşunun %97.5'ini, Ermertcan ve arkadaşları kan kültürlerinden izole ettikleri *C. albicans* suşlarının %93'ünü flukonazole duyarlı olarak saptamışlardır (108, 109, 110, 111) Sayğan, tez çalışmasında 121 *C. albicans* izolatında %84 oranında duyarlılık saptamıştır (103). Çeşitli çalışmalarda *C. albicans* suşlarının flukonazole duyarlılık oranları Çizelge 5.1'de gösterilmiştir. Çalışmamızın sonuçları bu çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 5.1. *C. albicans* suşlarının flukonazole duyarlılık oranlarının dağılımı.

Araştırmacılar	Suş sayısı	Flukonazole duyarlılık (%)
Morace ve ark.	478	90.1
Kiraz ve ark.	300	100.0
Orhon ve ark.	82	97.5
Ermertcan ve ark.	-	93.0
Sayğan	121	84.0
Bizim çalışmamız	44	97.7

Pfaller ve arkadaşlarının 235 *C. glabrata* suşunda flukonazol duyarlılığını araştırdıkları çalışmalarında suşların %57'sini duyarlı, %36'sını doza bağlı duyarlı, %7'sini dirençli olarak saptamışlardır (112). Bizim çalışmamızda da benzer olarak *C. glabrata* suşlarının %66.7'si duyarlı, %22.2'si doza bağlı duyarlı, %11.1'i dirençli olarak saptanmıştır. *C. glabrata* suşlarında farklı oranlarda flukonazol direnci araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Colombo ve arkadaşları bu oranı %11.1, Pfaller ve arkadaşları %7 olarak rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda bulunan direnç oranı bu araştırmacıların sonuçları ile benzer görülmekle birlikte suş sayımızın az olması doğru bir karşılaştırma yapabilmemizi engellemektedir. Bununla birlikte hastanemizde flukonazole dirençli *C. glabrata* izolatlarının tespit edilmiş olması önemlidir. Yapılan çalışmalarda Yang ve

arkadaşları, Tortorano ve arkadaşları *C. glabrata* ve *C. krusei*'nin yanında *C. tropicalis* suşlarında da flukonazol direnci saptamışlardır (113, 114, 115).

Pfaller ve arkadaşları 131 *C. krusei* suşunun %5'inin flukonazole duyarlı diğerlerinin ise dirençli ya da doza bağlı duyarlı olduğunu saptamışlardır. Kovacicova ve arkadaşlarının çalışmasında *C. krusei* suşlarının 9'u (%82) flukonazole dirençli, 2'si (%18) doza bağlı duyarlı bulunmuştur (116). Bizim çalışmamızda toplam 6 *C. krusei* suşunun tümü flukonazole doza bağlı duyarlı olarak saptanmıştır. Her ne kadar sayımız az olsa da hastanemizde nozokomiyal enfeksiyonu olan hastalardan *C. krusei* izole edildiğinde, kandidozlarda ilk seçenek olan flukonazolün, düşünülerek tercih edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. İzolat sayımız arttıkça bu konuda daha ayrıntılı bilgiye ulaşılabilecektir.

Yine Myoken ve arkadaşları hematolojik maligniteli hastalarda azol dirençli *C. tropicalis* izolatları saptamışlardır (117). Çalışmamızda, *C. tropicalis*, *C. famata*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii* flukonazole %100 duyarlı bulunmuştur.

İtrakonazol

Çalışmamızda, E-test yöntemi ile tüm suşların 78'i (%78) itrakonazole duyarlı, 16'sı (%16) doza bağlı duyarlı, 6'sı (%6) dirençli olarak bulunmuştur. Tür düzeyinde incelediğimizde *C. tropicalis* suşlarının %90'ı, *C. albicans* suşlarının %88.6'sı, *C. glabrata* suşlarının % 44.4'ü, *C. krusei* suşlarının %16.7'si, diğer türlerin %100'ü itrakonazole duyarlı olarak saptanmıştır. Swinne ve arkadaşları *C. glabrata* suşlarının %17'sinde (118), Duran ve arkadaşları *C. glabrata* suşlarında %80 oranında itrakonazol direnci saptamışlardır (119). Bu oran bizim çalışmamızda %17'dir. Marko ve arkadaşları *C. krusei* suşların %23'ünde itrakonazol direnci saptamışlardır. Bu oran bizim çalışmamızda saptadığımız orana yakındır (120). Wroblewska ve arkadaşları *C. albicans* suşlarında itrakonazole %47.6 oranında direnç saptamış olup bizim çalışmamızda saptadığımız orana göre oldukça yüksektir (121). Çalışmamızda itrakonazole duyarlılık sadece E-test yöntemi kullanılarak incelenebilmiştir. Yapılan çalışmalarda birbirinden oldukça farklı direnç oranları bildirilmektedir. Ancak bu

alışmalarla sunulan çalışmada kullanılan yöntemin farklı olması sonuçların karşılaştırılmasını güçleştirmiştir

Vorikonazol (UK-109,496)

Yeni azol grubu antifungallerden vorikonazol, flukonazole dirençli izolatlarda kullanılabilecek etkili bir antifungal olarak belirtilmektedir (122). Sanati ve arkadaşları, Lee ve arkadaşları, vorikonazolün flukonazole dirençli *C. albicans* ve *C. krusei* suşlarında da etkili olduğunu göstermişlerdir (123, 124, 125, 126).

Vorikonazol MİK değeri ve vorikonazol tedavi başarısı arasındaki ilişkinin belirlenmesi için yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle NCCLS vorikonazol için sınır değerler belirlememiş ancak MİK değeri $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ olan suşların vorikonazol ile inhibe olabileceğini belirtmiştir (79).

Bizim alışmamızda vorikonazolün sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan MİK değerleri, izolatların %99'unda $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, %1'inde $= 2 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. Vorikonazol MİK₉₀ değeri $0.125 \mu\text{g/ml}$, MİK aralığı $0.03-2 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır.

Marco ve arkadaşları 394 *Candida* suşunda azol direncini araştırmışlar ve vorikonazol MİK₉₀ değerini $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlardır. MİK değerinin $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ olduğu 18 izolatın 8'inin (%44.4) aynı zamanda flukonazol ve itrakonazole de dirençli olan *C. glabrata* suşları olduğunu belirtmişlerdir (120). Pfaller ve arkadaşları *C. glabrata* suşlarında yaptıkları çalışmada, suşların %6'sının vorikonazole MİK değerini $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlardır (112).

Bizim alışmamızda vorikonazol MİK değeri $2 \mu\text{g/ml}$ olan bir suş aynı zamanda flukonazol ve itrakonazole dirençli olan *C. glabrata* suşudur. Marco ve arkadaşlarının yaptığı farklı bir çalışmada, *Candida* türlerinin %97'sinin vorikonazole duyarlı olduğu belirtilmiştir (127). Uzun ve arkadaşları ile Marco ve arkadaşları çalışmalarında *C. albicans*'ın vorikonazole en duyarlı tür olduğunu belirtmişlerdir (81, 127). Bizim alışmamızda, *C. albicans*'ın yanında sayıları az olmakla birlikte *C. parapsilosis*, *C. kefyr* vorikonazole en duyarlı suşlar olarak belirlenmiştir.

Marco ve arkadaşları 218 *Candida* türünün azol grubu antibiyotiklere duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında vorikonazolün en etkin antifungal

olduğunu, bunu sırasıyla flukonazol ve itrakonazolün izlediğini bildirmişlerdir (127). Bizim çalışmamızda da benzer olarak en etkin azol grubu antifungalın vorikonazol olduğu bunu sırasıyla flukonazol ve itrakonazolün izlediği saptanmıştır. Ülkemizde henüz kullanıma girmemiş bir antifungal olan vorikonazole dirençli bir *C. glabrata* suşunun bulunması ve suşun diğer azollere de dirençli oluşu bu direncin özellikle araştırılması gerektiğini düşündürmektedir.

Kaspofungin (MK-0991)

Çalışmamızda suşların %96'sının kaspo­fungin MİK değeri $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ve tüm suşlarda kaspo­fungin MİK₉₀ değeri $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Pfaller ve arkadaşlarının çalışmasında bulunan duyarlılık oranlarına benzerdir (128).

Letscher-Bru ve arkadaşlarının *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* suşlarında kaspo­fungin MİK₉₀ değerini $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, MİK aralığı 0.125-1 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlardır (74). Bizim çalışmamızda, benzer olarak *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* suşlarında kaspo­fungin MİK₉₀ değeri $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ancak MİK aralığı 0.03-16 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır.

Pfaller ve arkadaşları; 3959 *Candida* izolatında sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile yaptıkları çalışmada flukonazol ve itrakonazol dirençli *Candida* türlerinin %99'unun kaspo­fungin MİK değerini $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlardır (128). Bizim çalışmamızda da benzer olarak flukonazol ve/veya itrakonazol dirençli *C. krusei* ve *C. glabrata* suşlarında kaspo­fungin MİK₉₀ değeri $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda hem flukonazol hem itrakonazol dirençli 1 (%5.5) *C. glabrata* suşunda vorikonazol MİK değeri 2 $\mu\text{g/ml}$ olup kaspo­fungin MİK değeri 0.5 $\mu\text{g/ml}$ olarak duyarlı bulunmuştur (128). Bu sonuç bize kaspo­funginin etki mekanizmasının farklı oluşu nedeniyle azol grubu antifungaller arasında çapraz direncin bulunmadığını göstermektedir. Bu nedenle kaspo­funginin azol grubu antifungallere dirençli *Candida* türleri için iyi bir seçenek olabileceğini düşünmekteyiz.

Amfoterisin B

Çok sayıda suş içeren çalışmalarda, *C. albicans* başta olmak üzere Candida türleri için amfoterisin B'nin MİK değerlerinin 0.25-1 µg/ml gibi dar bir aralıkta toplandığı görülmektedir. Direnç sınırları net olarak belirlenememiş olmakla birlikte hayvan modellerinde amfoterisin B'ye dirençli izolatların MİK değerlerinin >1 µg/ml olduğu saptanmıştır (79).

Çalışmamızda suşların tümünde, 48 saatlik inkübasyon sonunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile amfoterisin B MİK₉₀ değerleri 2 µg/ml olarak saptanmıştır.

Tür düzeyinde incelendiğinde *C. albicans*, *C. famata*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii* suşlarının 48 saatlik inkübasyonu sonunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan MİK₉₀ değerleri 1 µg/ml, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* suşlarında ise MİK₉₀ değerleri 2 µg/ml olarak saptanmıştır. Çalışmamızda Candida türlerinin 20'sinde (%20.0) (*C. albicans* izolatlarının, *C. tropicalis* izolatlarının 7'si (%35), *C. glabrata* izolatlarının 5'i (%27.8), *C. krusei* izolatlarının 5'i (%83.3)) sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 48 saatlik inkübasyon ile MİK değerlerinin >1 µg/ml olduğu bulunmuştur. Amfoterisin B için henüz direnç sınırlarını gösteren MİK değerleri kesin olarak belirlenmiş olmadığından bu izolatların dirençli olup olmadıkları hastaların tedaviye yanıtları ve klinik takipleri ile saptanabilir. Ancak bu çalışmada bu inceleme yapılamamıştır.

Uzun ve arkadaşlarının tüm klinik örneklerden izole edilen 250 Candida izolatında yaptıkları duyarlılık çalışmasında MİK₉₀ değerleri; *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis* suşlarında; 1 µg/ml, *C. glabrata* suşlarında ise 2 µg/ml olarak saptanmıştır (81). *C. albicans*'da 1 µg/ml ve *C. glabrata*'da 2 µg/ml olarak saptanan MİK₉₀ değerleri bizim çalışmamızda saptadığımız değerlerle aynı, *C. tropicalis* ve *C. krusei* suşlarının MİK₉₀ değerleri ise (1 µg/ml) bizim çalışmamızda saptadığımız değerden (2 µg/ml) düşük olarak bulunmuştur. Laverdiere ve arkadaşları kan kültüründen izole edilen 178 Candida izolatında yaptıkları çalışmada, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* MİK₉₀ değerlerini 1 µg/ml, *C. glabrata* MİK₉₀ değerini 2 µg/ml olarak saptamışlardır (129). Pfaller ve arkadaşları 99 klinik Candida izolatında yaptıkları çalışmalarında, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* MİK₉₀

değerlerini 1 µg/ml olarak belirtmişlerdir (130). Çalışmamızda *C. tropicalis* MİK₉₀ değeri 2 µg/ml olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda *C. tropicalis* suşlarında saptanan yüksek amfoterisin B MİK değerlerinin bu suşlardaki intrinsik direnç nedeniyle olabileceği belirtilmiştir (131).

Bizim çalışmamızdaki izolatların nozokomiyal infeksiyon etkeni olması nedeniyle MİK₉₀ değerlerimizin bu çalışmalardan daha yüksek olduğunu düşünüyoruz.

5.2. E-Test ve Referans Yöntem Sıvı Mikrodilüsyonun Karşılaştırılması

E-test yönteminin sıvı mikrodilüsyon ile karşılaştırıldığı çalışmalarda birçok antifungal ajan için oldukça uyumlu sonuçlar alındığı görülmüştür (132, 133, 134, 135). Matar ve arkadaşları flukonazol ve vorikonazol için iki yöntemin uyumunu sırasıyla %97.0 ve %93.3 olarak saptamışlardır (136). Bizim çalışmamızda flukonazol, vorikonazol ve amfoterisin B için E-test yönteminin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile uyumu sırasıyla %96, %99 ve % 93 olarak saptanmıştır.

Flukonazol antifungalı için; *C. glabrata* ve *C. krusei* suşları dışındaki suşlar sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile her iki inkübasyon süresi sonunda %100 uyum göstermiştir. E-test yöntemi ise her iki inkübasyon süresi sonunda doza bağlı duyarlı *C. glabrata* suşlarını saptayamamıştır. Bu türlerin duyarlılığı araştırıldığında sıvı mikrodilüsyon yönteminin uygulanmasının gerektiğini düşünmekteyiz. Flukonazol E-test uygulanmasında her iki inkübasyon süresi incelendiğinde 24 ve 48 saatlik değerlerin %99 uyumlu olduğu, sadece bir adet doza bağlı duyarlı *C. albicans* suşunun 24 saatlik inkübasyon ile saptanamadığı görülmüştür. Sonuçlarımız, E-test yönteminde 24 saat sonunda değerlendirilen sonuçların 48 saatlik inkübasyon süresi beklenmeden klinisyene bildirilebileceğini göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda E-test yönteminin NCCLS referans yöntemi ile uyumunun yüksek olduğu gösterilmiştir (137). Bu uyumun kullanılan besiyeri ve türe bağlı olduğu, *C. glabrata* başta olmak üzere bazı türlerde uyumun düşük olduğu belirtilmektedir (138).

• Vorikonazol antifungalı için; her iki inkübasyon süresi sonunda değerlendirilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi %100, referans yöntemle her iki inkübasyon süresi sonunda değerlendirilen E-test yönteminde ise %99 uyum

gözlenmiştir. Uyumsuzluk gösteren suş *C. glabrata* suşu olup, bu türün duyarlılığının saptanmasında sıvı mikrodilüsyon yönteminin kullanılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Kaspofungin duyarlılığı sadece sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışıldı. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 3 *C. albicans* suşunda çok büyük hata saptanmıştır. Ancak bu üç suşta 24 saatte ve 48 saatte elde edilen MİK değerleri arasında çok büyük fark olduğu gözlenmiştir. Kaspofungin için standardize edilmiş bir duyarlılık test yöntemi olmadığından, bu antifungal için hangi inkübasyon süresinin gerçek MİK değerini verdiği ileri çalışmalarla belirlenecektir.

Amfoterisin B antifungalı için; sıvı mikrodilüsyon yönteminde inkübasyon süreleri değerlendirildiğinde suşların %17'sinde uyumsuzluk gözlenmiştir. Yirmidört saatlik inkübasyon sonunda değerlendirilen E-test yönteminde %18, 48 saatte ise %7 oranında uyumsuzluk saptanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre amfoterisin B E-test uygulandığında 48 saat sonunda değerlendirilmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

- 1) Çalışmamıza alınan nozokomiyal kandidürili hastaların %64'ü YBÜ'lerinde yatan hastalardan oluşmaktadır ve hastalarımızın tümü geniş etki spektrumlu antimikrobiyal tedavi almıştır.
- 2) En sık izole edilen tür *C. albicans* iken *C. albicans* dışı türler %56 oranında saptanmıştır.
- 3) Çalışmamızda, tüm yaş gruplarında en sık izole ettiğimiz nozokomiyal kandidüri etkeni *C. albicans* olup, bunu 0-1 yaş arası grupta *C. parapsilosis*, diğer yaş gruplarında *C. tropicalis* izlemiştir.
- 4) Çalışmamızda en etkin azol grubu antifungal vorikonazol olup, bunu sırasıyla flukonazol ve itrakonazol izlemektedir. Çalışmamızda azol grubu antifungallerin direnç oranlarının düşük olmasını hastanemizde profilaktik azol kullanımının yaygın olmamasına bağlamaktayız.
- 5) Çalışmamızda hem E-test hem sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile MİK değerlerini saptayabildiğimiz antifungal ajanlardan amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazol için E-test ve sıvı mikrodilüsyon uyumu sırasıyla %93, %96, %99 oranlarında bulunmuştur.
- 6) Çalışmamızda bir *C. glabrata* suşu flukonazol, itrakonazol ve vorikonazole dirençli saptanmıştır. Flukonazol ve vorikonazol duyarlılığı saptanırken *C. glabrata* suşlarında sıvı mikrodilüsyon yönteminin tercih edilmesinin uygun olacağını, diğer türlerde ise E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri arasında yüksek uyum saptadığımız için uygulama kolaylığı nedeniyle E-test yönteminin kullanılabileceğini düşünmekteyiz.
- 7) Flukonazol ve vorikonazol duyarlılık sonuçlarına göre E-test yöntemi ile 24 saatlik inkübasyon sonrası elde edilen değerlerin 48 saatlik inkübasyon süresi beklenmeden bildirilebileceği sonucuna varılmıştır.
- 8) Tüm suşlarda kaspofungin MİK₉₀ değeri $\leq$ 1 µg/ml olarak saptandı. Kaspofungin, azol grubu antifungallerle arasında çapraz direnç bulunmadığından azol grubu antifungallere dirençli Candida türleri için iyi bir seçenek olabilir.
- 9) Amfoterisin B MİK₉₀ değeri 2 µg/ml olarak saptanmıştır. Amfoterisin B'ye E-test uygulandığında 48 saatlik inkübasyon sonunda değerlendirilmesi

uygundur. Candida türlerinin 20'sinde (%20) sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 48 saatlik inkübasyon ile MİK değerlerinin $>1 \mu\text{g/ml}$ olduğu bulunmuştur. Amfoterisin B için henüz direnç sınırlarını gösteren MİK değerleri kesin olarak belirlenmiş olmadığından bu izolatların dirençli olup olmadıkları ileri çalışmalar ve hastaların tedaviye yanıtları, klinik takipleri ile belirlenmesi uygundur.

ÖZET

Candida türleri, deri ve müköz membranlarda normal flora üyesi olarak bulunan, immün sistemin çeşitli nedenlerle baskılanmasıyla, fırsatçı patojen olarak infeksiyon etkeni olabilen mikroorganizmalardır.

Son yirmi yılda özellikle *Candida* türleri ile oluşan nozokomiyal infeksiyonların artışı, bu mikroorganizmalarda doğal ve kazanılmış direncin bulunabilmesi ve yeni antifungallerin geliştirilmesi antifungal duyarlılık testlerinin yapılmasının önemini ortaya koymuştur.

Bu çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde nozokomiyal kandidüri tanısı alan 100 hastanın idrar örneklerinden izole edilen *Candida* türleri araştırmaya alınarak, *Candida* türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve tür dağılımının saptanması, izole edilen suşların, günümüzde yaygın olarak kullanılan antifungal ajanlardan; amfoterisin B, flukonazol, itraconazol ve uygulanmaya başlanmış yeni antifungallerden vorikonazol ve kaspofungine duyarlılıklarının araştırılması ve antifungal duyarlılığı saptamada son yıllarda kullanımı yaygınlaşan E-test yönteminin, NCCLS'in önerdiği referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Hastaların %64'ünü yoğun bakım ünitelerinde yatan, kateterli, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan hastalardan oluşturmuştur. Araştırmamızda en sık *C. albicans* izole edilmiş olup, *C. albicans* dışı türler ise %56 oranında saptanmıştır.

Çalışmamızda en etkin azol grubu antifungal vorikonazol olup bunu sırasıyla flukonazol ve itraconazol izlemektedir. Hem E-test hem sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile MİK değerlerini saptayabildiğimiz antifungal ajanlardan amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazol için E-test ve sıvı mikrodilüsyon uyumu sırasıyla %93, %96, %99 oranlarında bulunmuştur.

Sonuç olarak, son yıllarda görülme sıklığı artan nozokomiyal kandidürilerde en sık izole edilen tür *C. albicans* olmakla birlikte, diğer *Candida* türlerinin de izolasyon oranlarının artması ve yaygın kullanılan bazı antifungallere dirençli olmaları, tür tanımının ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılmasının önemli olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Kandidüri, antifungal, E-test, sıvı mikrodilüsyon.

KAYNAKLAR

1. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Candidiasis. Medical Mycology, Williams and Wilkins, Philadelphia, 1992: 280-336.
2. Tümbay E. Candida türleri. İçinde: Ustaçelebi Ş. (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş kitabevi, Ankara, 1999: 1081-1086.
3. Yıldırım ŞT. Yeni geliştirilen azoller. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, Kongre kitabı, Ankara, 2001: 141-148.
4. White TC. Mechanisms of Resistance to antifungal Agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. Edition. American Society for microbiology, Washington, 2003 ;1869-1879.
5. Beck-Sague CM, Jarvis WR and the National Nosocomial Infections Surveillance System. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. J Infect Dis 1993;167 :1247-1251
6. Singh N. Changing spectrum of invasive candidiasis and its therapeutic implications. Clinical Microbiology and Infection 2001; 7 (suppl 2) :1-7.
7. De Oliveira RD, Maffei CM, Martinez R. Nosocomial urinary tract infections by Candida species. Rev Assoc Med Bras 2001; 47 (3): 231-5.
8. Sobel JD, Vazquez JA. Fungal infections of the urinary tract. World J Urol 1999; 17(6): 410-414.
9. Edwards JE. Candida species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infections Diseases, 5. Edition. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000: 2656-2674.
10. Warren NG, Hazen KC. Candida, Cryptococcus and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 6. Edition. American Society for microbiology, Washington, 1995: 723-737.
11. McGinnis MR, Tilton RC. Fundamental of Mycology. In: Howard BJ, Keiser JF, Weissfeld AS, Smith TF, Tilton RC (eds): Clinical and Pathogenic Microbiology, second edition Mosby St. Louis, 1994: 543-560
12. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Laboratory Methods in Basic Mycology. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Mosby, St. Louis, 2002: 711-797.

13. Hazen KC, Howell SA. Candida, Cryptococcus and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. Edition. American Society for microbiology, Washington, 2003: 1693-1711.
14. Fromtling RA, Rhodes JC, Dixon DM. Taxonomy, classification and morphology of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. Edition. American Society for microbiology, Washington, 2003: 1653-1658.
15. De Hoog GS, Guarro J, Tan CS, Winternans RGF, Gene J. Pathogenic fungi and common opportunists. In: De Hoog GS, Guarro J (eds): Atlas of Clinical Fungi 1995: 1-238.
16. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Mycology. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5. Edition. Philadelphia, Lippincott 1997: 983-1069.
17. Yıldırım ŞT. Mantar infeksiyonlarında laboratuvar tanı. Ustaçelebi Ş. (ed): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Güneş kitabevi, Ankara, 1999: 1129-1144.
18. McGinnis MR, Tilton RC. Yeasts. In: Howard BJ, Keiser JF, Weissfeld AS, Smith TF, Tilton RC (eds): Clinical and Pathogenic Microbiology, second edition Mosby St. Louis, 1994: 615-621.
19. Krcmery S, Dubrava M, Krcmery V. Fungal urinary tract infections in patients at risk. Int J Antimicrob Agents 1999;11(3-4):289-291.
20. Alvarez-Lerma F, Nolla-salas J, Leon C, Palomar M, Jorda R, Carrasco N et al. Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. Intensive Care Med 2003;29 (7): 1069-1076.
21. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections. Clinical Microbiology Reviews 1996; 9 (4): 499-511.
22. Fisher-Hoch SP, Hutwagner L. Opportunistic candidiasis: an epidemic of the 1980s. Clin Infect Dis 1995;21:897-904.
23. Bodey GP. The emergence of fungi as major hospital pathogens. J Hosp Infect 1988;11:411-426.
24. Edwards JE. Invasive candida infections-evolution of a fungal pathogen. N Engl J Med 1991;324:1060-1062.

25. Anaissie E, Bodey GP. Nosocomial fungal infections: old problems and new challenges. *Infect Dis Clin North Am* 1989; 3: 867-882.
26. Harvey RL, Myers JP. Nosocomial fungemia in a large community teaching hospital. *Arch Intern Med* 1987;147: 2117-2120.
27. Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1993;6: 428-442.
28. Crislip MA, Edwards JE. Candidiasis. *Infect Dis Clin N Am* 1989;3 (2):103-133.
29. Pfaller MA. Epidemiology and control of fungal infections. *Clin Infect Dis* 1993;19:8-13.
30. Lundstrom I, Sobel J. Nosocomial Candiduria: A review. *Clin Infect Dis* 2001;32 (11):1602-1607.
31. Platt R, Polk BF, Murdock B, et al. Risk factors for nosocomial urinary tract infection. *Am J Epidemiol* 1986;124:977-985.
32. Schaberg DR, Culver AH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* 1991;91(suppl 3B):72-74.
33. Rivett AG, Perry JA, Cohen J. Urinary candidiasis: a prospective study in hospital patients. *Urol Res* 1986;14 (4):183-186.
34. Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, Gallis HA, McKinsey DS, Karchmer A, et al. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2000;30:14-18.
35. Fischer JF, Chew WH, Shadomy S, et al. Urinary tract infections due to *Candida albicans*. *Rev Infect Dis* 1982;4:1107-1118.
36. Stamm WE. Catheter-associated urinary tract infections: epidemiology, pathogenesis, and prevention. *Am J Med* 1991;91(suppl 3B):65-71.
37. Gubbins PO, McConnell SA, Penzak SR. Current management of funguria. *Am J Health Syst Pharm* 1999;56 (19): 1929-1935.
38. Urinary Candidiasis. <http://www.doctorfungus.org/mycoses>.
39. Morera Y, Torres-Rodriguez JM, Catalan I, Granadero A, Josic Z, Alvarez-Lerma F et al. Candiduria in patients with urethral catheter admitted in Intensive Care Unit. Etiology and in vitro susceptibility to flukonazole. *Med Clin* 2002; 118 (15):580-582.

40. Ener B. Hastane infeksiyonu etkeni olarak mantarlar. İçinde: Ustaçelebi Ş. (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş kitabevi, Ankara, 1999: 1123-1128.
41. Maenza JR, Merz WG. *Candida albicans* and related species. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. (eds) *Infectious Diseases*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2004: 2197-2206.
42. Bodey GP. *Candidiasis: pathogenesis, diagnosis, and treatment*. Raven Press New York, 1993.
43. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* 2001;9(7):327-335.
44. Willke Topçu A, Çerikçioğlu N. *Candida* türleri. İçinde: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds) *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 1797-1809.
45. Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol* 1991; 45:187.
46. Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1999,12 (1):80-96.
47. Edison AM, Manning-Zweerink M. Comparison of the extracellular proteinase activity produced by a low-virulence mutant of *Candida albicans* and its wild-type parent. *Infect Immun* 1988;56:1388.
48. Hedderwick S, Kauffman CA. Opportunistic fungal infections: Superficial and systemic candidiasis. *Geriatrics* 1997;52 (10): 50-59.
49. Aktaş F. Kandidüri: Klinik önemi ve tedavi yaklaşımı. *Flora dergisi* 2001;6(3):145-150.
50. Sivrel A. Kandidüri: Klinik önemi ve tedavi yaklaşımı. *İnfeksiyon dergisi* 1998;12 (2):227-280.
51. Febré N, Silva V, Medeiros EA, Wey SB, Colombo AL, Fischman O. Microbiological characteristics of yeasts isolated from urinary tracts of intensive care unit patients undergoing urinary catheterization. *J Clin Microbiol* 1999;37 (5): 1584-1586.

52. Kullberg BJ, Oude Lashof AM. Epidemiology of opportunistic invasive mycoses. *Eur J Med Res* 2002; 7 (5):183-191
53. Larocco MT. Reagents, Stains, and Media: Mycology. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 8. Edition. American Society for microbiology, Washington, 2003;1686-1692.
54. Yücel A, Kantarcıoğlu SA. *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler. *Cerrahpaşa J Med* 1999; 30 (3): 236-246.
55. Çerikçioğlu N. Mantar infeksiyonlarında seroloji ve deri testleri. İçinde: Ustaçelebi Ş. (ed) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi, Ankara, 1999: 1145-1153.
56. Koç AN. Mantarlarda moleküler tanı yöntemleri. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, Kongre kitabı, Ankara. 2001: 105-110.
57. İnci R. Antifungal ilaçlar. İçinde: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (eds) *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 296-308.
58. Arıkan S, Rex JH. Antifungal agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover RH (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 8. Edition. American Society for microbiology, Washington, 1859-1868.
59. Uzun Ö. Sistemik etkili antifungal ajanlar. İçinde: Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (eds) *Antibiyotikler*, Ankara 2003: 469-480.
60. Medoff G. The mechanism of action of amphotericin B. In: Van den Bossche H. (ed) *International Symposium on aspergillus and aspergillosis*. Plenum Press, New York 1988 :161-164.
61. Sokol-Anderson ML, Brajtburg J, Medoff G. Amphotericin B induced oxidative damage and killing of *Candida albicans*. *J Infect Dis* 1986;154:76-83.
62. Arıkan S, Rex HJ. Lipid-based antifungal agents: current status. *Curr Pharm Des* 2001;7:393-415.
63. İlkit M. Yüzeyel mikozların tedavisinde kullanılan antifungal ilaçlar. *Ankem dergisi* 2000;14(3):280-285.

64. Manso E, Montillo M, Discepoli G, Leoni P. Flukonazole rezistance of *Candida krusei*. *Boll Ist Sieroter* 1991;70:527-529.
65. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones N, Doern GV, Brandt ME et al. Trends in species distribution and susceptibility to flukonazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United states. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;33:217-222.
66. Baran J, Klauber E, Barczak J, Riederer K, Khatib R. Trends in antifungal susceptibility among *Candida* sp. urinary isolates from 1994 and 1998. *J Clin Microbiol* 2000;38:870-871.
67. Pfaller MA, Messer SA, Gee S, Joly S, Pujol C, Sullivan DJ et al. In vitro susceptibilities of *Candida dubliniensis* isolates tested against the new triazole and echinocandin antifungal agents. *J Clin Microbiol* 1999;37:870-872.
68. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to flukonazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1-8.
69. Donnelly JP, De Pauw BE. Voriconazole-a new therapeutic agent with an extended spectrum of antifungal activity. *Clin Microbiol Infect* 2004;10 (suppl 1): 107-117.
70. Jeu L, Piacenti FJ, Lyakhovetskiy AG, Fung HB. Voriconazole. *Clin Ther* 2003; 25 (5):1321-1381.
71. Purkins L, Wood N, Greenhalgh K, Allen MJ, Oliver SD. Voriconazole, a novel wide-spectrum triazole: oral pharmacokinetics and safety. *Br J Clin Pharmacol* 2003;56 (suppl 1):10-16.
72. Akan H. Yeni azoller. *Ankem dergisi* 2003;17(3):307-309.
73. Kiraz N. Antifungal tedavide yenilikler. *Türkiye klinikleri farmakoloji dergisi* 2003;1(2):186-193.
74. Letscher-Bru VL, Herbrecht R. Caspofungin: the representative of a new antifungal class. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 51:513-521.
75. Uzun Ö. Ekinokandinler. *Ankem dergisi* 2003;17(3):304-306.
76. Denning DW. Echinocandin antifungal drugs. *Lancet* 2003; 362:1142-1151.
77. Uzun Ö. Hastane infeksiyonlarının tanımları. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 1997;1(1):11-12.

78. Bilgehan H Gram boyama yöntemleri. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 2. Baskı, Barış Yayınları, İzmir 1995: 76-80
79. National Committee for Clinical Laboratory Standards Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard-Second edition. NCCLS document M27-A2, Wayne, Pennsylvania, 2002
80. Warnock DW, Johnson EM, Rogers TRF et al Multi-centre evaluation of the Etest method for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* Journal of Antimicrobiol Chemotherapy 1998;42:321-331.
81. Uzun Ö, Arıkan S, Kocagöz S, Sancak B, Ünal S Susceptibility testing of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against yeast isolates in a Turkish University Hospital and effect of time of reading Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2000; 38: 101-107.
82. Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, Etest and disk diffusion methods. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2002;46(6): 1781-1784.
83. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. Biyoistatistik. 8. Baskı Hatipoğlu Yayınları Ankara, 1998.
84. Dawson-Saunders B, Trapp R.G. Basic and Clinical Bioistatistics, International Edition, 1990.
85. Sobel JD. Management of asemptomatic candiduria. Int J Antimicrob Agents 1999;11(3-4):289-91
86. Goldberg PK, Kozinn PJ, Wise GJ, Nouri N, Brooks RB Incidence and significance of candiduria JAMA 1979;241(6):582-4
87. Yıldız O, Karademir A, Dalva I, Akan H. Nosocomial Urinary Tract Infections in Geriatric Male Patients The 4th World Congress of The Aging Male 2004.
88. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolates from pediatric and adult patients with bloodstream infections: Sentry Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. Journal of Clinical Microbiology 2002;40(3):852-856.

89. Tatic M, Stanic-Canji D, Draskovic B, Komarcevic A, Gajdobranski D. Role of importance of fungal infections in intensive care units. *Med Pregl* 2003;56(11-12):537-541.
90. Pittet D, Harbarth S, Ruef C, Francioli P, Sudre P, Petignat C et al. Prevalence and Risk Favtors for Nosocomial Infections in four University Hospitals in Swizerland. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1999; 20 (1): 37-42
91. Chen YC, Chang SC, Sun CC, Yang LS. Secular Trends in the Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections at a Teaching Hospital in Taiwan, 1981 to 1993 . *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1997;18(5): 369-375.
92. Nassoura Z, Ivatury RR, Simon RJ, Jabbour N, Stahl WM. Candiduria as an early marker of disseminated infection in critically ill surgical patients: the role of fluconazole therapy. *J. Trauma* 1993 ;35(2):290-294.
93. Bochicchio GV, Joshi M, Shih D, Bochicchio K, Tracy K, Scalea TM. Reclassification of urinary tract infections in critically ill trauma patients. *Surg Infect (Larchmt)* 2003 ;4(4):379-385.
94. Rees JR, Pinner RW, Hajjeh RA, Brant ME, Reingold AL. The epidemiological features of invazive mycotic infections in San Francisco bay area, 1992-1993: result of population-based laboratory active surveillance. *Clin Infect Dis* 1998; 27:1138-47.
95. MacDonald L, Baker C, Chenoweth C. Risk faktors for candidemia in a children's hospital. *Clin Infect Dis* 1998;26:642-645.
96. Roilides E, Kadiltsoglou I, Zahides D, Bibashi E. Invazive candidosis in pediatric patients . *Clin Microbiol Infect* 1997;3(2): 192-197
97. Baley JE, Kliegman RM, Fanaroff AA. Dissemine fungal infections in very low-birth-weight infants: clinical manifestations and epidemiology. *Pediatrics* 1984;73(2):144-52.
98. Macias AE, Arreguin V, Nieto MA, Munoz JM, Medina H. Catalase test (Uriscreen) in the detection of bacteriuria-candiduria in hospitalized adults with foley catheter. *Rev Invest Clin* 2002 ;54(6):521-526.

99. Alvarez-Lerma F, Nolla J, Palomar M, Leon MA Treatment approach for fungal infections in critically ill patients admitted to intensive care units: results of a multicenter survey *Enferm Infec Microbiol Clin* 2003;21(2):83-88
100. İnci R, Tümbay E. Nosocomial fungal infections. In: Tümbay E, İnci R (eds): The International Symposium and Workshop on Hospital Hygiene and Hospital Infection Control 7-11 October 1996, İzmir 1996;129-36.
101. İnci R, Hilmioğlu S. Nozokomiyal fungal infeksiyonlara yaklaşım *Klinik dergisi* 2000;13 :28-31.
102. Fındık D, Tuncer İ. Nosocomial Fungal Infections in a Teaching Hospital in Turkey: Identification of the Pathogens and Their Antifungal susceptibility Patterns *Türk J Med Sci (TÜBİTAK)* 2002; 32:35-38.
103. Sayğan S. Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı, fosfolipaz aktivitesi, flukonazol ve amfoterisin B duyarlılıklarının araştırılması. Uzmanlık tezi, Antalya 2001.
104. Kaya D, Yıldız Ü, Durmaz G, Kiraz N. İdrar yolu infeksiyonu etkeni olan mayaların dağılımı. XXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, Antalya 11-15 Nisan 1994:187.
105. Kiraz N, Akgün Y, Yenidoğan, Hematoloji, Anestezi Yoğun Bakım ve Genel Cerrahi Yoğun Bakım Hastalarının İdrar Kültürlerinden İzole Edilen Maya Türleri. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Özet Kitabı, Antalya, 8-13 Ekim 2000 :366.
106. Durupınar B, Saniç A, Pekbay A, Günaydın M, Özdemir Ş. Hastane kaynaklı kandidüri. *Mikrobiyoloji Bülteni* 30:171-176, 1996.
107. Colombo AL, Nakagawa Z, Valdetaro F, Branchini ML, Kussano EJ, Nucci M. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp collected from Brazilian tertiary care hospitals. *Med Mycol* 2003;41(3):235-239
108. Morace G, Amato G, Bistoni F, Fadda G, Marone P, Montagna MT et al. Multicenter comparative evaluation of six commercial systems and the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A broth microdilution method for flukonazole susceptibility testing of *Candida* species. *Journal of Clinical Microbiology* 2002;40(8):2953-2958.

109. Kiraz N, Erturan Z, Uzun M, Durmaz G, Us I, Akgün Y, Anđ Ö. Üçyüz C. albicans suşunun amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve mikonazole karşı duyarlılıklarının araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1997;27:121-124.
110. Orhon H, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Tünger Ö, Sivrel Arısoy A. İnfeksiyon etkeni olan Candida albicans suşlarında slime üretimi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1998; 28:103-106.
111. Ermertcan Ş, İnci R, Hilmioğlu S, Tümbay E. Kan kültürlerinden soyutlanan candida kökenlerinin flukonazole in vitro duyarlılığı. Infeksiyon Derg 1998; 12(4):531-533.
112. Pfaller MA, Diekema DJ, Boyken L, Messer SA, Tendolkar S, Hollis RJ. Evaluation of the E-test and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of Candida glabrata to flukonazole and voriconazole. Journal of Clinical Microbiology 2003;41(5):1875-1880.
113. Yang YL, Ho YA, Cheng HH, Ho M, Lo HJ. Susceptibilities of Candida species to amphotericin B and fluconazole: the emergence of fluconazole resistance in Candida tropicalis. Infect Control Hosp Epidemiol 2004;25(1):60-64.
114. Yang YL, Cheng HH, Ho YA, Hsiao CF, Lo HJ. Fluconazole resistance rate of Candida species from different regions and hospital types in Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2003;36(3):187-191.
115. Tortorano AM, Rigoni AL, Biraghi E, Prigitano A, Viviani MA and the FIMUA-ECMM candidaemia study group. The European Confederation of Medical Mycology (ECMM) survey of candidaemia in Italy: antifungal susceptibility patterns of 261 non-albicans Candida isolates from blood. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2003;52:679-682.

116. Kovacicova G, Krupova Y, Lovaszova M, Roidova A, Trupl J, Liskova A. Antifungal susceptibility of 262 bloodstream yeast isolates from a mixed cancer and non-cancer patient population: is there a correlation between in-vitro resistance to fluconazole and the outcome of fungemia. *J Infect Chemother* 2000;6(4):216-221.
117. Myoken Y, Kyo T, Fujihara M, Sugata T, Mikami Y. Clinical significance of breakthrough fungemia caused by azole-resistant *Candida tropicalis* in patients with hematologic malignancies. *Haematologica* 2004;89(3):378-380.
118. Swinne D, Watelle M, Van der Flaes M, Nolard N. In vitro activities of voriconazole (UK-109-496), fluconazole, itraconazole and amphotericin B against 132 non-albicans bloodstream yeast isolates. *Mycoses* 2004;47(5-6):177-183.
119. Duran MT, Velasco D, Canle D, Moure R, Villanueva R. Antifungal susceptibility of *Candida* spp. Isolates from blood cultures in a five-year period (1997-2001). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21(9):488-492.
120. Marco F, Pfaller MA, Messer S, Jones RN. In vitro activities of voriconazole (UK-109,496) and four other antifungal agents against 394 clinical isolates of *Candida* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1998;42(1):161-163.
121. Wroblewska MM, Swoboda-Kopec E, Rokosz A, Krawczyk E, Marchel H, Luczak M. Epidemiology of clinical isolates of *Candida albicans* and their susceptibility to triazoles. *Int J Antimicrob Agents* 2002;20(6):472-475.
122. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ. Guidelines for treatment of Candidiasis. *Clinical Infectious Diseases* 2004;38:161-189.
123. Sanati H, Belanger P, Fratti R, Ghannoum M. A new triazole, voriconazole (UK-109,496), blocks sterol biosynthesis in *Candida albicans* and *Candida krusei*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1997; 41(11):2492-2496.

124. Belanger P, Sanati H, Fratti R, Ibrahim A, Ghannoum M. Effect of UK-109,496 on growth and ultrastructure of flukonazole-sensitive and flukonazole-resistant *Candida albicans* strains, abstr. F75. In abstracts of the 96th General Meeting of the American Society for Microbiology, American Society for Microbiology, Washington, D.C 1996.
125. Hitchcock CA, Pye GW, Oliver GP, Troke PF. UK-109,496, a novel, wide-spectrum triazole derivative for the treatment of fungal infections: antifungal activity and selectivity in vitro, abstr. F72. In abstracts of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology, Washington, D.C
126. Jezequel CA, Clark M, Cole S, Evans KE, Wastall P. UK-109,496, a novel, wide-spectrum triazole derivative for the treatment of fungal infections: pre-clinical pharmacokinetics, abstr. F76. In abstracts of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology, Washington, D.C
127. Marco F, Danés C, Almela M, Jurado A, Mensa J, Puig de la Bellacasa J, Espasa M, Martinez JA, Jiménez de Anta MT. Trends in frequency and in vitro susceptibilities to antifungal agents, including voriconazole and anidulafungin, of *Candida* bloodstream isolates. Results from a six-year study (1996-2001). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2003 (46):259-264.
128. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN. In vitro activities of caspofungin with those of fluconazole and itraconazole against 3,959 clinical isolates of *Candida* spp., including 157 fluconazole-resistant isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003; 47(3):1068-1071
129. Laverdiere M, Restieri C, Habel F. Evaluation of the in vitro activity of caspofungin against bloodstream isolates of *Candida* species from cancer patients: comparison of Etest and NCCLS reference methods. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2002;20:468-471.

130. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Huynh H, Hollis RJ. Clinical Evaluation of Frozen Commercially Prepared Microdilution Panel for Antifungal Susceptibility Testing of Seven Antifungal Agents, Including the New Triazoles Posaconazole, Ravuconazole, and Voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* 2002;40(5):1694-1697.
131. Ener B. Antitüberküloz ve antifungal duyarlılık testlerinde yenilikler: Antifungal duyarlılık testleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, İstanbul* 1997;33:126-134.
132. Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA, Rinaldi MG. Comparison of E-test and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for azole antifungal susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 1995;33(3):535-540.
133. Chen SC, O'Donnell ML, Gordon S, Gilbert GL. Antifungal susceptibility testing using the E-test: Comparison with the broth macrodilution technique. *J Antimicrob Chemother* 1996;37:265-273.
134. Van Eldere J, Joosten L, Verhaeghe A, Surmont I. Fluconazole and amphotericin B antifungal susceptibility testing by National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method compared with E-test and semiautomated broth microdilution test. *J Clin Microbiol* 1996;34(4):842-847.
135. Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Erwin ME, Jones RN. Interlaboratory evaluation of E-test method for testing antifungal susceptibilities of pathogenic yeast to five antifungal agents by using casitone agar and solidified RPMI 1640 medium with 2% glucose. *J Clin Microbiol* 1996;34(4):848-852.
136. Matar MJ, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. Correlation between E-test, Disk Diffusion, and Microdilution Methods for Antifungal Susceptibility Testing of Fluconazole and Voriconazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003; 47(2):1647-1651.

- 137 Kantarcıoğlu SA, Yücel A. Candida, Cryptococcus, Trichosporon ve Malassezia spp kökenlerinin antifungallere duyarlılıklarının belirlenmesinde mikrodilüsyon ve E-test yöntemlerinin referans makrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002;26(1):76-83.
- 138 Espinel-Ingroff AV, Pfaller MA. Susceptibility Test Methods: Yeasts and Filamentous Fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. Edition. American Society for microbiology, Washington, 2003: 1880-1893.

EKLER

Ek 1 Nozokomiyal Kandidürili Hastaların Özellikleri ve Risk Faktörlerinin değerlendirildiği anket formu

- 1) Hastanın adı-soyadı :
- 2) Yaş :
- 3) Dosya No:
- 4) Bölümler:
 - 1)Yenidoğan 2) Pediatri yoğun bakım
 - 3) Dahiliye yoğun bakım / Reanimasyon
 - 4) Organ transplantasyonu 5) Hematoloji-onkoloji
 - 6) Cerrahi Birimler 7) Dahili Birimler 8) Diğer
- 5) Cinsiyet: 1) kadın 2) erkek
- 6) Yatış tarihi :
- 7) Primer hastalık (altta yatan hastalık)
 - 1) travma 2) malignite 3) prematürite 4) yanık 5) transplantasyon
 - 6)hemipleji / subaraknoid kanama / anevrizma / ansefalit / hipertansiyon
 - 7) böbrek ve idrar yolu hastalıkları 8) akciğer ve kalp hastalıkları 9) diğer
- 8) Hastada nozokomiyal infeksiyon (kandidüri) tanısı bulguları :
 - 1) ateş 2) piyüri 3)direkt idrar mikroskopisinde maya 4) diğer
- 9) Eşlik eden diğer hastane infeksiyonları
 - 1) pnömoni 2) sepsis 3) menenjit 4) bakteremi
 - 5) idrar yolu infeksiyonu 6) yok
- 10) İdrar kültür sonucu (API ID 32C) :
 - 1) *C. albicans* 2) *C. glabrata* 3) *C. famata* 4) *C. kefyr*
 - 5) *C. parapsilosis* 6) *C. guilliermondii* 7) *C. tropicalis* 8) *C. krusei*
 - 9) *C. dubliniensis* 10) *Saccharomyces cerevisiae* 11) diğer
- 11) Daha önceden İYE (bakteriyel) geçirme hikayesi : 1) var 2)yok
- 12) Daha önceden İYE (fungal) geçirme hikayesi : 1) var 2)yok
- 13) Herhangi bir nedenle önceden alınan antifungal tedavi varlığı:1) var 2)yok
- Kullanılan antifungal:1) Amfoterisin B 2) Flukanozol 3)İtrakonazol 4) diğer
- 14) Kateter (foley): 1) var 2) yok
- 15) Steroid kullanımı: 1) var 2) yok
- 16) İmmünsüpresif tedavi: 1) var 2) yok
- 17) 1)Nötropenik 2) nonnötropenik
- 18) Diyabet: 1) var 2) yok
- 19) Diyaliz 1)var 2) yok
- 20) Üriner sistemde obstrüksiyon-taş: 1) var 2) yok
- 21) Üriner sistemle ilgili cerrahi girişim: 1) var 2) yok
- 22) Eş zamanlı kan kültüründe üreme: 1) var 2)yok
- 23) Kullandığı antifungal tedavi: 1) Amfoterisin- B 2) Flukonazol 3) diğer