

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKOLOJİ BİLİM DALI**

**YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE YATAN HASTALARDA
CANDIDA KOLONİZASYONUNUN EPİDEMİYOLOJİK
VE İNVİTRO ANTİFUNGAL DUYARLILIK YÖNÜNDEN
İNCELENMESİ**

UZM. DR. AYSUN KAYA

DANIŞMAN: PROF. DR. ZAYRE ERTURAN

YANDAL UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL-2012

TEŞEKKÜR

Deneyimleri ve desteği için İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Bülent Gürler'e,

Mikoloji Yan Dal Uzmanlık eğitimim süresince her an yanımda olan, değerli bilgilerinden yararlandığım ve tez çalışmalarım sırasında her türlü desteği sağlayan hocam Sayın Prof. Dr. Zayre Erturan'a,

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof.Dr Meltem Uzun'a, Prof.Dr Yıldız Yeğenoğlu'na,

Değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Selim Badur, Sayın Prof. Dr. Şengül Derbentli, Sayın Prof. Dr. Nezahat Gürler, Sayın Prof. Dr. O. Şadi Yenen, Sayın Prof. Dr. Ali Ağaçfidan, Sayın Prof. Dr. Çiğdem Kayacan, Sayın Prof. Dr. Betigül Öngen, Sayın Prof. Dr. M. Derya Aydın, Sayın Prof. Dr. Y. Ali Öner, Sayın Prof. Dr. Arif Kaygusuz, Sayın Doç. Dr. Özden Büyükbaba Boral ve Sayın Doç. Dr. Zerrin Aktaş'a,

Tez çalışmalarım sırasında her türlü desteği sağlayan Sayın Prof.Dr. Nahit Çakar, Sayın Doç Dr. A. Atahan Çağatay, Sayın Doç.Dr. Perihan Ergin Özcan ve Uzm. Dr. Günseli Orhun' a

Yandal uzmanlık eğitimim boyunca yan yana çalıştığım bütün tıpta uzmanlık öğrencisi, yüksek lisans öğrencisi, doktora öğrencisi, bilim uzmanı, biolog ve laboratuvar teknisyeni arkadaşlarıma,

Yapmak istediğim her şey için beni desteklemekten bir an bile vazgeçmeyen ebeveynlerime, kardeşlerime, eşime ve çocuklarıma teşekkür ederim.

Uzm. Dr. Aysun KAYA

İstanbul 2012

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
TEŞEKKÜR	2
İÇİNDEKİLER.....	3
TABLolar LİSTESİ	8
ŞEKİLLER LİSTESİ	9
KISALTMALAR LİSTESİ	10
ÖZET	12
ABSTRACT	14
1. GİRİŞ VE AMAÇ	16
2. GENEL BİLGİLER	19
2.1. Mantarların sınıflandırılması	19
2.2. <i>Candida</i> cinsi.....	19
2.2.1. Tarihçe.....	19
2.2.2. <i>Candida</i> ’ ların sınıflandırılması	20
2.2.3. <i>Candida</i> türlerinin genel morfolojik, üreme ve biyokimyasal özellikleri	21
2.2.3.1. Tıbbi önemi olan <i>Candida</i> türleri ve özellikleri	21
2.2.3.1.1. <i>Candida albicans</i>	21
2.2.3.1.2. <i>Candida dubliniensis</i>	23
2.2.3.1.3. <i>Candida glabrata</i>	23
2.2.3.1.4. <i>Candida guilliermondii</i>	23
2.2.3.1.5. <i>Candida kefyr</i>	24
2.2.3.1.6. <i>Candida krusei</i>	24
2.2.3.1.7. <i>Candida lusitanae</i>	24
2.2.3.1.8. <i>Candida parapsilosis</i>	24
2.2.3.1.9. <i>Candida tropicalis</i>	25
2.2.4. <i>Candida</i> türlerinin identifikasyonu	25
2.2.4.1. %1 Tween 80’ li MUJ’ da morfolojik özelliklerinin saptanması	25
2.2.4.2. Germ tüp testi.....	25
2.2.4.3. Kromojenik besiyerlerinde morfolojik özelliklerin belirlenmesi	25
2.2.4.4. Ticari asimilasyon ve fermentasyon kitleri	26

2.2.4.5. <i>C. albicans</i> ve <i>C. dubliniensis</i> ayrımı için uygulanan testler.....	26
2.2.4.6. Antijenik ve moleküler temelli yöntemler	27
2.2.5. <i>Candida</i> ’ ların virölans faktörleri	28
2.2.5.1. Adezyon ve biyofilm oluşumu	28
2.2.5.2. Maya-hif morfogenetik değişimi	29
2.2.5.3. Salgısal aspartil proteaz (sap) ve fosfolipazların üretimi	29
2.2.5.4. Fenotipik değişim	29
2.2.6. Patogenez.....	30
2.3. <i>CANDIDA</i> İNFEKSİYONLARI	30
2.3.1. Yüzeyel kandidiyazis.....	31
2.3.2. İnvazif kandidiyazis.....	31
2.3.3. Epidemiyoloji.....	31
2.3.4. Risk grupları ve risk faktörleri	32
2.3.5. Tür Dağılımı.....	34
2.3.6. Klinik tablolar	36
2.3.7. <i>Candida</i> infeksiyonlarında laboratuvar tanı.....	38
2.3.7.1. Direkt mikroskopik inceleme.....	38
2.3.7.2. Kültür.....	38
2.3.7.3. İmmünolojik yöntemler	39
2.3.7.3.1. Antikorları saptayan testler	39
2.3.7.3.2. Antijen saptayan testler	40
2.3.7.3.3. <i>Candida</i> metabolitlerinin saptanması.....	40
2.3.7.3.4. Moleküler Yöntemler	41
2.3.7.3.5. Ampirik Tedavi için Tanısal Yaklaşımlar.....	41
2.3.7.3.5.1. <i>Candida</i> kolonizasyonu ve kolonizasyon indeksi	41
2.3.7.3.5.2. <i>Candida</i> skoru.....	42
2.3.7.3.5.3. Ostrosky-Zeichner tahmin kuralı.....	42
2.4. ANTİFUNGAL İLAÇLAR.....	43
2.4.1. Polyenler.....	43
2.4.2. Flusitozin.....	44
2.4.3. Azoller	44
2.4.3.1. Ketokonazol	44
2.4.3.2. Flukonazol	44

2.4.3.3. İtrakonazol.....	45
2.4.3.4. Vorikonazol.....	45
2.4.3.5. Posakonazol.....	45
2.4.3.6. Ravukonazol.....	45
2.4.3.7. Albukonazol	45
2.4.3.8. İsavukonazol	46
2.4.4. Ekinokandinler	46
2.5. ANTİFUNGAL DUYARLILIK / ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ ..	46
2.5.1. Sıvı bazlı referans yöntemler	47
2.5.1.1. Makrodilüsyon (113)	48
2.5.1.2. Mikrodilüsyon (113).....	49
2.5.2. Sıvı bazlı alternatif yöntemler	50
2.5.2.1. Kolorimetrik Yöntemler (Sensititre YeastOne, FUNGITEST, Trek)	50
2.5.2.2. Spektrofotometrik Yöntem.....	50
2.5.2.3. Akım Sitometrisi (Flow cytometry).....	50
2.5.2.4. VITEK 2 antifungal duyarlılık sistemi	50
2.5.3. Agar bazlı yöntemler	51
2.5.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi	51
2.5.3.2.E Test yöntemi	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	52
3.1. Hasta grubu.....	52
3.2. ÖRNEKLERİN ALINMASI.....	52
3.3. <i>CANDIDA</i> KOLONİZASYON İNDEKSİNİN HAZIRLANMASI	52
3.4. KÜLTÜR İŞLEMLERİ	53
3.4.1. Kültür için kullanılan besiyerlerinin hazırlanması.....	53
3.4.1.1. Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) (Becton Dickinson, ABD).....	53
3.4.1.2. CHROMagar <i>Candida</i> (CHROMagar <i>Candida</i> , Fransa)	53
3.4.2. Kültürlerin yapılması	53
3.5. ÜREMELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	53
3.5.1. Besiyerlerinde üreyen kolonilerin makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirilmesi	53
• Üreyen mikroorganizmalar Gram boyama yöntemi ile boyanarak maya olup 53	
3.5.2. Üreyen mayaların identifikasyonu	54

3.5.2.1. Mayaların tanımlanması için kullanılan besiyerlerinin hazırlanması	54
3.5.2.1.1. Mısır unlu jeloz (MUJ).....	54
3.5.2.1.2. Kuş tohumu (Staib) agar	54
3.5.2.1.3. %6,5 NaCl içeren SDA	54
3.5.2.2. Mayaların identifikasyonu için deneylerin uygulanması	54
3.5.2.2.1. Dalmau plate yöntemi (MUJ)	54
3.5.2.2.2. Germ tüp testi	55
3.5.2.3. API 20C AUX (BioMerieux,France).....	55
2.5.2.2.4. <i>C. albicans</i> ve <i>C. dubliniensis</i> ayırımı için uygulanan deneyler	55
A. Staib agar'da üreme özelliği.....	55
B. Tuz tolerans testi	55
C. Isı tolerans testi	55
3.6. Antifungal duyarlılık testlerinin yapılması.....	56
3.6.1. Antifungal duyarlılık testlerinde kullanılan besiyerlerinin ve antifungal solüsyonların hazırlanması	56
3.6.1.1. RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, ABD) besiyerinin hazırlanması.....	56
3.6.1.2. Antifungal solüsyonların hazırlanması	56
3.6.2. Antifungal duyarlılık testinin uygulaması	57
3.6.2.1. İnokulumların hazırlanması	57
3.6.2.2. Duyarlılık deneyinin yapılması	57
3.6.2.3. Duyarlılık deneyi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	57
3.7. KALİTE KONTROL	58
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	58
3.9. ETİK KURUL ONAYI	58
4. BULGULAR	59
4.1. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ	59
4.2. HASTALARDA SAPTANAN <i>CANDIDA</i> KOLONİZASYON ORANLARI VE İNFEKSİYON/ KOLONİZASYON İLİŞKİSİ	61
4.3. HASTALARDA SAPTANAN KOLONİZASYON BÖLGESİ VE İNFEKSİYON İLE İLİŞKİSİ.....	62
4.4. HASTALARDA <i>CANDIDA</i> KOLONİZASYONUNUN YBÜ'NE YATIŞ SÜRESİ İLE İLİŞKİSİ	63

4.5. KOLONİZE OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN <i>CANDIDA</i> TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE ANTİFUNGAL KULLANIMI İLE İLİŞKİSİ	63
4.6. <i>CANDIDA</i> KOLONİZASYONU, İNFEKSİYONU VE RİSK FAKTÖRLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİSİ	64
4.7. HASTALARDAN İZOLE EDİLEN <i>CANDIDA</i> SUŞLARININ TÜRLERE VE ÖRNEKLERE GÖRE DAĞILIMI	67
4.8. Antifungal Duyarlılık Testi Sonuçları	69
5. TARTIŞMA.....	74
KAYNAKLAR.....	90



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1 Sık rastlanan <i>Candida</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri (27) .	22
Tablo 2. Mayaların tanımlanmasında kullanılan kromojenik besiyerlerindeki enzimatik aktiviteler (6)	26
Tablo 3. Etken olan <i>Candida</i> türlerine göre invazif kandidiyazisle ilişkili risk faktörleri(63).	35
Tablo 4. <i>Candida</i> türlerinin neden olduğu klinik tabloların infeksiyon tiplerine göre dağılımı	37
Tablo 5 CLSI tarafından sıvı mikrodilüsyon yönteminde antifungaller için önerilen sınır değerleri.	48
Tablo 6. Antifungallerin çözücüler, potens ve solüsyon konsantrasyon değerleri.	56
Tablo 7. Hastaların demografik ve klinik özellikleri	60
Tablo 8. Hastalardaki <i>Candida</i> kolonizasyonu ve infeksiyonunun Kİ değeri ile ilişkisi.	62
Tablo 9. Unifokal ve multifokal kolonizasyon saptanan hastaların örneklerinden izole edilen <i>Candida</i> türlerinin sayısı.	62
Tablo 10. Hastaların YBÜ' nde yatış süreleri ile kolonizasyon arasındaki ilişki.	63
Tablo 11. Antifungal tedavi alan ve almayan hastalarda kolonize olan <i>Candida</i> türlerinin dağılımı.	64
Tablo 12. Hastaların <i>Candida</i> kolonizasyon durumu ile risk faktörleri arasındaki ilişki.	65
Tablo 13. Hastalarda saptanan kolonizasyon ve infeksiyonun altta yatan hastalıklara göre dağılımı.	67
Tablo 14. <i>Candida</i> türlerinin izole edildikleri bölgelere göre üreme oranları.	69
Tablo 15. <i>Candida</i> suşlarının amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için saptanan MİK50 ve MİK90 değerleri' nin türlere göre dağılımı.	70
Tablo 16. <i>Candida</i> suşlarının amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol duyarlılık oranları (µg/ml).	71
Tablo 17. <i>Candida</i> türlerinin amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazole karşı antifungal duyarlılık sonuçları.	72

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Yatış süresince ortalama KI değerin in değ iş imi.....	61
Şekil 2. <i>Candida</i> üreme oranlarının örnek alınan bölgelere göre dağılımı.	68
Şekil 3. İzole edilen <i>Candida</i> suşlarının türlere göre dağılımı (%).	68



KISALTMALAR LİSTESİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AFLP: Amplified fragment lenght polymorphism

AIDS: Acquired immunodeficiency sendrom

Alsp: Agglutinin-like sequence protein

BHI:Beyin kalp infüzyon agar

BOS: Beyin omurilik sıvısı

Cfu: Colony forming unit

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CS: *Candida* skor

DNA: Deoksiribonükleik asit

DMSO: Dimethyl sülfoksid

ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay

EPIC: European Study on the Prevalence of Nosocomial Infections in Critically III patients

EUCAST-AFST: Antifungal Ssceptibility Testing Subcommittee of The European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

FC: Flusitozin

FDA: U.S.Food Drug and Administration

FISH: Fluorescent in situ hybridization

HIV: Human Immunodeficiency Virus

Hsp: Heat shock protein

Hwplp: Hyphal wall protein

ID: Immundifüzyon

IDSA: Infectious Diseases Society of America

INT1: Integrin like

ITS1/2: Internal transcribed spacer

Kİ: Kolonization indeksi

KOH: Potasyum hidroksit

KÜKENS: İstanbul Tıp Fakültesi Mikroorganizma ve Kültür Koleksiyonları Merkezi

MALDITOF-MS: Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass-spectrometry

MDG: Metil- α -D-glikozid

MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

MOPS: 3-N-morpholino propanesulfanic acid

MUJ: Mısır unlu jeloz

NaCl: Sodyum klorür

NASBA: Nucleic acid sequence based amplification

NNIS: National Nosocomial Infections Surveillance

NPD: Negatif prediktif değer

PAS: Periodic acit schif

PCR: Polimerase chain reaction

PFGE: Pulse field gel electrophoresis

PPD: Pozitif prediktif değer

RAPD: Randomly amplified polymorphic

rDNA: Ribozomal deoksiribonükleik asit

RPMI: Roswell Park Memorial Institute medium

rRNA: Ribozomal ribonükleik asit

Sap: Salgısal aspartik proteazlar

SDA: Saburaud dekstroza agar

XYL: Ksiloz

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

ÖZET

Kaya A. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda *Candida* kolonizasyonunun epidemiyolojik ve invitro antifungal duyarlılık yönünden incelenmesi.

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Tıpta Yandal Uzmanlık Tezi. İstanbul 2012.

Candida'lar yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'ndeki başlıca patojenlerdendir ve invazif kandidiyazis gelişimi ile ilgili risk faktörleri arasında *Candida* kolonizasyonu anahtar bir rol oynamaktadır.

Bu çalışmada, İstanbul Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan 87 hastadan *Candida* kolonizasyonunu belirlemek amacıyla 716 örnek alınmıştır. Örnekler CHROMagar'a ekilerek, üreyen mayalar, konvansiyonel yöntemler ve API 20 CAUX kiti kullanılarak tanımlanmıştır. *Candida* suşlarına mikrodilüsyon yöntemiyle amfoterisin B, itrakonazol, flukonazol ve vorikonazole duyarlılık testi uygulanmıştır.

En sık kolonize olan bölge orofarengeal (%70.1) olmak üzere, hastaların 69'unda (%79.3) kolonizasyon; 8'inde (%9.2) ise *Candida* infeksiyonu saptanmıştır. YBÜ'nde yatış süresi arttıkça kolonizasyon indeksinin (Kİ), kolonizasyon ve multifokal kolonizasyon oranlarının da anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. Kİ'nin infeksiyon açısından yüksek riskli hastaları ayırd etmedeki duyarlılığı, özgüllüğü, PPD ve NPD'leri sırasıyla %100, %45.6, %18.1 ve %100 olarak bulunmuştur. İnvazif kandidiyazis gelişiminin tahmini açısından üriner, orofarengeal ve rektal kolonizasyonun PPD ve NPD'leri sırasıyla %33, %12, %13.7 ve %100, %100, %97.2 olarak saptanmıştır.

Hastalardan izole edilen *Candida* türleri arasında ilk üç sırada *C. albicans* (%60,9), *C. glabrata* (%33,3) ve *C. tropicalis*' in (%23) bulunduğu belirlenmiştir. Antifungal alan ve almayan hastalarda izole edilen türler açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Mekanik ventilasyon, solid organ malignitesi ve çoklu antibiyotik kullanımı ile kolonizasyon; trakeostomi, çoklu antibiyotik kullanımı ve vankomisin tedavisi ile infeksiyon arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir. Toplam 369 *Candida* suşunun 20' si (%5.4) flukonazole, 31' i (%8,4) itrakonazole ve 5' i (%1,4) vorikonazole doza bağlı duyarlı; 15' i (%4,1) amfoterisin B'ye, 19' u (%5,2)

flukonazole, 7' si (%1,8) itrakonazole ve 2' si (%0.6) vorikonazole dirençli olarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Candida* kolonizasyonu, *Candida* enfeksiyonu, risk faktörleri, kolonizasyon indeksi, antifungal duyarlılık.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 10775



ABSTRACT

Kaya A. Investigation of epidemiological and in vitro antifungal susceptibility of *Candida* colonization in patients hospitalized in intensive care unit.

Istanbul University Istanbul Medical Faculty Microbiology and Clinical Microbiology Department. Istanbul. 2012.

Candida consist of the main pathogens in the intensive care units (ICU) and *Candida* colonization plays a key role among risk factors related the development of invasive candidiasis.

In this study, 716 samples were taken in order to determine *Candida* colonization from 87 patients which were hospitalized at the ICU of the Department of Anesthesiology and Reanimation, Faculty of Medicine, Istanbul University. The samples were inoculated on CHROMagar and growing yeasts were identified using conventional methods and the API 20 CAUX kit. Amphotericin B, itraconazole, fluconazole and voriconazole susceptibility testing to *Candida* strains were performed using the microdilution method.

The most common colonizing site was the oropharyngeal region (70.1%). Colonization and *Candida* infection were found in 69 (79.3%) and 8 patients (9.2%), respectively. It was determined that with increased length of stay in the intensive care unit, colonization index (CI) and multifocal colonization rates have also significantly increased. The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of the colonization index to distinguish patients with high risk for infection were found as 100%, 45.6%, 18.1% and 100%, respectively. In terms of predicting the development of invasive candidiasis, positive predictive value and negative predictive value for urinary, oropharyngeal and rectal colonization were found as 33%, 12%, 13.7% and 100%, 100%, 97.2%, respectively. The first three *Candida* species most isolated were found as *C. albicans* (60.9%), *C. glabrata* (33.3%) and *C. tropicalis* (23%). In terms of the isolated species, no significant difference was observed in patients receiving and not receiving antifungal therapy. A significant association was found between colonization with mechanical ventilation, solid organ malignancy and the use of multiple antibiotics; between infection with tracheostomy, the use of multiple antibiotic and vancomycin therapy. Of total 369 *Candida* strains, 20 (5.4%), 31 (8.4%)

and 5 (1.4%) were found dose dependent susceptible to fluconazole, itraconazole and voriconazole; 15 (4.1%), 19 (5.2%), 7 (1.8%) and 2 (0.6%) resistant to amphotericin B, fluconazol, itraconazole, and voriconazole respectively.

Key Words: *Candida* colonization, *Candida* infection, risk factors, colonization index, antifungal susceptibility.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 10775



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Candida cinsinden mayalar, günümüzde hem Avrupa hem de Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'ndeki başlıca patojenler arasında yer almaktadır (1). Bu yerlerde saptanan kandidemi insidansının, hastanelerin diğer bölümlerine göre 5-10 kat daha fazla ve mortalite oranlarının da daha yüksek olduğu bildirilmiştir (2).

İnvazif kandidiyazis gelişimi ile ilgili risk faktörleri arasında *Candida* kolonizasyonu anahtar bir rol oynamaktadır (3). Yine yüksek riskli hastalarda, multipl vücut bölgelerinin kolonize olması ağır enfeksiyon riskini arttırmakta ve önceden var olan kolonizasyonun yaygınlığı invazyon değişiminin habercisi olabilmektedir (1,4, 5, 6). Antibakteriyel tedavinin seçici baskısı, *Candida* türlerinin deri ve mukozal yüzeylerde aşırı çoğalmasıyla sonuçlanan flora değişikliğine neden olabilmektedir. Damar içi kateterler, gastrointestinal sistem cerrahisi gibi doğal deri ve mukozal bariyerleri bozan invazif işlemler ve kemoterapi ile ilişkili mukozit, lokal invazyonu ve daha sonra kandidemi oluşmasını kolaylaştırabilmektedir (3).

YBÜ' ne yatış anında, hastaların yalnızca %5-15' inde *Candida* kolonizasyonu saptandığı; bu oranın majör cerrahi, parenteral beslenme, diyaliz ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı gibi risk faktörlerine maruziyet süresinin uzamasıyla progresif olarak arttığı ve zamanla %50-80' lere ulaşabildiği bulunmuştur (7, 8, 9). Bununla birlikte, kolonize hastaların %5-30' unda ağır kandidiyazis geliştiği bildirilmektedir (10, 11). Bu hastalarda kolonizasyonun enfeksiyonu ön görmedeki değerinin belirlenmesi için, sürveyans kültürleri ile kolonizasyon takibinin etkinliği ve maliyeti araştırılmaktadır (1,12).

Kandidemi gelişimi için peritonit, abdominal cerrahi, önceki geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, parenteral nutrisyon, multipl lümenli kateterler, *Candida* cinsi ile önceden kolonizasyon, mekanik ventilasyon gibi risk faktörlerinin erken tanımlanması YBÜ' nde mantar enfeksiyonlarının yüksek mortalite oranını azaltmak için uygulanan ampirik tedavinin temel taşı haline gelmiştir (13). İnvazif kandidiyazis tedavisinin gecikmesiyle ilişkili kötü akibeti ve geleneksel tanı yöntemlerinin duyarlılık ve geri dönüş oranındaki, ek olarak antifungal profilaksi etkinliğindeki kısıtlamalar göz önüne alındığında, yararın maksimize, yan etkinliğinin ise minimize edilebilmesi için

hedefli erken antifungal uygulama stratejilerinin belirlenmesi vurgulanmaktadır. Bu nedenle, erken müdahaleye yol göstermek için klinik risk faktörlerinin *Candida* kolonizasyon parametreleriyle kombinasyonu önerilmektedir. Belirgin bölgesel farklılıklar nedeniyle, YBÜ' nde yatan hastalarda invazif kandidiyazis tedavisinin etkinliğinde lokal / ülkeye spesifik epidemiyolojik bilgilerin göz önüne alınması kritik öneme sahiptir (2).

Birden fazla anatomik bölgeden *Candida* spp izolasyonu, invazif kandidiyazis gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir ve bu bulgunun antifungal tedavi başlamak için yeterli olduğu öne sürülmüştür (4, 5, 14). Çalışmalar; kolonizasyon indeksinin (Kİ), antifungal tedavinin erken başlanmasından fayda görebilecek, kolonize kritik hastaların tanımlanmasında kullanılmasını önermektedir (15). Bu konuda cerrahi dışı hastalarla ilgili veriler sınırlıdır ve kritik hastalarda tedavinin maliyeti ve yararı için prospektif karşılaştırmalı klinik çalışmalara gereksinim vardır (16).

İnvazif *Candida* infeksiyonlarının giderek artması nedeniyle surveyans programları, sorumlu etkenlerin tür dağılımlarının ve antifungal direnç paternlerinin saptanmasıyla uygun ampirik antifungal tedavi için gerekli bilginin sağlanması önem kazanmaktadır. Ayrıntılı epidemiyolojik verilerin önemini vurgulayan çeşitli kaynaklardan elde edilen bilgiler, gecikmiş veya hatalı ampirik tedavi sonucunda mortalite oranlarının ve kaynak kullanımının arttığını göstermektedir. İnvazif kandidiyazis olgularının %30-50' sinin hastanede YBÜ' nde yatan hastalarda olduğu tahmin edilmektedir. Dünya genelinde çok sayıda antifungal surveyans programı olmasına rağmen, pek azı, YBÜ' nde invazif kandidiyazis etkeni türlerin dağılımını ve antifungal direnç profillerini açık bir şekilde tanımlamaktadır. Ek olarak bu programlar sıklıkla tek merkezli çalışmalarla sınırlı kalmıştır. Benzer olarak, sadece birkaç çalışmanın YBÜ ve hastanenin diğer bölümlerinden elde edilen *Candida* izolatların tür ve direnç profilleri açısından karşılaştırdığı görülmektedir (17). Epidemiyolojideki değişiklikler ve antifungal direncin oluşması, YBÜ' nde başta olmak üzere tıbbi uygulamalarda, kalıcı değişikliklere yol açmaktadır. Bu nedenle, yakın lokal epidemiyolojik veriler ve antifungallere duyarlılık konusundaki bilgiler kritik öneme sahiptir (10).

Bu alışmada İstanbul Tıp Fakóltesi YBÜ’nde yatan hastalarda *Candida* kolonizasyon indeksinin saptanması ve lokal epidemiyolojik özelliklerin, kolonizasyona ve enfeksiyona yol açan *Candida* türlerinin ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilecek sonuçlarla hastanemizin YBÜ’nde *Candida* kolonizasyonu ve enfeksiyonu ile ilgili lokal epidemiyolojik veriler analiz edilerek, bu mantarlarla oluşan kolonizasyonun enfeksiyonu ön görmedeki değerin belirlenmesi sağlanacaktır. Yine sürveyans kültürleriyle *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılık paternlerine dayanarak olası enfeksiyon öncesinde elde edilecek olan veriler uygun profilaktik veya preemptif antifungal tedaviye yol gösterecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantarların sınıflandırılması

Mantarların sınıflandırılması, çoğunlukla morfolojik ve spor oluşturma özelliklerine dayanmaktadır. Taksonomik sınıflandırma elektron mikroskopik, biyokimyasal ve moleküler özelliklere bağlı olarak sık sık değişmektedir. (18, 19). Elde edilen yeni bilgiler ışığında mantarlar aleminin yüksek düzeyde sınıflandırılması güncellenmiştir. İnsanlarda patojenik olan mantarları içeren en büyük kategori olan *Dikarya* alt alemi, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Önceden *Zygomycota* içinde sınıflandırılan mantarlar ise, *Mucoromycotina* ve *Entomophthoromycotina* alt bölümlerinden oluşan *Glomeromycota* bölümünde yer almaktadır. Bu alt bölümlerde sırasıyla, *Mucorales* ve *Entomophthorales* takımları yer almaktadır (20).

2.2. *Candida* cinsi

2.2.1. Tarihçe

Candida enfeksiyonu ilk kez, altta yatan hastalığı olan oral kandidiyazisli (pamukçuk) iki hastada tanımlanarak, Hippocrates tarafından 4. yüzyılda “Epidemics”de bildirilmiştir. Modern tıpta pamukçuğun tanımı ilk olarak; 1771 yılında Rosen von Rosenstein ve 1784 yılında Underwood tarafından yapılmıştır. Veron 1935’ de yenidoğanların gastrointestinal sisteminin doğum sırasında enfekte olabileceğini öne sürmüştür. Lagenbeck 1839 yılında, tıfıslı ve oral pamukçuklu bir olgudan elde edilen mantarı, yanlış olarak altta yatan hastalığa neden olan etken olarak tanımlamıştır. Bundan sadece üç yıl sonra 1842’ de Gruby tarafından oral pamukçuk ile mantar arasındaki direkt ilişki saptanmıştır. Daha sonraki yıllarda, çok sayıda araştırmacı patolojik olayların mayalarla ilişkisini göstermiştir (21, 22).

Mantar enfeksiyonlarının önemi; başta *Candida* enfeksiyonları olmak üzere, tıp alanındaki iki önemli gelişme ile artmıştır. Bunlardan birincisi, yirminci yüzyılın ikinci yarısında antibakteriyel ilaçların kullanıma girmesi ile konağın doğal mikroflora dengesinin mantarlar lehine bozulması sonucunda mantar enfeksiyonlarına yatkınlığın artmasıdır. İkincisi ise, kemoterapi veya “acquired immunodeficiency sendrom” (AIDS) gibi nedenlerle immunsuprese hastaların yaygınlığının artmasıyla birlikte *Candida* enfeksiyonlarında ve *C. albicans* dışı türlerin sıklığında artış olmasıdır. Bunlara ek

olarak, moleküler biyolojik araştırma tekniklerindeki gelişmeler sonucunda *Candida* infeksiyonlarının patogenezi ve immünolojisi üzerinde yapılan yoğun çalışmalar, tanı ve tedavide yeni yaklaşımların ortaya çıkmasını sağlamıştır. *Candida* infeksiyonları ile ilgili bu gelişmelere paralel olarak, daha güçlü ve yan etkileri daha az olan antifungallere duyulan gereksinim artmıştır (21).

Azol grubu ilaçların yaygın bir şekilde ve uzun süreli kullanılması; genellikle en sık kandidiyazis etkeni olarak belirlenen *C. albicans* oranının azalmasına, *C. glabrata* ve *C. krusei* gibi antifungallere dirençli olabilen *albicans-dışı Candida* türlerinde ise artışa neden olmuştur (23, 24).

Gelişmiş moleküler tekniklerin ortaya çıkmasıyla, elde edilen önemli bilgilerden biri de önceleri *C. albicans* olarak tanımlanmış olan bazı türlerin aslında yeni bir tür olarak ortaya çıkan *C. dubliniensis* olduğudur (25).

2.2.2. *Candida*’ların sınıflandırılması

Candida türleri, insan ve hayvanlar için patojen olan mantarları içeren Ascomycota’ nın alt bölümlerinden Saccharomycotina içerisinde yer almaktadır. Gerçek mayaların bulunduğu Saccharomycetes sınıfı, Saccharomycetales adındaki büyük bir takımı içermektedir. Buna göre *Candida*’ların taksonomisi şu şekildedir:

Alem: Fungi

Bölüm: Ascomycota

Sınıf: Saccharomycetes

Takım: Saccharomycetales

Aile: Saccharomycetaceae

Cins: *Candida*

Patojenik *Candida*’ lar 3 gruba ayrılmaktadır (20):

1.Grup: *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. viswanatii*, *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis*.

2.Grup: *C. guilliermondii* ve telemorfu *Pichia guilliermondii*, *Clavispora (Candida) zeylanoides*, *Pichia (Candida) norvegensis*.

3.Grup: *C. glabrata* ve *Issatchenkia orientalis* (anamorf *C. krusei*).

2.2.3. *Candida* türlerinin genel morfolojik, üreme ve biyokimyasal özellikleri

Candida türlerinin hepsi yuvarlak veya oval, tomurcuklanan maya hücreleri (blastokonidyum) oluşturmaktadır. Nadiren, özellikle antifungal ilaç kullanan hastalardan izole edilen bazı kökenlerin ilk izolasyonda pleomorfik olabileceği gösterilmiştir (26). Blastokonidyumlar, 3-6µm çapında, tek tek, zincirler veya küçük, gevşek kümeler şeklinde bulunabilmektedir. Türlerin birçoğu yalancı; bazıları ise ek olarak gerçek hif oluşturma özelliğine sahiptir (27).

Candida’ lar mikolojik besiyerlerinde 24 saat gibi erken bir sürede üreyebilmekle birlikte, koloniler genellikle 48-72 saatte görünür hale gelmektedir. Başlangıçta krema görünümünde iken, zamanla girintili, çıkıntılı bir hal alabilen kolonilerin rengi beyazdan kreme kadar değişebilmektedir. *Candida* türleri aerobik koşullarda 25-30°C’ de iyi üreme gösterirken, birçoğu 37°C ve üstündeki ısılarda da üreyebilmektedir (26). Birçok *C. albicans* kökeni kanlı agarda ayaklı koloniler oluştururken, *C. krusei* ve *C. tropicalis* kökenlerinin de %25 oranında bu tip kolonilerin saptanabildiği bildirilmiştir (26).

Patojenik *Candida* türleri inositol, eritritol ve nitrata asimile etmez ve 40°C’ de üreyebilme yeteneğine sahiptir (21). *Candida* türlerinin biyokimyasal özellikleri Tablo1’ de gösterilmiştir (27).

2.2.3.1. Tıbbi önemi olan *Candida* türleri ve özellikleri

2.2.3.1.1. *Candida albicans*

C. albicans’ ın hücre duvarındaki mannan içeriğine göre A ve B olmak üzere iki serotipi tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda serotip A’ nın antijenik olarak *C. tropicalis* ile, serotip B’ nin ise *C. stellatoidea* ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Günümüzde *C. stellatoidea*’ nın *C.albicans* türü içerisinde olduğu kabul edilmektedir (28, 29). *C. albicans*, *C. langeronii*, *C. clausenii* ve *C.stellatoidea* türlerinin sinonim oldukları moleküler yöntemlerle doğrulanmıştır (28). *C. albicans* 25°C’de 72 saat inkübasyon sonrasında, mısır unlu jeloz (MUJ) besiyerinde gerçek ve yalancı hifler, septumda blastospor kümeleri ve hif veya kısa yan dallanmaların ucunda terminal, tek tek duran klamidosporlar oluşturmaktadır. Germ tüp testi, *C. dubliniensis*’ deki gibi pozitif sonuç vermektedir (27).

Tablo 1 Sık rastlanan *Candida* türlerinin biyokimyasal özellikleri (27) .

	Üreme		Asimilasyon													Fermentasyon						
<i>Candida</i> türü	Sikloheksimid varlığında	37°C'de üreme	Üreaz	Glukoz	Maltoz	Sükroz	Laktoz	Galaktoz	Mellibiyoz	Sellobiyoz	İnozitol	Ksiloz	Rafinoz	Trehaloz	KNO ₃	Glukoz	Maltoz	Sükroz	Laktoz	Galaktoz	Trehaloz	Sellobiyoz
<i>C.albicans</i>	+	+	0	+	+	D	0	+	0	0	0	+ ^D	0	+	0	+	+	0	0	D	D	0
<i>C.dubliniensis</i>												0 ^D		0 ^D								
<i>C.tropicalis</i>	0 ^D	+	0	+	+	+ ^D	0	+	0	+ ^D	0	+	0	+	0	+	+	+ ^D	0	+ ^D	+ ^D	0
<i>C.parapsilosis</i>	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	0	D	0	0
<i>C.lusitaniae</i>	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0 ^D	D	0	+ ^D	D	+
<i>C.guilliermondii</i>	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+ ^Z	0	+ ^Z	+ ^Z	0
<i>C.kefyr</i>	+	+	0	+	0	+	+ ^D	+	0	+ ^D	0	+ ^D	+	0	0	+	0+	+	+ ^D	+	0	0
<i>C.zeylanoides</i>	+	0 ^D	0	+	0	0	0	0 ^D	0	0 ^D	0	0	0	+	0	0 ^W	0	0	0	0	0 ^D	0
<i>C.glabrata</i>	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0	+ ^D	0
<i>C.krusei</i>	0	+	+ ^D	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0

+: pozitif, 0:negatif, D: suş değişkenliği, Z:zayıf reaksiyon

2.2.3.1.2. *Candida dubliniensis*

C. dubliniensis, mikroskopik özellikleri ve koloni morfolojisi *C. albicans*' a çok benzeyen yeni bir türdür. Bu tür filogenetik ağaçta *Candida* genusu içerisinde ayrı bir sınıf olarak bulunmaktadır ve DNA parmak izi paterni *C. albicans*' dan farklıdır. Pulse field gel electrophoresis (PFGE) yöntemiyle *C. dubliniensis*' in on veya daha fazla kromozoma, *C. albicans*' ın ise yedi-sekiz kromozoma sahip olduğu gösterilmiştir. *C. dubliniensis*, *C. albicans*' ın büyük rRNA genlerinin V3 değişken bölgesi ile %2.3 oranında farklılık göstermektedir (25, 30).

Bu *Candida* türü, MUJ besiyerinde tek terminal klamidospor oluşturan *C. albicans*' ın tersine, çiftler veya küçük kümeler halinde klamidosporlar oluşturmaktadır (27).

2.2.3.1.3. *Candida glabrata*

C. glabrata' nın ayırt edici genetik özelliği; diğer *Candida* türleri diploit genoma sahipken, haploit genoma sahip olmasıdır. Daha önce *Torulopsis* genusu içerisinde sınıflandırılmış olan bu tür, günümüzde *Candida* cinsi olarak kabul edilmektedir (31).

Diğer *Candida* türlerine göre daha yavaş üreyen *C. glabrata*'nın üremesinin kolesterole bağımlı olduğu saptanmıştır. Bu maya rutin mantar besiyerlerinde ve MacConkey agar gibi özelleşmemiş besiyerlerinde küçük koloniler şeklinde üremektedir. *C. glabrata* MUJ besiyerinde, 25⁰C'de 72 saat inkübasyon sonrasında, küçük maya hücreleri şeklinde görülmekte ve tek terminal tomurcuklanma göstermektedir (27).

2.2.3.1.4. *Candida guilliermondii*

Bu türün *C. guilliermondii* var *guilliermondii* ve *C. guilliermondii* var *membranaefaciens* olacak şekilde iki varyantı bulunmaktadır. Her iki varyantın sırasıyla; *Pichia guilliermondii* ve *Pichia ohmeri* olarak tanımlanan teleomorfları vardır (21). *C. guilliermondii* MUJ besiyerinde, 25⁰C'de 72 saat inkübasyon sonrasında birkaç tane, kısa yalancı hif oluşturmaktadır. Bu mayanın blastosporları küçük zincirler veya kümeler oluşturabilmektedir (27).

2.2.3.1.5. *Candida kefir*

Önceden *C. pseudotropicalis* olarak isimlendirilmiş olan *C. kefir*, *Kluyveromyces marxianus*' un anamorfudur (32).

C. kefir, MUJ besiyerinde, 25°C'de 72 saat inkübasyon sonrasında, yalancı hifler ve blastosporlar oluşturmaktadır. Bazen *C. krusei*' de olduğu gibi blastosporların uzadığı ve 16µm' ye ulaşabildiği görülmektedir (21, 27).

2.2.3.1.6. *Candida krusei*

Issatchenkia orientalis' in anamorfı olan *C. krusei*, vitaminsiz ortamda üreyebilmekte, hücre duvarı mannan kompozisyonu ve koenzim Q sayıları gibi çeşitli özellikleri ile diğer türlerden ayrılmaktadır (21).

C. krusei, rutin primer besiyerlerinde düz, kuru, mat yüzeyli ve hifal uzantılar yapan koloniler oluşturmaktadır. Bu türde MUJ besiyerinde 25°C' de 72 saat inkübasyon sonrasında ağaç benzeri bir görünüm oluşturan uzun blastosporlar görülmektedir. *C. krusei* sıvı sabouraud dekstrozu besiyerinin yüzeyinde, 25°C' de 2-3 günlük inkübasyon sonrasında ince bir zar yaparak üremektedir (21, 27).

2.2.3.1.7. *Candida lusitanae*

Clavispora lusitanae' nın anamorfı olan bu türün klinik izolatları arasında genetik değişkenlik tanımlanmıştır (21).

C. lusitanae' nın blastosporları MUJ' da zincir oluşturmaktadır ve dallanma noktalarında meydana gelen psödohifler kıvrık şekildedir. Bu tür morfolojik olarak *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*' e benzer özelliktedir (27).

2.2.3.1.8. *Candida parapsilosis*

Bu tür 2005' den beri üç yakın türü (*C. parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* ve *Candida metapsilosis*) içeren bir komplekste yer almaktadır (33).

C. parapsilosis MUJ' da üç gün inkübasyon sonrasında, düzenli dallanan psödohifler oluşturmaktadır (21). Göze çarpan özellikleri kıvrık ve *C. tropicalis*'e kıyasla nispeten kısa olan psödohifler ve bazen görülebilen dev hücreler olarak adlandırılan iri hifal elemanlardır (27).

2.2.3.1.9. *Candida tropicalis*

Önceleri farklı türler olarak kabul edilen *C. tropicalis* ve *C. paratropicalis*' in aynı olduğu moleküler biyolojik yöntemlerle belirlenmiştir (21). Bu tür Sabouraud dekstrozu sıvı besiyerinde 25⁰ C' de 2 günlük inkübasyon sonrasında ince bir zar oluşturarak ürmektedir (21).

C. tropicalis MUJ besiyerinde, 25⁰C'de 72 saat inkübasyon sonrasında, ince, uzun psödohipler boyunca tek başına veya küçük gruplar halinde duran blastokonidyalardan oluşmaktadır. Nadiren gözyaşı damlası şeklinde birkaç tane klamidospore da oluşturabildiği gösterilmiştir (27).

2.2.4. *Candida* türlerinin identifikasyonu

2.2.4.1. %1 Tween 80' li MUJ' da morfolojik özelliklerinin saptanması

MUJ besiyerinde morfolojinin belirlenmesi genellikle tür tanımlanmasının birinci basamağında kullanılmaktadır. Bu besiyerine çizgi şeklinde inoküle edilen ve üzerleri lamel ile kapatılan subkültürler 28⁰C' de 2-5 gün inkübe edildikten sonra mikroskop altında incelenmektedir. *C. glabrata* dışındaki *Candida* türleri yalancı ve bazıları ek olarak gerçek hifler oluşturmaktadır. Klamidospore oluşumu *C. albicans* ve *C. dubliniensis* türlerine özgüdür. *C. dubliniensis*'in klamidosporeları kısa dallanmış hiflerin ucunda kümeler oluştururken, *C. albicans* tek tek duran klamidosporelar meydana getirmektedir (25, 34).

2.2.4.2. Germ tüp testi

Germ tüp testi *C. albicans*' ın hızlı ön tanımlanması için kullanılan temel testlerden biridir. Bu deney *C. albicans* ve *C. dubliniensis* blastosporelarının belirli koşullar altında germ tüp oluşturmaya esasına dayanmaktadır. Testi uygulamak için üreyen koloniler serumda süspansiyon edilerek, 37 °C'de 2 saat inkübe edilmektedir. Bu süre sonunda süspansiyondan lam-lamel arası preparat hazırlanarak, germ tüp oluşumu açısından incelenmektedir (27).

2.2.4.3. Kromojenik besiyerlerinde morfolojik özelliklerin belirlenmesi

Klinik örneklerin primer kültüründe *Candida* türlerinin ayırımı sağlayan ve en yaygın kullanılan ticari besiyeri olan CHROMagar, farklı türlerin spesifik enzimleri ile kromojenik maddeler arasındaki reaksiyon sonucu farklı renkte kolonilerin oluşması esasına dayanmaktadır. Bu besiyerinde *Candida* türlerinin ayırımı; 37⁰C' de 48 saatlik

bir inkübasyondan sonra, oluşturdıkları renklere dayanarak yapılmaktadır. CHROMagar ile tanımlanması önerilen mayalar olan *C. albicans* sarı-yeşil-mavi, *C. krusei* açık pembe-mor düzensiz ve *C. tropicalis* koyu mavi-mavi, gri koloniler oluşturmaktadır. *C. dubliniensis* ise *C. albicans*' dan daha koyu tonda yeşil renk koloni oluşturmaları ile ayırt edilmektedir (6).

Hekzoaminidaz substratı içeren diğer kromojenik besiyerleri arasında Albicans ID2 ve *Candida* ID2 yer almaktadır (6) (Tablo 2).

Tablo 2. Mayaların tanımlanmasında kullanılan kromojenik besiyerlerindeki enzimatik aktiviteler (6)

Besiyeri	B-N-acetyl hexoaminidase substratı	İkinci enzimatik aktivite
<i>Albicans ID2</i>	Kromojenik	Yok
<i>Candida ID2</i>	Kromojenik	β glukozidaz
<i>CHROMagar Candida</i>	Kromojenik	Fosfataz

2.2.4.4. Ticari asimilasyon ve fermentasyon kitleri

Candida cinsi mayalar; spesifik karbonhidratları ve nitrojeni kullanma paternlerine göre ayrılabilir. Bu mantarlar karbonhidratları hem oksidatif (asimilasyon), hem de anaerobik (fermentasyon) olarak kullanabilme özelliğine sahiptir (6).

Mayaların asimilasyon ve fermentasyonu için yaklaşık 60 yıl önce tarif edilmiş olan klasik Wickerham yöntemi, zahmetli ve zaman alıcı olduğu için, rutin kullanıma uygun değildir (6). Günümüzde mayaların tanımlanması amacıyla API 20C, API ID32C, Vitek, Minitex, Uni-Yeast-Tek gibi değişik ticari kitler ve otomatize sistemler üretilmiştir (6, 26).

2.2.4.5. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* ayırımı için uygulanan testler

C. dubliniensis, SDA' da 30-37°C' de *C. albicans*' a benzeyen kremsi-beyaz koloniler oluşturarak üremektedir (34). Bu iki türün ayırımı için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır:

A) *C. albicans* kromojenik CHROMagar *Candida* besiyerinde, 37°C' de 48 saatte genellikle açık mavi-yeşil renkli koloniler oluştururken, *C. dubliniensis* koyu yeşil koloniler oluşturmaktadır. *C. dubliniensis*'in 37°C' deki subkültürlerinde

karakteristik koyu yeşil rengini kaybedebildiği, *C. albicans* kolonilerinin ise uzamış inkübasyonlarda aynı rengi koruduğu gösterilmiştir (35).

B) *C. dubliniensis* 42-45°C' de 48 saatte üremez veya zayıf üreme gösterirken, *C. albicans* bu ısıda iyi üremektedir (25). Bununla birlikte, 45°C'de zayıf üreme gösteren veya üreyemeyen *C. albicans* izolatları olabileceğinden, bu termotolerans testinin düşük spesifiteye sahip olduğu bildirilmiştir (34).

C) *C. dubliniensis* klamidosporeleri MUJ ve pirinç agar besiyerlerinde kısa dallanmış hifler ucunda ikili, üçlü gruplar ve kümeler oluştururken, *C. albicans* uzun taşıyıcı hücre ucunda tek tek duran klamidosporeler oluşturmaktadır (25, 34).

D) Bu iki türün ayırımında *Guizottia abyssinica* (kuş tohumu), ayçiçeği ve susam tohumu, biberiye ve kekik özü, domates suyu ve tütün gibi bitki tohum özlerini içeren besiyerleri de kullanılmaktadır. Bu besiyerlerinde belli koşullar altında, *C. dubliniensis*; hifal uzantılar ve klamidospore oluşturan düzensiz koloniler yaparak, *C. albicans* ise klamidospore oluşturmeyen düz koloniler şeklinde üremektedir (34).

E) API 20C AUX, ID32C ve otomatize Vitek yöntemleri ile yapılan incelemeler; ksiloz (XYL) ve metil- α -D-glikozid (MDG) asimilasyonunun, *C. albicans* ve *C. dubliniensis*' in ayırımında kullanılabileceğini göstermiştir (34.).

Bu iki türü ayırabilen diğer testler ise; metilen mavisi eklenmiş SDA'da üreyen kolonilerin floresans verip vermemesi, kafeik asit-ferrik sitratta ve kazein agarda görülen koloni morfolojileri, Tween 80 agardaki kolonilerin opasitesi ve %6.5NaCl eklenmiş SDA' da üreme kaybının gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri değişkenlik göstermektedir (34).

2.2.4.6. Antijenik ve moleküler temelli yöntemler

Candida türleri serolojik olarak spesifik antiserumlar kullanılarak tanımlanabilmektedir. Ancak serolojik tanımlama klinik laboratuvarlarda standart rutin bir yöntem olarak yer almamaktadır (21).

Tür tanımlanması için çeşitli moleküler teknikler kullanılmaktadır. Çok kopya içeren hedef DNA, tek kopya içeren DNA' ya göre daha duyarlı olduğundan, ribozomal DNA, PCR temeline dayanan testlerde en sık kullanılan hedefdir. ITS1 ve ITS2 gibi çok iyi korunmuş bölgeleri tanıyan primerler; 18S rDNA subunit, 5.8S rDNA subunit, veya 26S rDNA bölgelerinin amplifikasyonunu sağlamaktadır (6).

“Amplified fragment length polymorphism” (AFLP), “randomly amplified polymorphic” DNA (RAPD) ve NASBA *Candida* identifikasyonunda kullanılabilen diğer moleküler temelli testlerdir (6).

“Fluorescent in situ hybridization” (FISH) ve “matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass-spectrometry” (MALDITOF-MS), gibi yeni geliştirilen moleküler tekniklerin tür düzeyinde tanımlamada oluşabilecek gecikmeyi azaltarak antifungal tedavinin daha erken başlanmasını sağlayabilecekleri bildirilmektedir (36, 37).

2.2.5. *Candida*’ ların virülans faktörleri

2.2.5.1. Adezyon ve biyofilm oluşumu

Mantarın konak tarafından tanınmasının ve etkileşiminin başlangıç basamağı konak dokusuna bağlanmadır. Dokulara adezyonun; mantar yüzey hidrofobisitesi ve üreme ortamı gibi mantarı etkileyen değişik çevresel şartlara bağlı olduğu veya konağın hormonal ve bağışıklık durumu gibi çeşitli konak faktörlerinden etkilenebildiği bildirilmiştir (38). *Candida*’ ların dökülen epitel hücreleri (yanak, vajina, dermis), insan hücre kültürleri (endotelyal, Hela), hayvan hücre segmentleri veya cansız yüzeyler (örneğin tıbbi aletlerin yerleştirilmesi için kullanılan polimerler) gibi çeşitli substratlara bağlanabilecekleri gösterilmiştir (38,39).

Deneyisel hayvan modelleri ve ex vivo sistemler, in vitro sistemlerden elde edilen bilgileri doğrulayarak, mantarın konak dokuya bağlanmasının, kolonizasyon ve infeksiyon sürecini başlattığını göstermiştir. Bu bulgu, mantarın konak dokuya bağlanmasını engelleyerek infeksiyon gelişimini önlemeyi hedef alan adımların temelini oluşturmuştur (38).

Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, mannan, mannoprotein ve kitin gibi çeşitli adezin molekülleri tanımlanmıştır (38, 39). Yakın zamanda, *C. albicans*’ da Alsp (agglutinin-like sequence protein) ve Hwp1p (hyphal wall protein) gibi bazı adezinler bildirilmiştir (40). *INT1*(integrin like) geninin; *C.albicans*’ da adezyon, hifal büyüme ve virulans ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (41, 42).

Bağlanmanın bir sonucu olarak mikroorganizmalar koloni adı verilen topluluklar halinde ürerler ve “planktonik form” yerine biyofilm adı verilen oluşumlar meydana getirirler. Biyofilm oluşumu *Candida* türleri arasında özellikle *C. albicans*’ ta

gösterilmiştir (21). Biyofilmler; proteinler, karbonhidratlar ve diğer maddelerden oluşan hücre dışı materyal içermektedir (43). Biyofilmlerin önemli bir özelliği, içlerinde bulunan patojenin, antimikrobiyallerden ve konağın savunma sisteminden daha az etkilenmesini sağlayarak, enfeksiyonun eradikasyonunu zorlaştırmalarıdır (44). Sistemik enfeksiyon gelişimi için artmış riskle ilişkili olduğu bilinen; kateterler, diş protezleri ve prostetik kapaklar gibi tıbbi aletlerin iç yüzeylerinde biyofilm oluşumu önemli bir sorundur (45).

2.2.5.2. Maya-hif morfogenetik değişimi

C. albicans maya ve hif formu arasında geri dönüşümlü olarak geçiş yapabilme yeteneğine sahip dimorfik bir mantardır. Bu *Candida* türünde 37 °C' de, nötral pH ve serum varlığında maya-çimlenme tüpü-yalancı hif-gerçek hif oluşumu şeklindeki morfolojik dönüşüm uyarılmaktadır. Hif formlarının adhezyonlarının maya formuna göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Maya formlarının kan dolaşımı yoluyla yayılma ve adezyonda önemli etkisi varken, hif formları konak epitel dokularına invazyonda ve fagositoya karşı daha yüksek dirençte rol almaktadır. Makrofajlar tarafından tutulan maya hücreleri hif oluşturarak makrofajı lize etmektedirler. *C. albicans* ' ta hif oluşumu, virulans faktörlerinin ekspresyonu ile aynı zamanda gerçekleşmektedir. Adhezinler; Als (agglutinin-like sequence), Hwpl (Hyphal Wall Protein), Int1 (İntegrin) ve Salgısal Aspartik Proteazlar (Sap) gibi virulans faktörleri hif formu tarafından üretilmektedir (46, 47).

2.2.5.3. Salgısal aspartil proteaz (sap) ve fosfolipazların üretimi

Bu enzimlerin beslenme, adezyon, penetrasyon, invazyon ve immuniteden kaçış gibi çok sayıda hedef ve fonksiyonları vardır. SAP gen ailesi 10 genden oluşmaktadır (48, 49). Bunlardan SAP5, SAP6, SAP9 biyofilm gelişiminde, SAP1-SAP3 yanak epitel hücrelerine adezyonda, SAP1 deride kavitasyonda, SAP1 ve SAP3 opak koloni oluşumunda, SAP4-SAP6 dimorfizmde, SAP2 ise immun sistem proteinlerini hidrolize etmede görev almaktadır. SAP1-3, mukozal, SAP4-6 ise sistemik enfeksiyonlarda rol oynamaktadır (48).

2.2.5.4. Fenotipik değişim

Fenotipik değişim çoğu mikrobiyal patojende olduğu gibi *C. albicans* ' ta da hücre yüzey antijenlerinin yenilenmesiyle immun sistemden korunmayı ve mukoza

adezyonunun değişimini sağlamaktadır. Etkenin bu şekilde spesifik vücut bölgelerine adaptasyonu sağladığı gösterilmiştir (50).

2.2.6. Patogenez

Candida türlerinin insan ve sıcakkanlı hayvanlarda kolonizasyona yol açtığı ve dünyanın her yerinde insanlarda ve doğada bulunduğu bilinmektedir. Başlıca kolonizasyon bölgesi ağızdan rektuma kadar olmak üzere gastrointestinal sistem olmakla birlikte, *Candida*’ lar vajina ve üretrada, deride, el ve ayak tırnakların altında da kommensal olarak bulunmaktadır (51).

Candida’ların sağlıklı bireylerin %25-50’ sinin normal ağız florasında *Candida* bulunduğu ve kökenlerin %70-80’ inin *C. albicans* olduğu bildirilmektedir. Ağızdaki taşıyıcılık oranı, hastanede yatan hastalar, HIV enfeksiyonlular, diş protezi kullananlar, diyabetliler, antineoplastik kemoterapi görenler, antibiyotik alanlar ve çocuklarda önemli derecede artmaktadır. Bununla birlikte, tüm insanlar kendi gastrointestinal kanalı boyunca birden çok *Candida* türü taşıyabilmektedir. Konağın bu mikroorganizmaları baskılama mekanizmalarının bozulduğu hastalıklar varlığında veya başka çeşitli koşullarda taşıyıcılık oranları saptanabilir düzeylere çıkabilmektedir (51).

Kolonizasyon kandidiyazis gelişmesi için ön koşuldur ve *Candida* türlerinin mukozal ve deri yüzeylerinde aşırı çoğalmasını başlatan endojen floranın ekolojisindeki değişikliklere sekonder olarak gelişmektedir. *Candida* türleri genellikle barsak bütünlüğünün kaybolması ile barsak bariyerini geçerek yer değiştirmektedir. Risk faktörlerine devamlı maruziyet, daha sonraki invazyondan ve buna sekonder olarak gelişen hematogen yayılımdan sorumludur. *Candida* türlerinin nozokomiyal olarak, ekzojen yolla bulaştığı da bildirilmekle birlikte; *Candida* türlerinin genotiplendirilmesi için yapılan çalışmalar ağır kandidiyazisten çoğunlukla önceden kolonizasyona yol açan suşun sorumlu olduğunu doğrulamıştır. Bununla birlikte, klinik ortamlarda endojen ve ekzojen kolonizasyonun birarada bulunabileceği de bildirilmiştir (15).

2.3. CANDIDA İNFEKSİYONLARI

Bu enfeksiyonların kaynağının hastanın kendisi olduğu gösterilmiştir. Böylece kandidiyazis çoğunlukla, konağın normal florasının enfeksiyon oluşturmak için fırsat yakaladığı endojen bir enfeksiyonu temsil etmektedir (51).

2.3.1. Yüzeyel kandidiyazis

Oral ve vaginal boşluklarda *Candida*'lara bağlı oluşan yüzeyel mukozal lezyonlar, genellikle pamukçuk olarak adlandırılmaktadır. Bu infeksiyonlar immunsuprese olan ve olmayan bireylerde oluşabilmektedir. Oral kandidiyazis, bebekler, yaşlılar ve özellikle hematolojik malignitesi olan kemoterapi veya baş ve boyun radyoterapisi alan kanser hastalarında görülen yaygın bir problemdir (52).

Vulvovajinal kandidiyazis göreceli olarak yaygın bir infeksiyondur ve bütün infeksiyöz vajinitlerin yaklaşık dörtte birini oluşturmaktadır (52). Sağlıklı kadınların %75'inin doğurganlık dönemi boyunca en az bir kez vulvovajinal kandidiyazis epizodu geçirdikleri bildirilmiştir. *Candida*, asemptomatik sağlıklı kadınların yaklaşık %10-20'sinin genital sisteminde bulunabilmektedir. Gebelik, yüksek östrojen içeren oral kontraseptiflerin kullanımı, kontrolsüz diabetes mellitus ve antibiyotik tedavisi gibi çeşitli faktörlerin asemptomatik vajinal kolonizasyon riskinde ve *Candida* vajinitinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur (53).

2.3.2. İnvazif kandidiyazis

Candida 'lar altta yatan hastalığı veya çeşitli konak faktörleri olan hastalarda invazif hastalığa neden olabilmekte ve bu genellikle kan dolaşımına ilişkin infeksiyon olarak görülmektedir. Etken sekonder olarak gözlere, karaciğer, dalak, kemikler, kalp kapakları, ve santral sinir sistemine yayılabilmekte veya gastrointestinal cerrahi sonrası peritonit şeklinde derin yerleşimli kandidiyazis gelişebilmektedir (54).

2.3.3. Epidemiyoloji

Kandidemiler başta olmak üzere, invazif kandidiyazis insidansının son yıllarda giderek arttığı bildirilmektedir. *Candida* 'lar ABD' de kan kültürlerinden izole edilen en sık dördüncü etken iken, Avrupa' da en sık izole edilen on etken arasında yer almaktadır (55, 56, 57).

Yoğun bakım ünitesinde *Candida* infeksiyonu sıklığı "National Nosocomial Infections Surveillance" (NNIS) sisteminde %31 (58); ülkemizde yapılan çalışmalarda ise %5-12 oranında bildirilmiştir (59, 60, 61). "European Study on the Prevalence of Nosocomial Infections in Critically III patients" (EPIC), hastane kaynaklı infeksiyonların %17'sini invazif kandidiyazisin oluşturduğunu bildirmiştir (15). İnvazif kandidiyazisin epidemiyolojisi ve tedavisi üzerinde yapılan çalışmalarda yer alan

hastaların çoğunluğunda kandidemi (yaklaşık %68-90); ikinci sıklıkta ise peritonit (%7-30) bulunduğu görülmektedir (10, 62, 63, 64).

Yakın çalışmalar, ağır hastalarda kandidemde kaba mortalite oranının %50-60' lara ulaştığını bildirmektedir (63). ABD' de yapılan geniş epidemiyolojik bir çalışmada, 1979-2000 yılları arasındaki dönemde fungal sepsislerde üç katlık bir artış ve kandideminin kritik hastalardaki kan dolaşımına ilişkin infeksiyonların en sık 3. nedeni olduğu bildirilmiştir (55,65). Aynı ülkede, 2000-2005 yılları arasında kandidemi-ilişkili hastane yatış insidansının 100 000 popülasyon başına 3.65 hastadan 5.56 hastaya çıkarak % 52'lik bir artış gösterdiği de saptanmıştır (66). Avrupa' da ise kandidemi insidansı daha düşük bulunmakla birlikte, YBÜ' ndeki insidansın diğer bölümlerden on kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (2, 10, 15, 67, 68).

2.3.4. Risk grupları ve risk faktörleri

Kritik durumdaki hastalar, düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlar, hematolojik malignitesi olanlar ve solid organ alıcılarından oluşan belirli hasta grupları kandidemi / invazif kandidiyazis açısından yüksek risk altındadır (69). Günümüzde, gastrointestinal cerrahi geçiren veya YBÜ' ne yatan ve eşlik eden multipl ağır hastalığı olan hastaların, kandidemi gelişmesi açısından risk altında olan en büyük popülasyonu oluşturduğu bildirilmiştir (63).

YBÜ' ndeki kandidemi insidansının hastanenin tamamından 5-10 kat daha yüksek ve genel popülasyondan 100 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (2)

Mortalite ve morbiditesi yüksek olan fungal infeksiyonların YBÜ' nde giderek artan oranlarda saptanmaları nedeniyle, burada yatan hastalarda önem kazanmaktadır (70). Medikal tedavilerdeki gelişmelere bağlı olarak hastaların yaşam sürelerinin uzaması, daha geniş cerrahi prosedürlerin uygulanması, immunsuprese olmayan kritik hastalarda invazif girişim sayısının artması, hastanede kalış süresinin uzaması, immunsupresif tedavi ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı *Candida* infeksiyonlardaki artışın en önemli nedenleridir (71).

Geniş spektrumlu antibiyotik tedavilerinin gastrointestinal sistemde bulunan bakteriyel florayı baskılayarak mayaların çoğalmasına ve uzun süre-yüksek yoğunlukta kolonizasyona yol açarak kandidemiye yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir (4,72).

Nötropeni, nötrofillerin mantarların çoğuna karşı konak savunması için gerekli olması nedeni ile invazif kandidiyazis için majör risk faktörlerinden birisidir (15).

Steroid tedavisi ve kandaki glukoz konsantrasyonunun yetersiz kontrolü (diyabet) gibi hastanede yatan hastalarda sık görülen çeşitli başka durumlar da *Candida* infeksiyonları açısından risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Bunlara ek olarak, parenteral beslenme, damar içi kateter veya iskemi ve reperfüzyon, deri veya gastrointestinal mukozanın bütünlüğüne zarar vererek translokasyona ve kan dolaşımına invazyona neden olabilmektedir. Özellikle tekrarlayan gastrointestinal perforasyonlu, anastomoz kaçağı olan veya nekrotize pankreatit olan hastaların üçte birinde invazif kandidiyazis gelişmektedir (63).

İnvazif kandidiyazis gelişimi açısından yüksek risk altında olan hastaların tanımlanmasına yönelik çalışmalar profilaktik, ampirik veya preemptif tedavi önerileri ile mortaliteyi azaltmak amacıyla yapılmaktadır (63).

Çalışmaların çoğunda, *Candida* türleri ile kolonizasyonun, infeksiyona neden olan başlıca risk faktörü olduğu bildirilmektedir. Kolonizasyonun infeksiyondaki rolü ilk defa 1972 yılında Bernardt ve ark.'nın (73) gözlemi olarak ortaya konmuştur. Solomkin ve ark. (74) 1980 yılında ilk defa cerrahi hastalarında kolonizasyon yoğunluğunun kandidemi gelişme sürecindeki etkisini göstermişlerdir. Bu mantarların kandidemi öncesi abdominal kaviteden diğer vücut bölgelerine yayıldığı ve peritoneal kaviteden elde edilen örneklerde yoğun veya artan *Candida* üremesini takip eden kandideminin bir habercisi olduğu bildirilmektedir (1,75). Vücut bölgelerinde multipl kolonizasyonu, invazif infeksiyon için bağımsız bir risk faktörü teşkil ettiği bulunmuştur (72, 76).

Nötropenik olan ve olmayan hastalarda kolonizasyon veya yüzeysel infeksiyondan sorumlu *Candida* izolatların ve kan akımı veya invazif infeksiyondan elde edilen suşların genotip olarak aynı olduğu doğrulanmıştır. Bazı araştırmacılar, klinik olarak infeksiyon şüpheli hastalarda, ikiden daha fazla vücut bölgesinde saptanan *Candida* kolonizasyonunun kandidiyazisi öngörmek ve antifungal tedavi başlamak için yeterli olduğunu öne sürmüşlerdir (1,4). Bununla birlikte, kritik hastalarda *Candida* kolonizasyonun invazif infeksiyondan ayırt edilmesinde zorluk yaşandığı bildirilmektedir (15).

Risk altındaki cerrahi hastalarda kolonizasyon dinamiklerinin periyodik olarak değerlendirilmesinin invazif kandidiyazis gelişimini daha doğru olarak tahmin edebildiği bulgusu ilk defa Pitet ve ark. tarafından önerilmiş ve daha sonra başka araştırmacılar tarafından da doğrulanmıştır (4, 77, 78, 79). Buna ek olarak kolonize olan bölge sayısının örnek alınan bölge sayısına oranı olarak tanımlanan kolonizasyon indeksinin yararı da çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (1, 4, 77, 78, 79)

2.3.5. Tür Dağılımı

C. albicans bütün *Candida* infeksiyonlarının %50' sinden daha fazlasından sorumludur ve invazif kandidiyazisin hala en yaygın nedenidir. Albicans-dışı *Candida* türleri arasından ise *C. tropicalis*, *C. glabrata*, ve *C. parapsilosis* invazif kandidiyazisin başlıca etkenleridir. Kandidemi etkeni *Candida* türlerinin coğrafik dağılımının büyük farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Asya ülkelerinde, adı geçen bu dört albicans-dışı *Candida* türünün invazif kandidiyazis olgularının %90' nından fazlasından sorumlu oldukları bildirilmiştir (2). ABD'de ise, kan izolatlarının ancak yarısından fazlasının; başta *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* olmak üzere albicans-dışı *Candida* türlerinden oluştuğu bildirilmiştir. Bunlardan farklı olarak, Avrupa' da en sık tür hala *C. albicans* olmakla birlikte, albicans-dışı *Candida* türleri arasından özellikle *C. glabrata'* nın izolasyonunda artış olduğu saptanmıştır (3).

C. glabrata' nın neden olduğu nozokomiyal kandidemi oranı da farklı coğrafik bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Bu tür ABD'de olguların %20' sinden, Avrupa' da %15' inden, Asya' da %10' undan, Latin Amerika' da ise %5' inden sorumlu olduğu bildirilmiştir (2). *C. glabrata* ile oluşan kandidemi oranının yaşla arttığı, *C. parapsilosis* ile oluşan kandidemi oranının ise yaşla azaldığı bulunmuştur (54).

Fungal ekolojideki coğrafik farklılıklara ek olarak, antifungal ilaçların yaygın kullanımı da kandidemi epidemiyolojisinin değişimine katkıda bulunmaktadır (3). Etken olan *Candida* türlerine göre invazif kandidiyazisle ilişkili risk faktörleri Tablo 3'de gösterilmiştir (63).

Tablo 3. Etken olan *Candida* türlerine göre invazif kandidiyazisle ilişkili risk faktörleri(63)

<i>Candida</i> Türleri	Risk Faktörleri
Tüm <i>Candida</i> türleri	Önceki abdominal cerrahi Damar içi kateterler Parenteral beslenme Geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması İmmüsupresyon Akut böbrek yetmezliği Diabet Transplantasyon Hemodiyaliz Pankreatit
<i>C. tropicalis</i>	Nötropeni ve kemik iliği transplantasyonu
<i>C. krusei</i>	Flukonazol kullanımı Nötropeni ve kemik iliği transplantasyonu
<i>C. glabrata</i>	Flukonazol kullanımı Cerrahi Vasküler kateterler Kanser İleri yaş
<i>C.parapsilosis</i>	Parenteral beslenme ve hiperalimentasyon Vasküler kateterler Yenidoğan
<i>C. lusitaniae</i> ve <i>C. guilliermondii</i>	Önceki poliyen kullanımı
<i>C. rugosa</i>	Yanıklar

Albicans-dışı *Candida* türleriyle infeksiyon oluşmasına yatkınlık oluşturan bazı predispozan faktörler tanımlanmıştır. Triazol tedavisi, kandidemi öncesi 30 gün

içerisinde gastrointestinal sistem cerrahisi ve kanser hastalarının 65 yaş üzerinde olması, başta *C. glabrata* ve *C. krusei* olmak üzere flukonazole dirençli etkenlerle oluşan kandidemi için bağımsız risk faktörleri olarak bulunmuştur (80).

Yine vankomisin ve linezolid gibi bazı antibiyotiklerin kullanılması da, flukonazole karşı yüksek MİK değerlerine sahip olan *C. glabrata* ve *C. krusei* ile infeksiyon riskinin artışı ile birlikte bildirilmiştir (81, 82, 83). Genç yaş, santral venöz kateterler, ekinokandin kullanımı ve yetersiz infeksiyon kontrol önlemleri *C. parapsilosis* infeksiyonları ile ilişkili bulunurken (84, 85, 86), altta yatan hematolojik hastalığı olan nötropenik hastalarda *C. tropicalis*' in daha sık infeksiyon etkeni olduğu bildirilmiştir (85, 87).

Azalmış flukonazol duyarlılığına sahip *Candida* suşlarının etken olduğu kandidemiler ile ilişkili olan risk faktörleri arasında erkek cinsiyet, kronik akciğer hastalığı, santral vasküler kateter varlığı ve önceki antifungal ilaç kullanımı yer almaktadır (88).

2.3.6. Klinik tablolar

Candida türleriyle oluşan infeksiyonlar geniş bir spektrumda klinik tablolar ile ortaya çıkmaktadır (53). Bu infeksiyonlar, yüzeysel mukoza infeksiyonu veya kutanöz kandidiyazisten karaciğer, dalak, böbrek, kalp ve beyin gibi organları tutabilen geniş hematojen yayılıma kadar ilerleyen bir aralıkta görülebilmektedir. Mukokutanöz kandidiyazis ve sistemik kandidiyazis olmak üzere ikiye ayrılan klinik tablo; infeksiyona neden olan *Candida* türü, tutulan organ ve immunsupresyonun derecesine bağlı olarak değişmektedir. (53, 89). *Candida* türlerinin neden olduğu infeksiyon tipleri ve ilişkili klinik tablolar Tablo 4' de gösterilmiştir (51).

Sistemik kandidiyazis, organ tutulumu olmadan kandidemi ve organ infeksiyonu ile seyreden yaygın kandidiyazis şeklinde iki kategoriye ayrılmaktadır (46, 53, 89).

Tablo 4. *Candida* türlerinin neden olduğu klinik tabloların infeksiyon tiplerine göre dağılımı

<i>Candida</i> İnfeksiyon Tipleri	Klinik tablolar
Yüzeyel	Oral kandidiyazis <i>Candida</i> özefajiti <i>Candida</i> vulvovajiniti ve balaniti Primer kutanöz kandidiyazis Deri ve tırnak infeksiyonları Kronik mukokutanöz kandidiyazis
İnvazif	Akut dissemine kandidiyazis Kronik dissemine kandidiyazis Gastrointestinal kandidiyazis Pulmoner kandidiyazis Merkezi sinir sistemi kandidiyazisi Endokardit Myokardit Trombofilebit Üriner sistem kandidiyazisi Osteomiyelit ve artrit Peritonit Endoftalmit Hematojen kandidiyazis

Candida türleriyle oluşan derin organ infeksiyonları genellikle, dissemine kandidiyazisin bir parçası olarak görülebilmektedir. Kandidemi, genellikle hastane kaynaklı bir infeksiyondur. Hastaların öyküsünde geniş spektrumlu antibiyotiklere cevap vermeyen birkaç günlük ateş, uzamış intravenöz kateterizasyon ve olası çoklu organ yetmezliği ile ilişkili olan çeşitli anahtar risk faktörleri bulunabilmektedir. Fizik muayenede ateş, makronodüler deri lezyonları (%10) ve kandidal endoftalmit (%5-10) görülmekte ve nadiren septik şokla ilişkili olabilmektedir (46, 53, 89).

Dissemine kandidiyazis sıklıkla çoklu derin doku infeksiyonlarıyla ilişkili olmakla birlikte, bazen tek organ infeksiyonu şeklinde de görülebilmektedir. Dissemine kandidiyazis ön tanısı olan hastaların öyküsünde; sıklıkla geniş spektrumlu antibiyotiklere cevap vermeyen ateş vardır ve kan kültürleri negatiftir. Fizik muayene sıklıkla yararlı değildir ve tek semptom olan ateşle birlikte sepsis ve etiyolojisi bilinmeyen septik şok bulguları belirlenebilmektedir (90). Kültür negatif olan dissemine kandidiyazisli hastalarda endoftalmit tek bulgu olabilmektedir (91).

2.3.7. *Candida* infeksiyonlarında laboratuvar tanı

Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı, hastalığın yüzeysel veya sistemik yerleşim göstermesine bağlı olarak değişmektedir. Sistemik kandidiyazisin tanısındaki zorluklar nedeni ile konvansiyonel yöntemlere ek olarak immünolojik ve moleküler yöntemler geliştirilmiştir (21).

2.3.7.1. Direkt mikroskopik inceleme

Klinik örneklerin mantar varlığı açısından mikroskopik olarak incelenmesi, çoğu mantar infeksiyonun tanısında önemli bir rol oynamaktadır. Mikroskopik inceleme, infeksiyon etkeninin hızlı bir şekilde göstererek uygun antifungal tedavinin hemen başlanmasını sağlayabilmektedir (92). Dokuda direkt mikroskopik incelemede mantar elemanlarının saptanması mantar invazyonunun göstergesi olduğundan önem taşımaktadır. Yine mikroskopik bulgular klinik örneğin kültüründe kullanılacak en uygun besiyerlerinin seçilmesinde yol gösterici ve kültür sonuçlarının anlamlılığının değerlendirilmesinde yardımcı olabilmektedir (93, 94).

Klinik materyalde mantarları direkt bakıda saptamak ve özelliklerini ortaya koymak için çeşitli boyalar ve mikroskopik teknikler kullanılmaktadır. Bunlar arasında klinik mikoloji laboratuvarında en sık kullanılanlar, %10-20 KOH içeren kalkoflor beyazı, Gram, Giemsa, PAS veya bunların kombinasyonlarıdır (93, 94, 95).

2.3.7.2. Kültür

Steril vücut bölgelerinden maya izole edilmesi infeksiyonu düşündürürken, steril olmayan vücut bölgelerinden elde edilen suşların anlamı konusunda karar vermekte zorluklar yaşanmaktadır (94). Klinik örnekten mantarların en uygun şekilde izolasyonu, yeterli ve uygun örneğin alınmasına ek olarak, genellikle örnekte az sayıda bulunabilen ve birçoğu yavaş üreyen bu mikroorganizmaların elde edilmesini sağlayacak kültür yöntemlerinin kullanılmasına bağlıdır (96).

Tıbbi önemi olan mantarları izole etmek için biri selektif, diğeri ise selektif olmayan en az iki tür besiyerinin kullanılması önerilmektedir. Mantarlar, bakteriler için kullanılan besiyerlerinin çoğunda üremekle birlikte, üremeleri yavaş olabilmektedir. Mantarların izolasyonu için SDA veya beyin kalp infüzyon agar (BHI) gibi daha zengin bir besiyeri önerilmektedir. Saprofit küflerle kontaminasyonu engellemek için ekim yapılan sikloheksimitli besiyerine her zaman sikloheksimit içermeyen bir besiyeri de eşlik etmelidir (94). Selektif ve ayırt edici olan CHROMagar *Candida* ve ChromID

Candida gibi kromojenik besiyerleri ise çeşitli mayaları veya *Candida* türlerini karışık olarak içerebilen örnekler için ilk izolasyon besiyeri olarak kullanılmaktadır (96).

Klinik olarak sık karşılaşılan mantarların optimal üreme ısısı 30°C' dir. Eğer 30°C' lik inkübatör yok ise kültürlerin oda ısısında (yaklaşık 25°C' de) inkübe edilmesi ve kültürlerin mikolojik açıdan negatif olarak değerlendirilmeden önce 4 hafta inkübe edilmesi önerilmektedir. Oral pamukçuk, vajinit veya üriner sistem ile ilişkili kültürler kromojenik besiyerinde 48 saat, rutin besiyerlerinde ise 5-7gün bekletilmelidir (96).

Fungemilerin saptanması konusunda, devamlı izlem yapan kan kültür cihazlarının ve bakteriler kadar mantarların da üreme gereksinimlerini göz önüne alan iyileştirilmiş besiyeri formüllerinin geliştirilmesiyle ilerleme kaydedilmiştir. BacT/Alert ve Bactec gibi buyyon temelli sistemlere ilave olarak, agar temelli "lizi santrifügasyon" sistemi (Isolator) çeşitli mantarların saptanmasında esnek ve duyarlı bir yöntem oluşturmaktadır (94,95).

2.3.7.3. İmmünolojik yöntemler

2.3.7.3.1. Antikorları saptayan testler

Antimannan antikorları sağlıklı bireylerde veya yüzeysel infeksiyonlarda da bulunabildiğinden, invazif kandidiyazisi ayırt etmede yeterli değildir. Platelia *Candida* anti-mannan antikor testinin özgüllüğünün %94 özgüllük, duyarlılığının ise %53 olduğu bildirilmektedir (93). İnvazif kandidiyaziste *Candida*' lara ait internal antijenlere karşı oluşan antikorların artması nedeni ile bunların tanıda faydalı olabileceği düşünülmektedir. İnvazif kandidiyaziste sitoplazmik antijenlere karşı oluşan antikorlar immundifüzyon (ID) veya ELISA testleri ile saptanabilmektedir. Bunların dışında, infeksiyon esnasında vücut sıvılarına geçtiği belirlenen; enolaz, ısı şok proteinleri (Hsp) ve spesifik mannozidler gibi antijenlere karşı oluşan antikorların saptanması da araştırılmaktadır. Bununla birlikte, antikor saptanmasına yönelik testlerin kullanılmasının en önemli dezavantajı; duyarlılıklarının düşük olmasıdır (21).

İnvazif kandidiyazis tanısına ilişkin *Candida* antikorlarını saptayan çeşitli ticari ELISA kitleri bulunmaktadır. Bu kitlerin duyarlılığı %50-90; özgüllüğü ise %15-65 aralığında bulunmuştur. Son zamanlarda anti-enolaz / intrasitoplazmik antijenlerine karşı anti- *Candida* antikorları saptayan yeni bir ELISA temelli kit (Syscan 3) ortaya çıkmıştır. Bu kitle yapılan araştırmalarda invazif kandidiyazis için duyarlılık ve

özgüllük sırasıyla; immun sistemi normal olan hastalarda %74 ve %75, immunsüprese hastalarda ise %15 ve %60 olarak saptanmıştır (93).

2.3.7.3.2. Antijen saptayan testler

Vücut sıvılarında *Candida* antijenlerinin saptanması, özellikle antikor düzeyleri saptanabilir seviyenin altında olması muhtemel immun yetmezlikli hastalarda, önemli bir tanısal araç olarak belirlenmiştir (97).

Son zamanlarda bu amaçla, lateks aglütinasyon ve ELISA yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Cand-Tec veya Pastorex LA sistemleri ve Platelia testi ticari olarak bulunanlardan bazılarıdır. Farklı yöntemlerle saptanabilen antijenler arasında; mannan (Pastorex LA), tanımlanmamış bir glikoprotein (Cand-Tec LA), 47kDa' luk bir protein, enolaz (Syscan 3) ve spesifik mannozidler (Platelia) bulunmaktadır. Antijen saptayan testler aktif infeksiyonu saptayabilmekle birlikte, antijenlerin kandan hızla temizlenmesi nedeni ile duyarlılıklarının yetersiz olduğu bildirilmektedir (21, 93).

Klinik örneklerde antijen ve antikorların birlikte saptanmasının bu testlerin sistemik kandidiyazis tanısındaki duyarlılığını arttırdığı düşünülmektedir. Mikulska ve arkadaşları (98) tarafından yapılan bir çalışmada; mannan-antimannan kombine edilerek kullandığında duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %83 ve %86 iken, bu değerler tek başına mannan antijeni bakıldığında %58 ve % 93, tek başına antimannan antikorları saptandığında ise %59 ve % 83 olarak bulunmuştur.

İmmunolojik tanısal testlerin standardizasyon ve yorumlama problemleri nedeni ile invazif kandidiyazis tanısında tek başına kullanılmaması gerektiği ve ancak konvansiyonel tekniklere ek olarak yapılmalarının uygun olduğu bildirilmiştir (97).

2.3.7.3.3. *Candida* metabolitlerinin saptanması

Bu alandaki çalışmaların çoğu infeksiyon sırasında vücut sıvılarına salınan ve bir *Candida* metaboliti olan arabinitolün üzerinde yoğunlaşmıştır. Arabinitol; *C. krusei* ve *C. glabrata* dışındaki çoğu *Candida* türü tarafından salınmaktadır (97).

Diğer bir metabolit ve 1995 yılında tanımlanan bir hücre duvarı komponenti olan (1-3) beta-D-glukanın ise diğer mantarlarda da bulunması nedeni ile kandidiyazisde tanısal bir araç olarak değeri tartışmalıdır (93,97).

2.3.7.3.4. Moleküler Yöntemler

Bu yöntemler vücut sıvılarındaki *Candida*'lara ait DNA'nın, başta rRNA gen kompleksini tanıyan probler olmak üzere, spesifik probler kullanılarak saptanması esasına dayanmaktadır. Aktin genini, sitokrom p450 14- α -lanosterol demetilazı kodlayan geni, kitin sentetaz genini ve mitokondrial DNA veya kandidal DNA'nın tekrarlayan elementlerini tanıyan değişik probler tanımlanmıştır (93).

Henüz araştırma aşamasında olan moleküler tekniklerin, kanda *Candida* hücrelerinin az sayıda bulunması ve inhibitörlerin varlığı nedeniyle göreceli olarak düşük duyarlılığa sahip oldukları bildirilmektedir (3).

2.3.7.3.5. Ampirik Tedavi için Tanısal Yaklaşımlar

Günümüzde kandidiyazis için erken tanıda yüksek duyarlılığa sahip laboratuvar temelli bir yöntemin bulunmayışı, *Candida* ile kolonizasyonu veya değerlendirmede risk faktörlerinin kombinasyon dinamiklerini temel alan klinik yaklaşımlar ortaya çıkarmıştır (3).

2.3.7.3.5.1. *Candida* kolonizasyonu ve kolonizasyon indeksi

Çeşitli çalışmalar, *Candida* türlerinin semikantitatif kültürlerde çok sayıda vücut bölgelerinden izolasyonunun, bunu takip eden bir invazif kandidiyazisin göstergesi olduğunu bildirmiştir (4, 99). İki'den fazla vücut bölgesinde *Candida* cinsinden mayaların varlığının antifungal tedavi başlamak için yeterli olduğu öne sürülmüştür (100). Ancak YBÜ'de yatan hastalar ilerleyici şekilde kolonize olduğundan, sadece bir noktada değerlendirme yapmanın doğruluğunun düşük olduğu ve bu şekildeki bir yaklaşımın antifungallerin aşırı kullanımına yol açabildiği bildirilmiştir (3).

Pittet ve ark. (4) invazif kandidiyazisi daha doğru bir şekilde tahmin edebilmek için kolonizasyon bileşenlerini periyodik olarak takip etmişler ve kolonize olan bölge sayısının örnek alınan bölge sayısına oranı olarak tanımlanan kolonizasyon indeksini (Kİ) günlük olarak hesaplanmışlardır. Kİ'nin eşik değeri 0.5 olarak alındığında, elde edilen değerin 0.5 veya daha yüksek olması durumunda infeksiyon gelişme ihtimali olan hastaların daha doğru bir şekilde saptanabildiği gösterilmiştir. Araştırmacılar invazif kandidiyazis gelişen tüm hastaların infeksiyon öncesi bu eşik değere ulaştığını bildirmişlerdir.

Kİ' nin klinik olarak önem taşıdığı çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Çalışmalarda; hematolojik malignite, geniş spektrumlu antibiyotiklere maruziyet süresi, hastaneye yatış sırasındaki mantar kolonizasyonu ve kandidürinin, Kİ'nde artışa yol açtığı, antifungal kullanımının ise azalmayla ilişkili olduğu bulunmuştur (3).

Kİ'nin, antifungal tedavinin erken başlanmasından fayda sağlanabilecek, *Candida* ile kolonize kritik hastaların tanımlanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir (3). Bununla birlikte, cerrahi dışı hastalarda veriler sınırlıdır ve kritik hastalarda tedavinin maliyeti ve yararı için prospektif, karşılaştırmalı klinik çalışmalara gereksinim olduğu belirtilmiştir (16).

2.3.7.3.5.2. *Candida* skoru

Leon ve ark. (101) çok merkezli prospektif bir çalışma ile erken antifungal tedaviden faydalanabilecek hastaları seçmek için yardımcı olan *Candida* Skor (CS) sistemini tanımlamışlardır. Bu skorlama daha önceden bildirilen risk faktörlerinin prediktif değerlerini temel almaktadır. Bu çalışmada, kanıtlanmış *Candida* enfeksiyonu ile bağımsız olarak ilişkili olan çeşitli faktörler bildirilmiştir. İnvazif kandidiyazis gelişimi riskinin, CS>2.5 olan hastalarda, CS<2.5 olan hastalara göre 8 kat daha fazla olduğu bulunmuştur (101).

Yine Leon ve ark. (102), çok merkezli prospektif bir çalışma ile CS' nun validasyonunu yapmışlardır. Bu çalışmada CS<3 olan hastaların %5' inden azında invazif kandidiyazis gelişebildiği hipotezi doğrulanmış ve CS>3 olduğunda, sadece abdominal cerrahinin, invazif kandidiyazis riskini anlamlı olarak arttırdığı bildirilmiştir. Sonuçta, bu skorlama sisteminin sadece nötropenik olmayan ve cerrahi uygulanmayan kritik hastalarda antifungal tedavinin başlanmayacağını doğrulamak için kullanılabileceği, bununla birlikte cerrahi uygulanan hastalarda CS>3 olduğunda antifungal tedavinin uygulanabileceği bildirilmiştir (13).

2.3.7.3.5.3. Ostrosky-Zeichner tahmin kuralı

Diğer bir klinik risk tahmin skoru da Ostrosky-Zeichner ve ark. (103) tarafından belirlenmiştir. Araştırmacılar beş parametrenin (parenteral beslenme, majör cerrahi girişim, pankreatit, steroid veya diğer immunsupresiflerle tedavi) iki veya daha fazlası ile, sistemik antibiyotik kullanımı veya santral venöz kateter uygulanmasının kombine

edilmesinin, kandidemili hastaları tanımlayabileceği ve bu skorlamanın pozitif ve negatif prediktif değerlerinin sırasıyla %1 ve %97 olarak saptandığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, risk skorları ve klinik parametrelerin kombinasyonlarının invazif kandidiyazis tanısını koymada pozitif prediktif değeri düşük, ancak negatif prediktif değeri yüksek olması nedeniyle kritik hastalara uygulanan gereksiz antifungal tedavilerde azalma sağlayabilecekleri bildirilmiştir (3).

2.4. ANTİFUNGAL İLAÇLAR

Kandidemili hastalarda uygun antifungal tedavinin hızla başlanması mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. Profilaksinin, yararlı olduğu gösterilmiş olan hastaların çok spesifik alt grupları ile sınırlandırılması gerektiği bildirilmiştir. Kolonize veya yüksek risk skorlu hastalarda preemptif tedavi ve uygun antibakteriyel tedaviye cevap vermeyen septik hastalarda ampirik tedavi, olası erken müdahaleler olarak kabul edilmektedir (3).

2.4.1. Polyenler

Polyen türevleri amfoterisin B ve nistatindir. Amfoterisin B, etkin bir antifungal olmasına rağmen klinik kullanımını sınırlayan sistemik ve renal sorunlar başta olmak üzere, yan etkileri vardır. Amfoterisin B nefrotoksik etkisi nedeniyle , lipozomlar (Ambisome), lipid kompleksler (Abelcet) ve kolloidal süspansiyonlar (Amphotec) şeklinde formüle edilmiştir (104).

Nistatin topikal kullanılan bir antifungal madde olmakla birlikte, sistemik kullanım amaçlı olarak lipozomal formu (Nyotran) geliştirilmiştir (104).

Polyenler primer olarak membrandaki ergosterole bağlanmakta ve bu etkileşim ile membranda porların oluşumuna neden oldukları düşünülmektedir. Polyen hidroksil rezidülerinin içe doğru oluşturduğu por benzeri yapılar, permeabiliteyi değiştirerek vital sitoplazmik komponentlerin kaybına ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Polyenler, kolesterol gibi diğer sterollere de bağlanabilmektedir. Amfoterisin B’ nin üstünlüğü ergosterol içeren membranlara, kolesterol içeren membranlara göre daha yüksek afinite göstermesidir (105).

Amfoterisin B çeşitli fungal patojene etkili, geniş spektrumlu bir fungisidal ilaçtır. Bu antifungalın *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, veya *C. tropicalis* dahil çeşitli *Candida* türlerinin %90’ nını inhibe eden minimum inhibitör konsantrasyon

(MİK) 90 değerlerinin; 0.25-1µg/ml aralığında olduğu belirlenmiştir. Amfoterisin B' nin *Candida* türleri için fungisidal konsantrasyonunun ise MİK değerinin 0.5-1 katına eşit olduğu bildirilmiştir (105).

2.4.2. Flusitozin

Flusitozin (5-FC), primidin metabolizmasını bozarak mantar hücresindeki DNA, RNA ve protein sentezini engellemektedir. Bu antifungale tedavi sırasında hızla direnç geliştiği için tek başına tercih edilmemektedir ve amfoterisin B ile kombine kullanılması önerilmektedir (105).

2.4.3. Azoller

Triazoller ve imidazoller bu grupta yer almaktadır. Bu antifungaller genel olarak fungistatik etkiye sahiptir olmakla birlikte, bazı yeni triazoller (örneğin vorikonazol) fungisidal etkilidir. Bu antifungallerin hepsi sitokrom p450 14α-demetilaz (lanosterol demetilaz) enzimini inhibe etmek yoluyla ergosterol sentezini engellemekte ve böylece mantar membranının sentezini sonlandırmaktadır (104)

2.4.3.1. Ketokonazol

Sistemik kullanılan tek imidazol türevidir. *Candida* türlerine etkinlik düzeyi triazollere göre sınırlıdır. Diğer azollere dirençli *Candida* suşlarında ketokonazole çapraz direnç görülebilmektedir. Bu ilaç toksik bir bileşik olması ve daha az toksik etkili antifungallerin klinik kullanımda olması nedeni ile günümüzde nadiren kullanılmaktadır (104)

2.4.3.2. Flukonazol

Suda çözünen ve tüm organ ve dokulara dağılma özelliğinde olan bir bileşiktir. Hem oral hem de intravenöz formunun bulunması, düşük hepatik, endokrinolojik ve gastrointestinal yan etkilere sahip olması ve BOS'a iyi geçmesi nedeniyle sık kullanılmaktadır (104).

Bu antifungal genellikle fungistatik ve birçok *Candida* türüne etkilidir. *C.krusei* flukonazole doğal dirençli, bazı *C.glabrata* suşları ise flukonazole doza bağlı duyarlıdır. Uzun süreli uygulanan flukonazol profilaksisi sonrasında *C. albicans* suşlarında da olmak üzere flukonazole direnç gelişebildiği bildirilmiştir (106).

2.4.3.3. İtrakonazol

İtrakonazol geniş bir etki spektrumuna sahiptir. İtrakonazolün flukonazole dirençli *C. krusei* ve *C. glabrata* kökenlerinin tümüne olmasa da bir kısmına karşı etkinliği vardır. İtrakonazolün kutanöz ve mukozal kandidiyazis tedavisinde yararlı bulunmasına rağmen kandidemi tedavisindeki etkinliği tam olarak değerlendirilememiştir. Flukonazolün tersine ilaç etkileşimleri itrakonazol ile sık görülmektedir (104).

2.4.3.4. Vorikonazol

Vorikonazolün, hedef enzim olan lanosterol demetilazı inhibe edici etkisi yapısal değişiklikler sonucunda flukonazole nazaran artmış ve etki spektrumu genişlemiştir. Bu antifungal *C. krusei* ve *C. glabrata* dahil *Candida* türlerine karşı flukonazolden 4-16 kat, itrakonazolden ise 2-7 kat daha yüksek aktivite göstermektedir. Vorikonazolün oral ve parenteral formları da vardır ve biyoyararlanımı doza bağlı olarak artmaktadır (107)

2.4.3.5. Posakonazol

İkinci kuşak bir triazol olan posakonazol oral yoldan kullanılan ve immunsüprese hastalarda invazif fungal infeksiyon profilaksisinde yüksek oranda etkin olan bir antifungaldir. Bu ilaç orofarengeal ve özefageal kandidiyazis dahil invazif fungal infeksiyonların birinci basamak tedavisinde kullanıldığı gibi kurtarma tedavisinde de yeri vardır (108).

2.4.3.6. Ravukonazol

Ravukonazol ikinci kuşak bir triazoldür ve etki spektrumu posakonazole benzerdir. *Candida* ve flukonazole dirençli diğer mayalara karşı güçlü in vitro aktiviteye sahiptir. Sadece oral formülasyonu olup intravenöz formu geliştirilme aşamasındadır (109)

2.4.3.7. Albukonazol

İkinci kuşak bir triazol olan albukonazol etki spektrumunun geniş, oral biyoyararlanımı çok yüksek olması ve ciddi yan etkilerinin olmaması üstünlüğüne sahiptir. Bu antifungal *Candida* cinsine karşı çok güçlü aktivite göstermektedir (109).

2.4.3.8. İsavukonazol

Yüksek fungisidal aktiviteye sahip bu antifungalın yan etkileri düşüktür. İsavukonazol, flukonazole dirençli olanlar dahil *Candida* türleri üzerine yüksek, antifungal bir etki göstermektedir (109).

2.4.4. Ekinokandinler

Ekinokandinler, geniş bir antifungal etki spektrumuna sahip lipopeptid yapısında bileşiklerdir. Yeni geliştirilen ekinokandin türevleri; kaspofungin, mikafungin ve anidulafungindir. Bu antifungaller 1.3- β -D-glukan sentetaz enzimine irreversibl olarak bağlanarak inhibe etmektedir. Ekinokandinler azol direnci olan suşlar dahil *Candida* türlerine karşı in vitro ve in vivo güçlü fungisidal aktiviteye sahip olmakla birlikte, *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii*' ye karşı etkilerinin diğer mayalara oranla daha sınırlı olduğu görülmektedir (104).

Kaspofungin, orofarengeal ve özefageal kandidiyazis ve kandidemi, *Candida*' ya bağlı gelişen batın içi abseler, peritonit ve plevral infeksiyonlar ve antibakteriyel tedaviye yanıt vermeyen febril nötropenik hastalarda ampirik antifungal tedavi endikasyonları için onaylanmıştır (104).

Mikafungin, özefageal kandidiyazis ve kandidemi tedavisinde, kök hücre transplantasyon hastalarının ve canlı donörden karaciğer transplantı yapılan hastaların antifungal profilaksisinde etkili bulunmuştur. Mikafunginin kök hücre transplantasyonu yapılan hastalarda *Candida* infeksiyonlarına karşı profilaksi, özefageal kandidiyazisli hastalarda ise tedavi amaçlı kullanımı U.S. Food Drug and Administration (FDA) tarafından onaylanmıştır (104).

2.5. ANTİFUNGAL DUYARLILIK / ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ

C. glabrata ve *C. krusei* azollerin birine veya birkaçına, *C. parapsilosis* ise ekinokandinlere azalmış duyarlılığa sahip en sık türlerdir. Son yıllarda bir veya birden fazla antifungale intrensek olarak azalmış duyarlılığa sahip nadir rastlanan türlerde artış saptanmaktadır. Bunlar arasından *C. ciferrii*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. humicola*, *C. lambica*, *C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. palmioleophila*, *C. rugosa* ve *C. valida* bir ya da daha fazla azole; *C. fermentati* ve *C. guilliermondii*' nin ise ekinokandinlere tam olarak duyarlı olmadıkları belirlenmiştir. Ek olarak, *C. lusitaniae* amfoterisin B' ye azalmış duyarlılık gösterdiği bilinmektedir (54).

Antifungal duyarlılık testlerinin uygulanma amaçları şu şekilde sıralanmaktadır (110):

- İnfeksiyon etkeni oldukları belirlenen izolatların, sık kullanılan antifungal ilaçlara karşı duyarlılık profillerinin belirlenmesi ve direnç oranlarının saptanması için yapılan epidemiyolojik izlemler.
- Yeni geliştirilen antifungal bileşiklerin antifungal aktivitelerinin belirlenmesi.
- Rutin mikoloji laboratuvar uygulamalarında, klinik gidişin tahmini ve antifungal tedavinin optimizasyonu.

Günümüzde “Infectious Diseases Society of America” (IDSA) rehberleri, kandideminin tedavisinde antifungal kullanımının yönlendirilmesi için rutin duyarlılık testlerini önermemektedir. Bununla birlikte, antifungal duyarlılık testleri şu durumlarda faydalı olabilmektedir: i) ampirik antifungal tedavi rejimlerinin rasyonel bir şekilde seçimi ve doz ayarlaması için, YBÜ gibi belli merkezlerdeki lokal antifungal direnç oranlarının saptanması, ii) uzun dönem tedavilerin optimal bir şekilde düzenlenmesi için kandidemi ve derin doku yerleşimli *Candida* infeksiyonlarından izole edilen *Candida* suşlarının duyarlılık paternlerinin değerlendirilmesi, iii) alternatif tedavi seçenekleri için tekrarlayan mukozal infeksiyonlardan izole edilen *Candida* suşlarının duyarlılık profillerinin belirlenmesi (110, 111).

2.5.1. Sıvı bazlı referans yöntemler

Günümüzde antifungallere karşı mantarların duyarlılıklarını saptamada kullanılan iki uluslararası standart yöntemden biri “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI), diğeri ise “Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of The European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases” (EUCAST–AFST) tarafından geliştirilmiştir. Her ikisi de, düşük ve yüksek MİK değerlerine sahip popülasyonları ayırt edebilen, laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası yüksek tekrarlanabilirliğe sahip yöntemlerdir. Bu iki yöntem inokulum yoğunluğu, besiyeri ve MİK sınır değerleri açısından farklılık göstermektedir (112).

Mayaların duyarlılık testlerinin yapılması için çok merkezli çalışmalar sonucunda CLSI tarafından makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemlerinin yer aldığı M27-A3 standartları kapsamında direnç sınır değerleri belirlenmiştir (113). Sıvı

mikrodilüsyon yönteminde antifungaller için önerilen sınır değerleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5 CLSI tarafından sıvı mikrodilüsyon yönteminde antifungaller için önerilen sınır değerleri.

	D*	DBD**	OD***	Di****
Flukonazol	≤8µg/ml	16-32 µg/ml	-	≥64 µg/ml
İtrakonazol	≤0.12µg/ml	0.25-0.5 µg/ml	-	≥1 µg/ml
Vorikonazol	≤1 µg/ml	2 µg/ml	-	≥4 µg/ml
Flusitozin	≤4 µg/ml	-	8-16 µg/ml	≥32 µg/ml
Ekinokandin	≤2 µg/ml	-	-	-

*D: duyarlı, DBD**:doza bağlı duyarlı, OD***: Orta duyarlı, Di****: dirençli.

2.5.1.1. Makrodilüsyon (113)

Bu yöntem ancak az sayıda test çalışabilen küçük ölçekli laboratuvarlar için uygundur.

Besiyeri olarak glutamin içeren, bikarbonat içermeyen ve pH indikatörü olarak fenol red bulunan RPMI 1640 sentetik besiyeri kullanılmaktadır. Tampon olarak antifungal testler için uygun bulunan ve son konsantrasyon pH 7’ de 0.165mol/ L olacak şekilde MOPS (3-N-morpholino propanesulfanic acid) kullanılmaktadır.

Antifungal ilaç miktarları, kullanılacak ağırlık veya hacimlerine, potenslerine ve istenilen konsantrasyonlara göre aşağıdaki formüllerden birisiyle hesaplanmaktadır:

$$\text{Ağırlık (mg)} = [(\text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon (}\mu\text{g/ml)}) / \text{Potens (}\mu\text{g/ml)}] \text{ veya,}$$

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

Antifungal maddeler gerekli miktarlarda tartıldıktan sonra uygun çözücülerle stok solüsyonları hazırlanmakta, filtre edilmekte ve küçük miktarlarda bölünerek kullanılıncaya kadar dondurularak saklanmaktadır. Her antifungalın ara ve son konsantrasyonları test besiyeri olan RPMI 1640 ile hazırlanmaktadır.

- İnokulum, 530nm dalga boyunda McFarland 0.5 bulanıklık standardına uygun şekilde ayarlanmaktadır. Bu şekilde hazırlanan bir maya stok solüsyonu yaklaşık 1×10^6 - 5×10^6 /ml maya hücresi içermektedir. Çalışma solüsyonu, RPMI 1640 ile önce

1/100 ve ardından ise 1/20 oranında dilüe edilmektedir. Son konsantrasyonun $5 \times 10^2 - 2.5 \times 10^3$ /ml hücre içerdiği varsayılmaktadır.

- Antifungal maddenin 10 kat yoğunlukta hazırlanan ara konsantrasyonlarından 0.1'er ml 12x75 mm' lik tüplere eklenmektedir. Hazırlanan inokulumdan 0.9 ml, dilüsyon serisindeki her tüpe eklenerek karıştırılmaktadır. Bu da antifungal konsantrasyonunun 1:10 dilüsyonuyla sonuçlanmaktadır. Üreme kontrolüne 0.1ml olacak şekilde antifungal ilaç içermeyen RPMI 1640 besiyerinden eklenmektedir.
- Sonuçlar, 35 °C'de *Candida* türleri için 24-48 saat, *C.neoformans* için ise 70-74 saat sonra okunmaktadır.

2.5.1.2. Mikrodilüsyon (113)

Mikrodilüsyon yöntemi makrodilüsyona göre daha kolay yapılması nedeniyle çoğu laboratuvar tarafından tercih edilmektedir.

Antifungal maddelerin ara konsantrasyonları makrodilüsyon yönteminde 10 kat olarak hazırlanırken, mikrodilüsyon yönteminde 5 kat olarak hazırlanmaktadır. Maya stok solüsyonları 530nm dalga boyunda 0.5 McFarland standardına uygun şekilde hazırlandıktan sonra 1/50 ve 1/20 oranında RPMI 1640 besiyeri ile dilüe edilmektedir. İnokulumun son konsantrasyonu ml' de $0.5 \times 10^3 - 2.5 \times 10^3$ maya hücresi içermektedir. Sıvı mikrodilüsyon testi steril, tek kullanımlık, U tabanlı 96 kuyucuk içeren mikropatlarda yapılmaktadır. Makrodilüsyondaki gibi 11. kuyucuk pozitif, 12. kuyucuk negatif kontrol olarak kullanılmaktadır. Antifungal madde ara konsantrasyonlarından 100µg alınarak ilk 10 kuyucuğa ilk kuyucuk en yüksek ilaç konsantrasyonunu içerecek şekilde, eklenmektedir. Ardından hazırlanan inokulumdan 100µg alınarak ilk 11 kuyucuğa eklenmektedir.

Mikrodilüsyon plakları *Candida* türleri için 48, *C.neoformans* için 72 saat süreyle 35 °C'de inkübe edilmektedir. Her bir kuyucuktaki üreme, 11 no'lu pozitif kontrol kuyucuğu ile karşılaştırılarak değerlendirilmektedir. MİK değerleri ekinokandinler için 24 saat, amfoterisin B ve flukonazol için 24 veya 48 saat, flusitozin, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol ve posakonazol için 48 saat ve çoğu *C.neoformans* izolatları için bütün antifungallere karşı 72 saatte okunmaktadır.

Amfoterisin B için üremenin tamamen engellendiği (%100' lük inhibisyon: optik olarak berrak) en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak tanımlanmaktadır. Azol

grubu ilaçlarda görülen kısmi inhibisyon etkisi (trailing effect) MİK değerinin belirlenmesinde güçlük yaratarak sonuçların farklı yorumlanmasına yol açmaktadır. Azol grubunda MİK değeri üremede belirgin azalmanın görüldüğü (üreme kontrol kuyucuğundaki üremenin yaklaşık %50'si ya da daha azı) en düşük konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır.

2.5.2. Sıvı bazlı alternatif yöntemler

2.5.2.1. Kolorimetrik Yöntemler (Sensititre YeastOne, FUNGITEST, Trek)

Her test bir mikropak ve altı antifungal maddenin seri dilüsyonlarını içermektedir. Standart testlerden farkı kolorimetrik (Alamar blue) indikatör veya floresan boyaların kullanılmasıdır. Renk değişiminin görülmediği ilk kuyucukdaki ilaç konsantrasyonunun MİK değeri olarak kabul edilmesi azollerde görülen kısmi inhibisyon etkisini azaltmaktadır (114). Sensititre YeastOne yönteminin referans yöntem ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (115).

2.5.2.2. Spektrofotometrik Yöntem

Bu yöntemde, MİK değerleri spektrofotometrik plak okuyucusu ile saptanarak sonuçların daha objektif olarak değerlendirilmesi sağlanmaktadır. Spektrofotometrik yöntemde MİK değeri, antifungalın oluşturduğu üreme inhibisyonu sonucunda optik yoğunlukta azoller, flusitozin ve ekinokandinler için % 50' lik, amfoterisin B için ise %90' lık bir azalmanın olduğu ilk kuyucuğa denk gelmektedir (114).

2.5.2.3. Akım Sitometrisi (Flow cytometry)

Bu yöntemle antifungalle karşılaştıktan sonra mantar hücresinde oluşan hasar DNA' ya bağlanan canlı boyalar kullanılarak saptamaktadır. Daha hızlı (4-6 saat) sonuç alınmasına rağmen, akım sitometri cihazına ihtiyaç duyulması kullanımını sınırlamaktadır (114, 116).

2.5.2.4. VITEK 2 antifungal duyarlılık sistemi

VITEK 2 tam otomatize edilmiş, ticari bir antifungal duyarlılık test sistemidir. Bu sistem suşun tanımlanmasını ve antifungal duyarlılık testini eş zamanlı yapabilmek özelliğini taşımaktadır. Test amfoterisin B, flukonazol, flusitozin ve vorikonazol için antifungal duyarlılık saptamaktadır. Kit içerisinde bulunan AST-YS01 kartı spesifik

antifungal maddeleri içeren 64 kuyucuktan oluşmakta ve mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerlerini mikrodilüsyon yöntemiyle saptayan, esas olarak minyatürize edilmiş çift kat dilüsyon tekniğini kullanan bir özelliğe sahiptir. Sonuçlar optik bir okuyucu ile okunarak yorumlanmaktadır (117).

Candida türlerinin amfoterisin B ve azollere karşı antifungal duyarlılıklarının saptanmasında, Vitek 2 sisteminin CLSI ve EUCAST referans mikrodilüsyon yöntemleri ile esansiyel uyumunun ortalama >%95 ve in vitro amfoterisin B ve azol direncinin tanımlanmasında güvenilir bir yöntem olduğu bildirilmiştir. (117).

2.5.3. Agar bazlı yöntemler

2.5.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Candida türlerinin flukonazole ve vorikonazole duyarlılıklarını belirleyen standart bir disk difüzyon duyarlılık yöntemi bulunmakta

dır (CLSI M44-A). Sıvı dilüsyon testine göre uygulaması kolay, hızlı ve maliyeti düşüktür (110, 114).

NeoSensitabs Tabletleri, Avrupa’da kullanılan ticari bir sistemdir ve uygulanma şekli disk difüzyon yöntemine benzemektedir. Bununla birlikte, bu yöntemle referans sıvı mikrodilüsyon yönteminin uyumunun düşük olarak saptandığı bildirilmiştir (118).

2.5.3.2.E Test yöntemi

Bu yöntem giderek artan konsantrasyonlarda antimikrobiyal bir madde içeren plastik bir şeridin uygulandığı bir agar difüzyon yöntemidir. E test stripleri amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, flusitozin, vorikonazol, posakonazol ve kaspofungin için ticari olarak bulunmaktadır (110). E test’ in CLSI referans mikrodilüsyon yöntemi ile iyi korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (112). Bununla birlikte, referans yöntemle uyumu kullanılan besiyeri ve *Candida* türüne göre değişmektedir. En iyi sonuç veren besiyerinin %2 glukoz eklenmiş katı RPMI besiyeri olduğu bulunmuştur. Bazı suşlarda görülen kısmi inhibisyon etkisinin değerlendirmeyi zorlaştırdığı bildirilmektedir (114, 116).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA GRUBU

İstanbul Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı YBÜ’nde 01.01.2011-01.10.2011 tarihleri arasında yatan ve yedi günden daha fazla yaşam beklentisi olan 16 yaş üzerindeki hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastaların yaşı, cinsiyeti, YBÜ’ ne yatış- taburcu olma tarihleri, altta yatan hastalıkları, eşlik eden infeksiyonlar ve risk faktörleri (diyabetes mellitus, nörolojik hastalıklar, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kronik renal yetmezlik ve ciddi kalp yetmezliği, kortikosteroid tedavisi, geniş spektrumlu antibiyotik veya antimikrobiyal ilaç kullanımı, mekanik ventilasyon, antifungal kullanımı, üriner kateter, santral venöz kateter, total parenteral beslenme, enteral beslenme ve renal replasman tedavisi) kaydedilmiştir. Antimikrobiyal tedavi uygulanan hastalarda kullanılan antibiyotik ve antifungal ilaç grupları ayrıca kaydedilmiştir.

3.2. ÖRNEKLERİN ALINMASI

YBÜ’ nde yatan ve çalışma kriterlerine uygun olan hastalardan; kolonizasyonun değerlendirilmesi açısından idrar ve sürüntü şeklinde olmak üzere rektal, farengeal ve aksiller bölgeden örnekler alınmıştır. İdrar örneği, dezenfektan ile yapılan temizlikten sonra orta idrar şeklinde steril idrar kabına, sürekli kateteri olan hastalarda ise yüzey dezenfekte edildikten sonra sondaya enjektör ile girilerek alınmıştır. Orofarengeal, aksiller bölge ve rektal sürüntü örnekleri ise steril bir eküvyon ile transport besiyerine alınmıştır.

Örnekler; yatışın ilk 7 günü içerisinde ve taburcu oluncaya / ölünceye kadar olan dönemde haftada bir olmak üzere alınarak, kültür işlemleri için İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Bilim Dalı’ na götürülmüştür. İnfeksiyon şüphesiyle alınan örnekler ise hastayı takip eden klinisyen tarafından İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ na gönderilmiştir.

3.3. CANDIDA KOLONİZASYON İNDEKSİNİN HESAPLANMASI

Her hasta için KI hesaplanmıştır. İnfeksiyon şüphesi olmadan alınan örneklerin kültürlerinde *Candida* cinsinden mayaların üremesi kolonizasyon olarak kabul

edilmiştir. Kİ; kolonize olan vücut bölgelerinin sayısı aynı hastadan alınan toplam örnek sayısına bölünerek hesaplanmıştır (4).

3.4. KÜLTÜR İŞLEMLERİ

3.4.1. Kültür için kullanılan besiyerlerinin hazırlanması

3.4.1.1. Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) (Becton Dickinson, ABD)

Toz halindeki besiyerinden 65g tartılarak, 1000 ml distile su içerisinde karıştırılmış ve pH 5.5-6.0'ya ayarlanarak otoklavda 15 dakika 121 °C'de steril edilmiştir. Besiyeri 50°C'ye soğutulduktan sonra steril Petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır.

3.4.1.2. CHROMagar *Candida* (CHROMagar *Candida*, Fransa)

Toz halindeki besiyerinden 47.7g tartılarak, 1000 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılarak 100°C'yi geçmeyecek şekilde alttan ısıtılmıştır. pH'ı 6.1 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanan besiyeri 50°C'ye soğutulmuş ve steril Petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır (119).

3.4.2. Kültürlerin yapılması

Sürüntü örnekleri eküvyonla sürülerek, idrar örnekleri ise 0,01ml'lik öze ile CHROMagar besiyerlerine ekilmiştir. Örnekler ekildikten sonra, plaklar aerop koşullarda 35 ± 2 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

3.5. ÜREMELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

3.5.1. Besiyerlerinde üreyen kolonilerin makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirilmesi

- Üreyen mikroorganizmalar Gram boyama yöntemi ile boyanarak maya olup olmadıkları belirlenmiştir.

Primer kültürlerden izole edilen mayalar, çin mürekkebi ve laktofenol pamuk mavisi ile hazırlanan preparatlarda, kapsül varlığı, tomurcuklanma özellikleri (tek, çok sayıda, zincir şeklinde), boyutları ve morfolojik özellikleri açısından değerlendirilmiştir (92).

- İdrar örneklerinden izole edilen maya kolonileri sayılarak, 100 ile çarpılmış ve cfu (colony forming unit)/ml olarak kaydedilmiştir.

- CHROMagar *Candida* besiyerinde üreyen mayaların koloni görünümü ve rengi belirlenerek kayıt edilmiştir. Koloniler açık yeşil ise *C. albicans*, koyu yeşil ise *C. dubliniensis*, mavimsi-yeşil/metalik-mavi ise *C. tropicalis*, beyaz sınırları olan açık gül rengi ise *C. krusei* olarak ön tanımlanmıştır.

3.5.2. Üreyen mayaların identifikasyonu

3.5.2.1. Mayaların tanımlanması için kullanılan besiyerlerinin hazırlanması

3.5.2.1.1. Mısır unlu jeloz (MUJ)

Toz halindeki mısır unlu agar (Acumedia-ABD) 17g olacak şekilde tartılarak 1000 ml distile su içerisinde karıştırılmış, ardından 65°C’de 1saat ısıtılmış ve gazlı bezden süzölmüştür. Bu karışıma, 10ml Tween 80 (Merck, ABD) eklenerek besiyeri otoklavda 15 dakika 121°C’de steril edilmiştir. Besiyeri 50°C’ ye soğutulduktan sonra steril Petri kutularına dökölmüş ve kullanılıncaya kadar +4°C’de saklanmıştır (96).

3.5.2.1.2. Kuş tohumu (Staib) agar

Kuş tohumu 50 gr tartılarak, 100 ml distile su içinde iyice ezilmiş, daha sonra ise 900 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılarak 30 dakika kaynatılmıştır. Soğuduktan sonra, sıvı kısmı gazlı bezle süzölmüş ve distile su ile 1L’ ye tamamlanmıştır. Bu karışıma 1g KH₂PO₄, 1g kreatinin ve 15g agar eklenerek otoklavda 15 dakika 121 °C’de steril edilmiştir. Besiyeri 50 °C’ye soğutulduktan sonra steril Petri kutularına dökölmüş ve kullanılıncaya kadar +4°C’de saklanmıştır (96).

3.5.2.1.3. %6,5 NaCl içeren SDA

SDA besiyeri içerisine %6.5 oranında NaCl eklenmiş ve karışım otoklavda 121°C’ de 15 dakika sterilize edilmiştir (120).

3.5.2.2. Mayaların identifikasyonu için deneylerin uygulanması

3.5.2.2.1. Dalmau plate yöntemi (MUJ)

Subkültürler MUJ besiyerine paralel çizgi ekimleri şeklinde inoküle edilmiş ve üstleri lamel ile kapatılarak 28°C’ de 2-5 günlük bir inkübasyon sağlanmıştır. Bu inkübasyon sonunda Petri kabının kapağı açılmış ve üremeler mikroskop altında incelenmiştir. Mayalar bu şekilde hif, klamidospore, artrospore ve blastospore oluşturmaları yönünden değerlendirilmiştir. MUJ besiyerinde klamidospore oluşturan suşlar; *C. albicans* veya *C. dubliniensis* olarak ön tanımlanmıştır (96).

3.5.2.2.2. Germ tüp testi

Testi uygulamak için, bir öze ile alınan koloniler insan serumuna ekilerek 37 C’de 2 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda hazırlanan lam-lamel arası preparasyonda germ tüp oluşup oluşmadığı incelenmiştir. Pozitif izolatlar *C. albicans* veya *C. dubliniensis* olarak  n tanımlanmıştır (96).

3.5.2.3. API 20C AUX (BioMerieux,France)

C.albicans-C.dubliniensis dışındaki mayaların tür düzeyinde tanımlanması için API 20C AUX karbonhidrat asimilasyon kiti kullanılmıştır. Kit prosedürüne uygun şekilde, SDA’ da üreyen 24 saatlik kolonilerden McFarland 2 bulanıklık standardına göre hazırlanan süspansiyondan 100 l alınarak API 20C besiyeri içerisine karıştırılmış ve bu süspansiyondan API kartlarındaki  ukurcuklara uygun miktarlarda dağıtılmıştır. Sonuçlar negatif kontrole göre 24, 48 ve 72 saat sonra okunarak değerlendirilmiştir.

2.5.2.2.4. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* ayırım için uygulanan deneyler

A. Staib agar’da üreme özelliği

SDA’ da üreyen 48 saatlik kolonilerden Staib agara ekim yapılmış ve 30 C’ de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Oluşan kolonilere laktofenol pamuk mavisi damlatıldıktan beş dakika sonra steril lamel kapatılmış ve 40’lık objektif ile incelenmiştir. Bu besiyerinde hifal uzantılar ve klamidospor oluşturan düzensiz koloniler *C. dubliniensis*, klamidospor oluşturmayan düz koloniler ise *C.albicans* olarak değerlendirilmiştir (121).

B. Tuz tolerans testi

SDA’ da üreyen 24 saatlik kolonilerden hazırlanan McFarland 0.5 bulanıklığındaki süspansiyonlardan 10 l alınarak , %6.5 NaCl içeren SDA’ ya ekilmış ve besiyerleri 37 C’ de 48 saat inkübe edilmiştir. Üreme gösteren suşlar *C.albicans*, üreme göstermeyenler ise *C. dubliniensis* olarak değerlendirilmiştir (122).

C. Isı tolerans testi

C. albicans veya *C. dubliniensis* olarak  n tanımlanan suşlar SDA’ya ekilerek, besiyerleri 45 C’ de 48 saat inkübe edilmiştir. Üreme gözlenmesi *C.albicans*, üreme gözlenmemesi *C. dubliniensis* olarak değerlendirilmiştir (25).

3.6. ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİNİN UYGULANMASI

3.6.1. Antifungal duyarlılık testlerinde kullanılan besiyerlerinin ve antifungal madde solüsyonlarının hazırlanması

3.6.1.1. RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, ABD) besiyerinin hazırlanması

RPMI 1640 besiyeri (glutamin ve fenol kırmızılı, bikarbonatsız) 10.4g, MOPS [(3-N-morpholino propanesulfonik asit) buffer] (Sigma-Aldrich) ise 34.53g tartılarak 900ml distile su içinde çözülmüştür. MOPS tamponu besiyerine son konsantrasyonu pH 7' de 0.165mol/ L olacak şekilde eklenmiştir. Besiyerinin pH' sı 1mol/L NaOH kullanılarak, oda sıcaklığında (25 °C'de) 6.9-7.1 aralığında ayarlanmıştır. Besiyerinin hacmi distile su ile 1L' ye tamamlanmış ve 0.2µm porlu filtrelerden geçirilerek steril hale getirildikten sonra, kullanılıncaya kadar 4 °C' de saklanmıştır (113).

3.6.1.2. Antifungal madde solüsyonlarının hazırlanması

Antifungal ilaç miktarları, potenslerine ve istenilen konsantrasyonlara göre aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Tablo 6):

Tablo 6. Antifungallerin çözücüler, potens ve konsantrasyon değerleri.

Antifungal madde	Potens (µg/mg)	Çözücü	Ağırlık (mg)	Hacim (ml)	Stok kons. (µg/ml)	Ara kons (µg/ml)	Final kons (µg/ml)
AmphotericinB*	80	DMSO***	16	1	12800	64	16
Flukonazol *	98	Su	26,12	1	25600	256	64
İtrakonazol*	98	DMSO	13,06	1	12800	64	16
Vorikonazol**	98	DMSO	13.06	1	12800	64	16

*Sigma Aldrich, ABD,**Pfizer, ABD, ***DMSO: Dimethyl sülfokside.

$$\text{Ağırlık (mg)} = [\text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon (µg/ml)}] / \text{Potens (µg/ml)}$$

Antifungal maddeler potenslerine göre gereken miktarlarda tartıldıktan sonra, uygun çözücülerle stok konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bu solüsyonlar 0.2µm porlu filtrelerden geçirilerek steril hale getirilmiştir ve küçük miktarlara bölünerek kullanılıncaya kadar -80°C' de saklanmıştır.

CLSI M27A3 önerileri doğrultusunda, antifungal duyarlılık testlerinde, amfoterisin B 0.0313 - 16 µg/mL; itraconazol 0.0313 - 16 µg/mL; flukonazol 0.125 - 64 µg/mL; vorikonazole 0.0313 - 16 µg/mL konsantrasyon aralığında kullanılmıştır (113).

3.6.2. Antifungal duyarlılık testinin uygulaması

3.6.2.1. İnokulumların hazırlanması

Mayalar, SDA besiyerinde 24 saat 35 °C’ de inkübe edildikten sonra, yaklaşık 1mm çapındaki 5 koloni, 5ml steril %0.85’ lik tuzlu su içerisinde karıştırılmış, 530 nm dalga boyunda Mc Farland 0.5 bulanıklık standardına uygun şekilde bir süspansiyon hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan maya stok solüsyonu ml başına 1×10^6 - 5×10^6 maya hücresi içermektedir. Çalışma solüsyonu, RPMI 1640 sıvı besiyeri ile 1/100 ve daha sonra 1/20 oranlarında dilüe edilerek son konsantrasyonun 5×10^2 – 2.5×10^3 hücre/ ml içermesi sağlanmıştır.

3.6.2.2. Duyarlılık testinin uygulanması

- Steril, 12x8 kuyucuk içeren, kapaklı, U tabanlı mikropalakların her bir kuyucuğuna 100µl RPMI 1640 besiyeri eklenmiştir.
- İlk kuyucuğa, antifungal maddenin istenilen son konsantrasyonun 4 katı yoğunlukta hazırlanan ara konsantrasyonundan 100µl eklenerek, RPMI 1640 besiyeri ile pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Daha sonra ise buradan 100µl alınarak, ikinci kuyucuğa aktarılmış ve 11. kuyucuğa kadar seri dilüsyon uygulanmıştır.
- Daha sonra 1-11nolu kuyucuklara Mc Farland 0.5 olarak ayarlanan maya süspansiyonundan 100µl eklenmiştir.
- Pozitif kontrol olarak kullanılan 11. kuyucuk; RPMI 1640 besiyeri ve maya hücresi, negatif kontrol olarak kullanılan 12. kuyucuk; yalnızca RPMI 1640 besiyeri içermiştir.
- Mikrodilüsyon plakları 35°C’de 24-48saat, inkübe edilmiştir (113).

3.6.2.3. Duyarlılık testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Her bir kuyucuktaki üreme, 11 no’lu pozitif kontrol kuyucuğu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. MİK değerleri amfoterisin B ve flukonazol için 24 veya 48 saatte, itraconazol ve vorikonazol için ise 48 saatte okunmuştur.

Amfoterisin B için üremenin tamamen engellendiği (%100' lük inhibisyon: optik olarak berrak) en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak tanımlanmıştır. Flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için ise belirgin azalmanın görüldüğü (üreme kontrol kuyucuğundaki üremenin yaklaşık %50'si ya da daha azı) en düşük konsantrasyon, MİK değeri olarak tanımlanmıştır.

3.7. KALİTE KONTROL

Kalite kontrolü için İstanbul Tıp Fakültesi Mikroorganizma ve Kültür Koleksiyonları Merkezi (KÜKENS)' nden temin edilen *C.albicans* ATCC10231, *C. dubliniensis* CBS7987, *C. parapsilosis* ATCC22019 ve *C. krusei* ATCC6258 nolu standart suşlar kullanılmıştır.

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel analizi için bilgisayar SPSS paket programı (15.0 version, LEAD Technologies Inc, 2006) kullanılmıştır. Sayısal değerlerin ortalaması, ortalama±SD şeklinde değerlendirilmiştir. Değişkenlerin oranlarının karşılaştırılması için ki-kare testi kullanılmış ve elde edilen değerlerin < 0.05 olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3.9. ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 26.11.2010 tarihinde onaylandı (Toplantı No:26.11.2010/8 Sayı:955).

4. BULGULAR

4.1. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ

Çalışmaya İstanbul Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı YBÜ' nde yatan çalışma kriterlerine uygun toplam 87 hasta dahil edilmiştir. Hastaların 47' sini (%54) erkekler, 40' ını (%46) ise kadınlar oluşturmuştur. Hastaların medyan yaşı 55 (aralık:16-88), YBÜ' nde yatış süresi ise $13,09 \pm 1,82$ gün olarak bulunmuştur. Bu hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 7' de gösterilmiştir.

Hastaların 24' üne (%27,5) çalışma süresi içerisinde antifungal verilmiştir. Kanıtlanmış candida infeksiyonu nedeniyle antifungal tedavi alan toplam 8 (%9,2) hastadan 6' sında flukonazol, 2'sinde ise amfoterisin B kullanılmıştır. Preemptif veya ampirik olarak antifungal alan 16 (18,3) hastanın ise 10' u flukonazol (iki hastada amfoterisin B ile birlikte), 3' ü amfoterisin B (iki hastada kaspofungin ile birlikte), ikisi vorikonazol ve biri kaspofungin kullanmıştır.

Tablo 7. Hastaların demografik ve klinik özellikleri

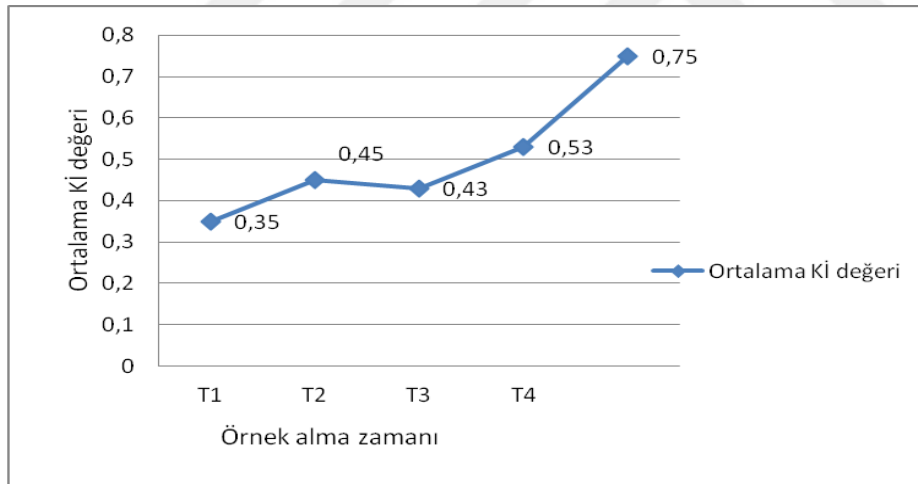
Hasta Özellikleri (n=87)	n (%)
Cinsiyet	
Erkek/kadın	47/40 (54/46)
Altta yatan hastalıklar	
Nörolojik hastalık	10 (11,5)
Pulmoner hastalık	7 (8,0)
Kalp yetmezliği	6 (6,9)
Travma	4 (4,6)
Karaciğer yetmezliği	4 (4,6)
Böbrek yetmezliği (BY)	
Kronik BY	4 (4,6)
Akut BY	7 (8,0)
Kemik iliği nakli	1 (1,1)
Solid organ nakli	4 (4,6)
Hematolojik malignite	13 (14,9)
Solid organ malignitesi	18 (20,7)
Diğerleri	9 (10,5)
Risk faktörleri	
Santral venöz kateter	86 (98,9)
Periferik venöz kateter	63 (72,4)
Mekanik ventilasyon	81 (93,1)
Trakeostomi	18 (20,7)
Entübasyon	77 (88,5)
Üriner kateter	85 (97,7)
Hemofiltrasyon kateteri	20 (23)
Arteriyel kateter	49 (56,3)
GSA* kullanımı	71 (81,6)
Enteral beslenme	35 (39,8)
Total parenteral beslenme	35(40,2)
Kortikosteroid kullanımı	52 (59,1)
Cerrahi direnler	21 (24,1)
YBÜ'nde cerrahi işlem	
Yok	84 (95,5)
Var	3 (4,5)
Mortalite oranı	42 (48,3)

* Geniş spektrumlu antibiyotik

4.2. HASTALARDA SAPTANAN *CANDIDA* KOLONİZASYON ORANLARI VE İNFEKSİYON/ KOLONİZASYON İLİŞKİSİ

YBÜ' ne yatışın ilk haftasında 64 (%73.6) hastada incelenen herhangi bir bölgede bir veya birden fazla *Candida* türü ile kolonizasyon saptanırken, 23 (%26.4) hastada kolonizasyon saptanmamıştır. İlk haftada kolonize olmayan 5 hastanın daha sonra kolonize olmasıyla kolonize olan toplam hasta sayısı 69'a (%79.3) ulaşmış, kolonize olmayan hasta sayısı ise 18'e (%20.7) gerilemiştir. Bunlardan 8 (%9,2) hastaya *Candida* infeksiyonu tanısı konmuştur. Hastalarda ve YBÜ' ne yatışın ilk haftasında hesaplanan ortalama Kİ değeri 0,35 olarak bulunmuştur. Yatış süresince, hastaların hesaplanan ortalama Kİ değeri 0,45, 0,43, 0,53 ve 0,75 olarak değişim göstermiştir (Şekil1). Çalışma süresince kolonize olan ve $Kİ \geq 0,5$ olan hastaların oranları ikinci, üçüncü ve dördüncü haftada sırasıyla %80,5, %91,3, %100 ve %63,4, %65,2, %69,2 olarak bulunmuştur.

Şekil 1. Yatış süresince ortalama Kİ değerinin değişimi.



İnvazif *Candida* infeksiyonu gelişmesi ile hastaların kolonizasyon durumları ve Kİ değerleri arasındaki ilişki araştırıldığında infeksiyon gelişen hastaların tamamının *Candida* ile kolonize ve Kİ değerlerinin ≥ 0.5 olduğu bulunmuştur. *Candida* infeksiyonu ile Kİ 0.5 eşik değeri arasındaki bu ilişkinin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 8). Kİ'nin, infeksiyon açısından yüksek riskli hastaları ayırd etmedeki, PPD, NPD, duyarlılık ve özgüllüğü ise sırasıyla %18,1, %100, %100 ve %45,6 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 8. Hastalardaki *Candida* kolonizasyonu ve infeksiyonunun Kİ değeri ile ilişkisi.

<i>Candida</i> infeksiyonu	Kİ < 0,5	Kİ ≥ 0,5	Toplam
Yok (n/%)	36 / 45,6	43 / 54,4	79
Var (n/%)	0	8 / 100	8

4.3. HASTALARDA SAPTANAN KOLONİZASYON BÖLGESİ VE İNFEKSİYON İLE İLİŞKİSİ

YBÜ'ne yatış süresi içerisinde toplam hastaların 61' inin (%70,1) orofarengeal, 50' sinin (%57,5) rektal, 8' inin (%9,2) aksiller ve 24' ünün (%34,8) üriner bölgede olmak üzere, bir veya birden fazla *Candida* türü ile kolonize olduğu saptanmıştır.

Kolonize olan toplam 69 hastanın 14' ünde (%20,3) unifokal, 55' inde (%79,7) ise multifokal kolonizasyon saptanmıştır. Bu hastaların 29'unda (%33,3) bir; 40'ında (%46) ise birden fazla *Candida* türü izole edilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Unifokal ve multifokal kolonizasyon saptanan hastaların örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin sayısı.

Kolonizasyon şekli	<i>Candida</i> tür sayısı (n / %)		Toplam (n / %)
	1	>1	
Unifokal	10/ 71,4	4/ 28,6	14/ 100
Multifokal	19/ 34,5	36/ 65,5	55/ 100
Toplam	29/ 33,3	40/ 46	69/ 100

Üriner, orofarengeal ve rektal kültürleri pozitif olan hastaların sırasıyla %33,3'ünde, %12,9' unda ve %13,7' sinde; kültürleri negatif olan hastalarda ise %2,8' inde olmak üzere, sadece rektal kültürü negatif olanlarda invazif kandidiyazis geliştiği belirlenmiştir. Aksiller bölgede kolonize olan 8 hastadan sadece 1' inde invazif infeksiyon gelişmiştir. Bu veriler değerlendirildiğinde, üriner ve orofarengeal kültür sonuçları ile invazif kandidiyazis arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p < 0,05$).

İnvazif kandidiyazis infeksiyonunun gelişiminin tahmini açısından, üriner, orofarengeal ve rektal kolonizasyonun PPD' i sırasıyla %33, %12, %13,7 ve NPD' i sırasıyla %100, %100, %97,2 olarak saptanmıştır.

İnfeksiyon gelişmeyen 79 hastanın 14' ünde (%18,7) unifokal ve 43' ünde (%57,3) multifokal; infeksiyon gelişen 8 hastanın tamamında ise multifokal

kolonizasyon olduğu ve bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

4.4. HASTALARDA CANDIDA KOLONİZASYONUNUN YBÜ'NE YATIŞ SÜRESİ İLE İLİŞKİSİ

YBÜ'nde yatan hastaların yatış süreleri ile *Candida* kolonizasyon oranı, Kİ ve multifokalite arasındaki ilişki araştırılmıştır. YBÜ'nde yatış süreleri arttıkça *Candida* için Kİ değerlerinin, kolonizasyon ve multifokal kolonizasyon oranlarının da anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ($p=0.019$) (Tablo 10).

Tablo 10. Hastaların YBÜ'nde yatış süreleri ile kolonizasyon arasındaki ilişki.

	Yatış süresi			
Kolonizasyon	1 hafta	2 hafta	3 hafta	≥4 hafta
Var n (%)	27 (67,5)	19 (86,4)	10 (83,3)	13 (100)
Yok n (%)	13 (32,5)	3 (13,6)	2 (16,7)	0

4.5. KOLONİZE OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN CANDIDA TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE ANTİFUNGAL KULLANIMI İLE İLİŞKİSİ

Toplam 87 hastanın 53'ünde (%60,9) *C. albicans*, 50'inde (%57,5) ise *albicans*-dışı *Candida* türleri ile kolonizasyon saptanmıştır. *Albicans*-dışı *Candida* türlerinin hastaların 29'unda (%33,3) *C. glabrata*, 20'inde (%23) *C. tropicalis*, 9'unda (%10,3) *C. kefyr*, 7'inde (%8) *C. krusei*, 6'sında (%6,6) *C. parapsilosis*, 2'inde (%2,3) *C. lusitaniae*, 1'inde (%1,1) *C. famata* ve 1'inde (%1,1) *C. inconspicua* olduğu belirlenmiştir. *Candida* türlerinin hastalara göre dağılımı Tablo'11 de gösterilmiştir.

Hastaların 29'unda (%33,3) bir ve 40'ında (%46) birden fazla *Candida* türü ile kolonizasyon olduğu belirlenmiştir. Kolonize olan türlerin ise hastaların 19'unda (%21,8) tek başına *C. albicans* ve 16'sında (%18,4) *albicans*-dışı *Candida* türlerinin olduğu; 34'ünde (%39,1) ise her iki grubun birlikte bulunduğu saptanmıştır. Aynı hastadan birlikte en sık izole edilen iki tür; *C. albicans* ve *C. glabrata*, üç tür ise; *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. tropicalis*' olarak saptanmıştır.

Antifungal tedavi alan ve almayan hastalarda kolonize olan *Candida* türleri sırasıyla, *C. albicans* 13 (%56,5) ve 40 (%62,5), *C. glabrata* 9 (%39,1) ve 20 (%21,9),

C. tropicalis 6 (%26,1) ve 14 (%21,9), *C. krusei* 3 (%13) ve 4 (%6,3), *C. parapsilosis* 3 (%13) ve 3 (%4,7) olarak saptanmıştır.

Antifungal tedavi alan ve almayan hastalar, kolonize olan *Candida* türleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). (Tablo 11). Flukonazol verilen hastalar ile tabloda yer alan kolonizan beş *Candida* türü arasında da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Az sayıda izole edilen diğer türler olan *C. lusitaniae*, *C. famata*, *C. inconspicua* ve *C. dubliniensis* ise sadece bir veya iki hastada saptandığı için bu hesaplama katılamamıştır.

Antifungal tedavi alan ve almayan hastalarda birden fazla *Candida* türü ile kolonizasyon %56,5 ve %42,2 olarak bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 11. Antifungal tedavi alan ve almayan hastalarda kolonize olan *Candida* türlerinin dağılımı.

	Antifungal tedavi alan n=23		Antifungal tedavi almayan n=64		Toplam n=87	
Kolonize olan <i>Candida</i> türü*	n	%	n	%	n	%
<i>Candida</i> üremesi	18	78,3	51	79,7	69	79,3
Birden fazla türle kolonizasyon	13	56,5	27	42,2	40	46
<i>C. albicans</i>	13	56,5	40	62,5	53	60,9
<i>C. tropicalis</i>	6	26,1	14	21,9	20	23
<i>C. glabrata</i>	9	39,1	20	31,3	29	33,3
<i>C. krusei</i>	3	13	4	6,3	7	8
<i>C. parapsilosis</i>	3	13	3	4,7	6	6,9

**C. lusitaniae*, *C. famata*, *C. dubliniensis* ve *C. inconspicua* türleri tabloya dahil edilememiştir.

4.6. CANDIDA KOLONİZASYONU, İNFEKSİYONU VE RİSK FAKTÖRLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİSİ

YBÜ'nde yatan ve tedavi gören hastaların Tablo 7' de belirtilmiş olan risk faktörleri, *Candida* kolonizasyonu gelişimi açısından ayrıca değerlendirilmiştir. Bulgular Tablo 12' de gösterilmiştir.

Tablo 12. Hastaların *Candida* kolonizasyon durumu ile risk faktörleri arasındaki ilişki.

Risk faktörleri	Kolonizasyon n (%)		P değeri
	Var	Yok	
Arteriyel kateter			
Var	39 (56,5)	10 (55,6)	P>0,05
Yok	30 (43,5)	8 (44,4)	
Periferik venöz kateter			
Var	49 (71)	14 (77,8)	P>0,05
Yok	20 (29)	4 (22,2)	
Santral venöz kateter			
Var	68 (98,6)	18 (100)	P>0,05
Yok	1(1,4)	0	
Hemofiltrasyon kateteri			
Var	15 (21,7)	5 (27,8)	P>0,05
Yok	54 (78,3)	13 (72,2)	
Üriner kateter			
Var	68 (98,6)	17 (94,4)	P>0,05
Yok	1 (1,4)	1 (5,6)	
Entübasyon			
Var	62 (89,9)	15 (83,3)	P>0,05
Yok	7 (10,1)	3 (16,7)	
Enteral beslenme			
Var	4 (22,2)	31 (44,9)	P>0,05
Yok	14 (77,8)	38(55,1)	
Cerrahi diren			
Var	18 (26,1)	3 (16,7)	P>0,05
Yok	51(73,9)	15 (83,3)	
Trakeostomi			
Var	16 (23,2)	2 (11.1)	P>0,05
Yok	53 (76,8)	16 (88,9)	
Steroid kullanımı			
Var	41 (78,8)	1 (21.2)	P>0,05
Yok	28 (80)	7 (20)	
GSA kullanımı			
Var	65 (75.6)	21 (24.4)	P>0,05
Yok	1 (100)	0	
Mekanik ventilasyon			
Var	67 (81,7)	15 (18,3)	P<0,05
Yok	2 (40)	3 (60)	

Bu değerlendirmede, mekanik ventilasyon yapılan hastaların % 81.7' sinde, yapılmayanların ise % 40' ında *Candida* kolonizasyonu saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak, hastalardaki diğer risk faktörleri ile *Candida* kolonizasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$).

Hastaların taşıdığı risk faktörleri ile *Candida* enfeksiyonu arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede, trakeostomi yapılan hastaların 5' inde (% 27,8), trakeostomi yapılmayan hastaların ise yalnızca 3' ünde (%4,3) enfeksiyon gelişmiştir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer risk faktörlerinin ise enfeksiyon ile ilişkisi gösterilememiştir.

Hastaların GSA kullanılmasıyla *Candida* kolonizasyonu arasında bir ilişki saptanmamış olmakla birlikte, kullanılan antibiyotiklerin sayısı açısından değerlendirme yapıldığında, en az üç antibiyotik kullanan hastaların tamamının kolonize olduğu görülmüştür ve kolonizasyon ile kullanılan antibiyotik sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p>0.05$).

İnfeksiyonların tamamı antibiyotik kullanan hastalarda gelişmiştir. Bu hastaların 4' ünün (%50) en az üç, 2' sinin (%25) iki ve 2' sinin (%25) bir grup antibiyotik kullandığı ve kullanılan antibiyotik sayısı ile enfeksiyon oluşumu arasında da anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). En sık kullanılan antibiyotiklerin hastaların sırasıyla, 26' sında (%29,9) ve 21' inde (%24,1) olmak üzere vankomisin ve piperasilin-tazobaktam olduğu bulunmuştur. *Candida* enfeksiyonu gelişen 8 hastanın; 5' inin (%62,5) vankomisin tedavisi aldığı, 3' ünün de (37,5) vankomisin tedavisi almadığı saptanmış ve bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Altta yatan hastalıkların *Candida* kolonizasyonu ile ilişkisi incelendiğinde solid organ malignitesi varlığında kolonizasyonun anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir (Tablo 13), ($p<0.05$). Diğer hastalıkların ise *Candida* kolonizasyonu ile ilişkisi saptanmamıştır. *Candida* enfeksiyonlu hastaların sayısının az olması nedeniyle, enfeksiyon ile altta yatan hastalıklar arasındaki ilişki değerlendirilememiştir.

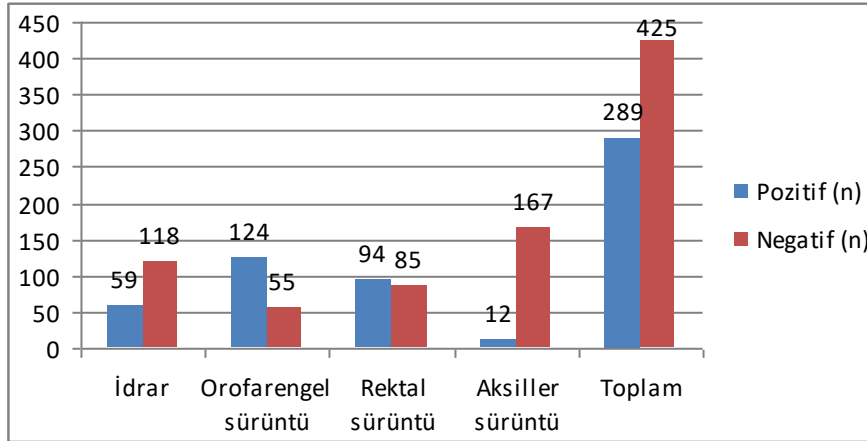
Tablo 13. Hastalarda saptanan kolonizasyon ve enfeksiyonun altta yatan hastalıklara göre dağılımı.

Altta yatan hastalık n(%)	Kolonizasyon Yok n(%)	Kolonizasyon Var n(%)	Kolonizasyon+İnfeksiyon n(%)
Nörolojik hastalık	3 (16,7)	4 (6,6)	3 (35,5)
Pulmoner Hastalık	8 (11,6)	0	0
Kalp yetmezliği	3 (16,7)9	3 (4,9)	0
Travma	1 (5,6)	2 (3,3)	1 (12,5)
Böbrek yetmezliği	4 (22,2)	8 (13,1)	0
Transplantasyon	1 (5,6)	5 (8,2)	0
Hematolojik malignite	5 (27,8)	8 (16,5)	0
Solid organ malignitesi	0	13 (21,3)	4 (50)
Diğer	1 (5,6)	10 (16,4)	0
Toplam	18	69	8

4.7. HASTALARDAN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* SUŞLARININ TÜRLERE VE ÖRNEKLERE GÖRE DAĞILIMI

Hastalardan, idrar, orofarengeal sürüntü, rektal sürüntü ve cilt sürüntü örneklerini kapsayan, ortalama örnek sayısı 8 (4-40) olmak üzere, toplam 716 örnek alınarak *Candida* açısından sürveyans kültürleri yapılmıştır. Bu bölgelerden alınan örneklerin sırasıyla 59 (% 33), 124 (%70), 94 (%53) ve 12'sinde (%7) bir veya birden fazla türde toplam 369 *Candida* suşu izole edilmiştir (Şekil 2). Çalışma süresince 8 hastada *Candida* enfeksiyonu saptanmıştır. Bu hastaların takip edilen klinisyen tarafından Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı'na gönderilen örneklerinde (6 kan, 9 idrar, 3 endotrakeal aspirat, 1 bronkoalveolar lavaj, 1 plevra ponksiyon sıvısı, 1 kateter) *Candida* cinsinden mayalar ürediği bildirilmiştir. Bununla birlikte, tarafımıza kandan izole edilmiş olan sadece üç *Candida* suşu iletilmiştir. Bu suşların, ikisi *C. albicans*, biri ise *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır.

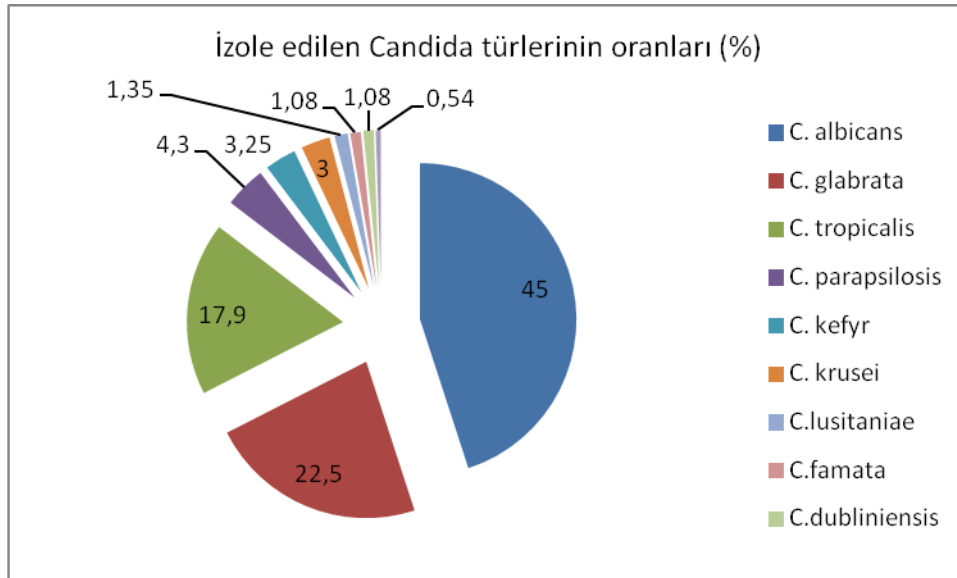
Şekil 2. *Candida* üreme oranlarının örnek alınan bölgelere göre dağılımı.



Kolonizan olarak izole edilen 369 *Candida* suşunun %45' i, *C. albicans*; %55'i ise sıklık sırasına göre *C.glabrata*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.kefyr*, *C.krusei*, *C.lusitaniae*, *C. famata*, *C.dublinskiensis* ve *C.inconspicua* türleri olmak üzere, albicans-dışı *Candida* olarak tanımlanmıştır (Şekil 2).

İzole edilen *Candida* suşlarının türlere göre dağılımı Şekil 3' de gösterilmiştir.

Şekil 3. İzole edilen *Candida* suşlarının türlere göre dağılımı (%).



Tüm *Candida* suşlarının %46.34' ü orofarengeal, %31.17' si rektal, %18.16' sı ise üriner ve % 3.52' si aksiller bölge örneklerinden izole edilmiştir. *Candida* türlerinin örnek alınan bölgelere göre üreme oranları Tablo 14' de gösterilmiştir.

Tablo 14. *Candida* türlerinin izole edildikleri bölgelere göre üreme oranları.

Tür		Orofarengeal	Rektal	Üriner	Aksiller	Toplam
<i>C. albicans</i>	n	84	47	28	5	166
	%	50,6	28,32	16,87	3,01	
<i>C. tropicalis</i>	n	28	17	17	3	66
	%	42,42	25,76	25,76	4,55	
<i>C. glabrata</i>	n	30	35	14	4	83
	%	36,14	42,17	16,87	4,82	
<i>C. parapsilosis</i>	n	5	3	7	1	16
	%	31,25	18,75	43,75	6,25	
<i>C. krusei</i>	n	8	3	0	0	11
	%	72,73	27,27	0	0	
<i>C. kefyr</i>	n	9	3	0	0	12
	%	75	25	0	0	
<i>C. famata</i>	n	1	2	1	0	4
	%	25	50	25	0	
<i>C. lusitanae</i>	n	3	2	0	0	5
	%	60	40	0	0	
<i>C. dubliniensis</i>	n	2	2	0	0	4
	%	50	50	0	0	
<i>C. inconspicua</i>	n	1	1	0	0	2
	%	50	50	0	0	
Toplam	n	171	115	67	13	369
	%	46,34	31,17	18,16	3,52	

4.8. ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARI

Sürveyans kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin CLSI tarafından yayımlanan M27-A3 rehberi standart alınarak uygulanan sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile yapılan antifungal duyarlılık testlerinin sonucunda, Amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için MİK aralıkları, MİK 50 ve MİK 90 değerlerinin dağılımları tablo 15' de gösterilmiştir.

Kolonize hastaların (n=69) %36,2'sinden (n=25), bütün hastaların (n=87) ise %28,7'sinden dört antifungalden bir veya birkaçına dirençli veya doza bağlı duyarlı *Candida* suşları izole edilmiştir. Kolonize hastaların %21,7'inin (n=15), bütün

hastaların ise %17,2'sinin flukonazole dirençli veya doza bağlı duyarlı türlerle kolonize olduğu saptanmıştır.

Tablo 15. *Candida* suşlarının amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için saptanan MİK50 ve MİK90 değerleri'nin türlere göre dağılımı.

<i>Candida</i> tür (n)	µg/ml	Amfoterisin B	Flukonazol	İtrakonazol	Vorikonazol
<i>C. albicans</i> (166)	MİK50	0,5	0,25	0.0313	0,0313
	MİK90	0,5	1	0,0625	0,0625
	Aralık	0,5-1	0,125-64	0.0313-0,5	0.0313-0,5
<i>C. glabrata</i> (83)	MİK50	0,5	2	0,0313	0,0313
	MİK90	1	4	0,125	0,0313
	Aralık	0,25-2	0,5-64	0.0313-1	0.0313-0,5
<i>C. tropicalis</i> (66)	MİK50	0,25	0,5	0,0313	0,0313
	MİK90	0,5	1	0,125	0,125
	Aralık	0.0313-1	0,125-4	0.0313-0,5	0.0313-0,5
<i>C.parapsilosis</i> (16)	MİK50	0,25	0,5	0,0625	0,0313
	MİK90	0,25	0,5	0,25	0,0313
	Aralık	0,25-1	0,125-4	0,0313-0,25	0,0313-0,0625
<i>C.krusei</i> (11)	MİK50	0,5	16	0,0625	0,0625
	MİK90	1	64	0,125	0,25
	Aralık	0,125-2	2-64	0,0313-0,25	0.0313-1
<i>C. kefyr</i> (12)	MİK50	0,5	0,5	0,0313	0,125
	MİK90	1	1	0,125	0,25
	Aralık	0,25-1	0,5-32	0,0313-0,25	0.0313-0,5
<i>C. lusitaniae</i> (5)	MİK50	1	0,5	0,125	0,0313
	MİK90	1	1	0,125	0,125
	Aralık	0,5-4	0,25-2	0,0313-0,125	0,0313-0,25
<i>C. dubliniensis</i> (4)	MİK50	0,5	0,5	0.0313	0,0313
	MİK90	0,5	1	0,0625	0,0625
	Aralık	0,25-0,5	0,5-1	0,0313-0,625	0,0313-0,625
<i>C. famata</i> (4)	MİK50	0,5	0,125	0,0313	0,0313
	MİK90	0,5	0,125	0,0313	0,125
	Aralık	0,125-0,5	0,125-0,125	0,0313-0,0625	0,0313-0,125

Antifungal duyarlılık testlerinin sonuçları, antifungaller için önerilen Tablo 5' de yer alan sınır değerlerine göre yorumlanmıştır (Tablo 16). Sonuç olarak toplam 369 *Candida* suşunun 354' ü (%95,9) amfoterisin B'ye, 330' u (%89,4) flukonazole, 331' i (%89,7) itrakonazole ve 362' si (%98) vorikonazole duyarlı; 20' si (%5,4) flukonazole,

31' i (%8,4) itrakonazole ve 5' i (%1,4) vorikonazole doza bağı duyarlı; 15' i (%4,1) amfoterisin B'ye, 19' u (%5,2) flukonazole, 7' si (%1,8) itrakonazole ve 2' si (%0,6) vorikonazole dirençli olarak saptanmıştır (Tablo 16).

Tablo 16. *Candida* suşlarının amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol duyarlılık oranları (µg/ml).

n (%)	Amfoterisin B	Flukonazol	İtrakonazol	Vorikonazol
Duyarlı	354 (%95,9)	330 (%89,4)	331 (%89,7)	362 (%98)
Doza bağı duyarlı		20 (%5,4)	31 (%8,4)	5 (%1.4)
Dirençli	15 (%4,1)	19 (%5,2)	7 (%1,8)	2 (%0.6)

Antifungal duyarlılık testlerinin sonuçlarının *Candida* türlerine göre dağılımı Tablo 17' de gösterilmiştir.

Buna göre *C.albicans* suşlarının 166' sı (%100) amfoterisin B' ye, 158' i (%95,2) flukonazole, 142' si (%92) itrakonazole ve 166' sı (%100) vorikonazole duyarlı; biri (%0.6) flukonazole, 5' i (%8) itrakonazole doza bağı duyarlı ve 7' si (%4,2) flukonazole dirençli olarak saptanmıştır.

C.glabrata suşlarının 76' sı (%92) amfoterisin B' ye, 66' sı (%80) flukonazole, 61' i (%74) itrakonazole, 76' sı (%92) vorikonazole duyarlı; 12' si (14) flukonazole, 15' i (%18) itrakonazole, 5' i (%6) vorikonazole doza bağı duyarlı; 7' si (%8) amfoterisin B' ye, 5' i (%6) flukonazole, 7' si (%8) itrakonazole ve 2' si (%2.4) vorikonazole dirençli olarak saptanmıştır. Flukonazole dirençli olan iki suş aynı zamanda vorikonazole de dirençli saptanmıştır.

C.tropicalis suşlarının 63' ü (%92,5) amfoterisin B' ye, 66' sı (%100) flukonazole, 66' sı (%100) vorikonazole ve 62' si (%94) itrakonazole duyarlı, 4' ü (%6) itrakonazole doza bağı duyarlı ve 3' ü (%7.5) amfoterisin B' ye dirençli olarak saptanmıştır.

C. parapsilosis suşların 16' sı (%100) amfoterisin B, 16' sı (%100) flukonazole 16' sı (%100) vorikonazole ve 15 (%94)' i itrakonazole duyarlı ve 1' i (%6) itrakonazole doza bağı duyarlı olarak saptanmıştır.

Tablo 17. *Candida* türlerinin amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazole karşı antifungal duyarlılık sonuçları.

Tür		Amfoterisin B		Flukonazol		İtrakonazol		Vorikonazol	
		n	%	n	%	n	%	n	%
<i>C. albicans</i>	D	166	0	158	95,2	142	92	166	100
	DBD	0	0	1	0,6	5	8	0	0
	Di	0	0	7	4,2	0	0	0	0
<i>C. glabrata</i>	D	76	92	66	80	61	74	76	91,6
	DBD	0	0	12	14	15	18	5	6
	Di	7	8	5	6	7	8	2	2,4
<i>C. tropicalis</i>	D	63	92,5	66	100	62	94	66	100
	DBD	0	0	0	0	4	6	0	0
	Di	3	7,5	0	0	0	0	0	0
<i>C.parapsilosis</i>	D	16	100	16	100	15	94	16	100
	DBD	0	0	0	0	1	6	0	0
	Di	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. krusei</i>	D	8	73	0	0	7	64	11	100
	DBD	0	0	7	64	4	36	0	0
	Di	3	27	4	36	0	0	0	0
<i>C. kefyr</i>	D	12	100	11	92	11	92	12	100
	DBD	0	0	0	0	1	8	0	0
	Di	0	0	1	8	0	0	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	D	3	60	5	100	5	100	5	100
	DBD	0	0	0	0	0	0	0	0
	Di	2	40	0	0	0	0	0	0
<i>C. famata</i>	D	4	100	4	100	4	100	4	100
	DBD	0	0	0	0	0	0	0	0
	Di	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C.inconspicua</i>	D	2	100	0	100	0	0	2	100
	DBD	0	0	0	0	2	100	0	0
	Di	0	0	2	100	0	0	0	0
<i>C.dublinsiensis</i>	D	4	100	4	100	4	100	4	100
	DBD	0	0	0	0	0	0	0	0
	Di	0	0	0	0	0	0	0	0

C.krusei suşlarının 8' i (%73) amfoterisin B'ye, 7' si (%64) itrakonazole ve 11' i (%100) vorikonazole duyarlı, 7' si (%64) flukonazole ve 4' ü (%36) itrakonazole doza bağlı duyarlı, 3' ü (%27) amfoterisin B'ye ve 4' ü (%36) flukonazole dirençli olarak saptanmıştır.

C.lusitaniae suşlarının 3' ü (%60) amfoterisin B' ye, 5' i (%100) flukonazol, 5' i (%100) itrakonazol ve 5' i (%100) vorikonazole duyarlı, 2 (%40)' si amfoterisin B' ye dirençli olarak saptanmıştır.

İzole edilen iki *C. inconspicua* suşu (%100) flukonazole dirençli ve çalışılan diğer antifungallere duyarlı; *C.dubliniensis* ve *C. famata* suşlarının tamamı ise bütün antifungallere duyarlı olarak bulunmuştur.

Amfoterisin B'ye direnç, toplam 369 *Candida* suşunun 15' inde (%4,6) saptanmıştır. Dirençli suşlardan 7' si *C. glabrata*, 3' ü *C.tropicalis*, 2' si *C. lusitaniae* ve 3' ü *C. krusei* türlerinden oluşmuştur. *C. albicans*'da amfoterisin B için MİK50 değeri 0.25 µg/ml, MİK90 değeri ise 0.5 µg/ml olarak saptanmıştır. Non-albicans türlerinde aynı antifungal için MİK50 / MİK90 değerleri; *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* için sırasıyla 0,5 / 1 µg/ml, 0,25 / 0,5 µg/ml, 0, 25 / 0,25 µg/ml ve 0,5 / 1 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Flukonazole direnç, toplam 369 *Candida* suşunun 20'inde (%5,4) saptanmıştır. Dirençli suşlardan 7' si *C. albicans*, 5' i *C. glabrata*, 4' ü *C. krusei*, 2' si *C. inconspicua* ve 1' i *C. kefyr* türlerinden oluşmuştur. *C. albicans* suşlarından biri doza bağlı duyarlı iken, bu oran *C. glabrata*'da 12, *C. krusei*'de ise 7 olarak bulunmuştur. Flukonazolün bunun gibi MİK50 / MİK90 değerleri; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* için sırasıyla 0,5 / 0,5 µg/ml, 2 / 4 µg/ml, 0,5 / 1 µg/ml, 0,5 / 0,5µg/ml ve 16 / 64 µg/ml olarak saptanmıştır.

İtrakonazole direnç, toplam 369 *Candida* suşunun 7'sinde (%2) bulunmuştur. Dirençli suşların 7 'si *C. glabrata*; doza bağlı duyarlı suşların ise 5' i *C. albicans*, 15' i *C. glabrata* ve 4' ü *C. krusei* olarak saptanmıştır. İtrakonazolün MİK50 / MİK90 değerleri *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* için sırasıyla 0.0313/0.0625, 0,313 / 0,125 µg/ml, 0,0313 / 0,125 µg/ml, 0,0625 / 0,125 µg/ml ve 0,0625 / 0,125 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Vorikonazole direnç, toplam 369 *Candida* suşunun sadece 2' sinde (%0,6) saptanmıştır. Dirençli suşların 2' si *C. glabrata*; doza bağlı duyarlı suşların ise 5' i *C. glabrata* olarak saptanmıştır. Vorikonazolün MİK50 / MİK90 değerleri; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* için sırasıyla, 0,0313/ 0,0625µg/ml, 0,0313/ 0,0313µg/ml, 0,0313/ 0,125 µg/ml, 0,0313/ 0,0313µg/ml ve 0,0625 / 0,25 µg/ml olarak saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Kritik hastalar özellikle invazif kandidiyazis gelişimi açısından yüksek risk altında bulunmaktadır ve kandidemi ataklarının %50' den fazlası cerrahi ve YBÜ hastalarında oluşmaktadır. İnvazif kandidiyazis ile ilişkili çok sayıda, spesifik olmayan risk faktörü bulunmaktadır. *Candida* ile kolonizasyon enfeksiyon için majör risk faktörüdür. Çoklu vücut bölgelerinden artan oranlarda *Candida* izolasyonunun Kİ ile değerlendirilmesinin invazif kandidiyazis gelişimini tahmin edebildiği gösterilmiştir (123).

Bu çalışmada, ilk haftada hastaların %73,6' sının *Candida* türleri ile kolonize ve %49,4' ünde Kİ değerinin $\geq 0,5$ olduğu belirlenmiştir. Daha sonraki sürveyans kültürleriyle yapılan takiplerle ise bu oranların sırasıyla %79,3' e ve %62' ye ulaştığı saptanmıştır. Çalışma süresince kolonize olan ve Kİ $\geq 0,5$ olan hastaların oranları ikinci, üçüncü ve dördüncü haftada sırasıyla %80,5, %91,3, %100 ve %63,4, %65,2, %69,2 olarak bulunmuştur. Hastalarda ilk haftada ortalama Kİ değeri 0,35, sürveyans kültürlerinin sonunda ise 0,75 olarak hesaplanmıştır. Bulgular, YBÜ'de yatış süresinin uzamasıyla doğru orantılı olarak hem *Candida* türleri ile kolonize hem de Kİ $\geq 0,5$ olan hastaların arttığını ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmayla uyumlu olarak, Caggiano ve ark. (124) YBÜ' ndeki 51 hastanın yatışta %70,6' sının *Candida* türleri ile kolonize olduğunu, bu oranın ilerleyici bir şekilde artarak %92' ye ulaştığını, ek olarak kolonize hastaların %16,6' sında Kİ değerinin $\geq 0,5$ olduğunu ve bu değerin de artarak %75' e ulaştığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışma süresince kolonizasyon oranlarını birinci haftada %85,7, ikinci haftada ise %92 olarak bulmuşlardır. Yine ortalama Kİ değerinin ise yatışta 0,34, sürveyans kültürleri sonunda ise 0,60 olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar hastalardaki kolonizasyon oranlarını ve ortalama Kİ değerlerini bu çalışmayla uyumlu bulmuşlardır.

Leon ve ark. (102) 36 YBÜ' nde 2006-2007 yılları arasında yaptıkları 1107 hastayı kapsayan bir çalışmada hastalarda *Candida* kolonizasyon oranının yatışın ikinci haftasında %66,3 olduğunu, sürveyans kültürleriyle yapılan takiplerde ise beşinci haftada bu oranın %75,3' e ulaştığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar Kİ değerini bildirmemişlerdir.

Charles ve ark. (125) cerrahi YBÜ' de yatan 92 hastada yaptıkları prospektif bir çalışmada, yatıştaki *Candida* kolonizasyon oranlarını %45,6 olarak bildirmişlerdir. Kİ değerlerinin anlamlı şekilde artarak (0,1/hafta) hastaların %39,1' inde 0,5 eşik değerine ulaştığını ve ortalama Kİ değerinin ise 0,26 olduğunu belirtmişlerdir.

Leon ve ark. (70) 73 YBÜ' nde 1998-1999 yılları arasında yaptıkları çok merkezli bir çalışmada hastaların %52,2' sinde *Candida* kolonizasyonu saptamışlardır. Araştırmacılar Kİ değerini bildirmemişlerdir

Pelz ve ark. (12) ile Magill ve ark.'nın (126) aynı hastaneye ait ayrı YBÜ' lerinde 1998 ve 2003 yıllarında yaptıkları iki ayrı çalışmada hastalarda saptanan genel kolonizasyon oranlarını %65 ve %54 olarak bildirmişlerdir. Adı geçen çalışmalardaki kolonizasyon oranlarının bu çalışmaya göre daha düşük olmasının antifungal profilaksi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, Magill ve ark. (126) kendi araştırmalarını Pelz ve ark.'nın (12) çalışmasıyla kıyaslayarak, YBÜ'lerinde 1998 yılında flukonazol profilaksisinin başlanmış olmasına rağmen bu iki çalışmada kolonize olan hasta oranları arasında anlamlı fark olmadığını vurgulamışlardır.

Bu çalışmada olduğu gibi, YBÜ' nde yapılan diğer araştırmalarda da, *Candida* kolonizasyon oranları ve kolonizasyon indeksi değerlerinin farklılık gösterdiği ancak yatış süresi arttıkça bu değerlerin yükseldiği, bu oranların çalışmaların yürütüldüğü merkez ile katılan hasta sayı ve özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği görülmektedir (12, 102, 124, 126).

Çalışmalarda kolonizasyonun invazif kandidiyazisi önceden tahmin edebildiği ve kandidemi riskinin, kolonizasyonun yoğunluğu ve süresinin uzaması ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (4, 76).

Pittet ve arkadaşları (4) tarafından geliştirilen Kİ, kritik hastalarda kolonizasyonun enfeksiyona yol açma riskini tahmin etmede yararlı bulunmuştur. Araştırmacılar Kİ eşik değeri olarak 0.5 alındığında, bu oranın 0.5 veya daha yüksek olmasının enfeksiyon ihtimali olan hastayı daha doğru olarak saptadığını ve invazif kandidiyazis gelişen tüm hastaların enfeksiyon öncesi bu eşik değere ulaştığını bildirmişlerdir. Buna ek olarak, kolonizasyon derecesi ve altta yatan hastalığın ciddiyetinin, invazif kandidiyazis oluşumunu bağımsız olarak tahmin ettiği bulunmuştur. Araştırmacılar ortalama Kİ' ni; kolonize hastalarda 0,47, enfekte hastalarda ise 0,7 olarak ölçmüşlerdir. Yine araştırmacılar bu değer in enfekte hastaların

tamamında invazif kandidiyazis tanısından 6 gün önce 0.5 eşik değerine ulaştığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, hastaların 8' inde (%9,2) infeksiyon gelişmiştir. İnfeksiyon gelişen hastaların tamamının *Candida* ile kolonize ve Kİ ≥ 0.5 olduğu saptanmıştır. Kİ'nin infeksiyon açısından yüksek riskli hastaların ayırt etmedeki PPD, NPD, duyarlılığı ve özgüllüğü ise sırasıyla %18,1, %100, %100 ve %45,6 olarak hesaplanmıştır. Bu veriler değerlendirildiğinde, *Candida* kolonizasyonun invazif kandidiyazisin öncüsü olduğu ve infeksiyon riskinin Kİ ≥ 0.5 bulunması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Charles ve ark (125), Kİ 0,5 değerinin YBÜ' nde infeksiyon gelişimi açısından yüksek riskli hastaları ayırd etmedeki duyarlılık ve özgüllüğünü bu çalışmaya benzer şekilde %100 ve %67 olarak bulmuşlardır.

Massou ve ark. (127) ise YBÜ hastalarının %53' ünde genel Kİ değerinin ≥ 0.5 olduğunu ve farklı olarak bunlardan ancak %15' inde infeksiyon geliştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar Kİ değerinin ≥ 0.5 olmasının infeksiyonu tahmin etmedeki PPD, NPD, duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %26, %98 %93 ve %48 olarak belirtmişlerdir.

Leon ve ark. (70, 102) iki farklı çalışmada olmak üzere, YBÜ' de yatan hastalarda infeksiyon gelişme oranını %5,2 ve %5,5 olarak bildirmişlerdir.

Bazı araştırmacılar kolonizasyon yoğunluğunu, Kİ değeri yerine multifokal/unifokal kolonizasyon oranlarını saptayarak değerlendirmişlerdir.

Leon ve ark. (101) bir çalışmada hastaların unifokal kolonizasyon oranını %43,9 ve multifokal kolonizasyon oranını ise %56 olarak saptamışlardır.

Leon C ve ark. (102) yine diğer bir çalışmada YBÜ' de yatan hastalarda multifokal kolonizasyonu ise %57 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar *Candida* türleriyle multifokal kolonizasyonun invazif kandidiyazis gelişen hastalarda daha yüksek oranda bulunduğunu ve bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada hastaların 14' ünde (%18,7) unifokal, 43' ünde (%57,3) multifokal kolonizasyon saptanmıştır. Yine infeksiyon gelişen tüm hastaların multifokal kolonize olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir.

YBÜ' nde kolonizasyonu ve/veya invazif mantar infeksiyonlarını araştıran prospektif sürveyans çalışmalarında, hastaların mikrobiyolojik açıdan takibi için farklı örnekler kullanılmaktadır (70). *Candida* kolonizasyonunun klinik öneminin vücut bölgelerine göre farklı olabildiği gösterilmiştir. Farklı anatomik bölgelerin *Candida* ile kolonizasyonunun invazif kandidiyazis gelişim riski üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalar az sayıdadır (70, 128).

Magill ve ark. (128) cerrahi YBÜ' nde yatan hastalarda kolonize olan anatomik bölgenin invazif kandidiyazis gelişimi ve hastane genelinde veya YB ' ndeki hastalarda mortalite artışı ile ilişkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar Cerrahi YBÜ' nde yatan üriner sistem veya solunum yolu ile birlikte rektumda *Candida* kolonizasyonu olan hastalarda invazif kandidiyazis gelişme olasılığını bu şekilde kolonize olmayan hastalara göre daha yüksek bulmuşlardır. Yine aynı hastalarda orofarengeal ve gastrik kolonizasyonun ise invazif kandidiyazis gelişimini öngörme etkisinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, araştırmacılar sürveyans kültürü yapılan anatomik bölgelerin herhangi birinde *Candida* kolonizasyonu saptanmasının invazif kandidiyazis gelişimi için düşük bir PPD taşıdığını bildirmişlerdir. Makalede yine rektum veya üriner sistem ile birlikte solunum yolu kültürleri negatif olan hastalarda ise invazif kandidiyazis gelişmediği bildirilmiştir.

Bu  alışmada Magill ve ark.' nın (128) bulgularıyla benzer olarak, üriner sistem, orofarengeal ve rektal kolonizasyonun invazif kandidiyazis gelişimi açısından düşük bir PPD' e sahip olduğu (sırasıyla %33, %12, %13,7), NPD değerlerinin ise yüksek olduğu (sırasıyla %100, %100, %97,2) saptanmıştır. Bu sonuç, bu bölgelerdeki kolonizasyon yokluğunda büyük ihtimalle infeksiyon geliştirmeyeceğini göstermektedir.

Magill ve ark. (128) adı geçen beş vücut bölgesindeki *Candida* kolonizasyonunun invazif kandidiyazis gelişimi için PPD' nin düşük bulunması nedeniyle, kolonizasyon varlığını profilaktik veya preemptif tedavi için yol gösterici olarak kullanılmasını önermemektedirler. Bununla birlikte, genel kolonizasyon yokluğunun yüksek bir NPD' e sahip olması nedeniyle, sürveyans kültürlerinin yalnızca profilaktik antifungal tedaviden fayda görmeyecek hastaların tanımlanması ile sınırlandırılabilenini  ne sürmüşlerdir.

İnvazif *Candida* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar arasında YBÜ’ de yatan hastalarda sürveyans kültürlerinden izole edilen kolonizan *Candida* türlerinin dağılımını gösteren az sayıda çalışma bulunmaktadır (70,124,127).

Bu çalışmada takip edilen hastalarda en sık *C. albicans* (%60,9) kolonizasyonu saptamışlar ve bunu sırasıyla *C. glabrata* (%33,3), *C. tropicalis* (%23), *C. krusei* (%8) ve *C. parapsilosis* (%6,6) takip etmiştir. Az sayıda saptanan diğer türlerin ise hastaların %14,9’ unda kolonizasyona neden olduğu gösterilmiştir.

Magill SS ve ark (128) cerrahi YBÜ’ de yatan hastalarda kolonize olan türlerin dağılımını gösteren biri 1998 yılına ait 247 hastanın dahil edildiği, diğeri ise 235 hastayı kapsayan 2003 tarihli bir araştırma olan iki ayrı çalışmadan elde edilen sonuçları karşılaştırmışlardır. Bu iki çalışmada incelenen hastalarda sırasıyla, *C. albicans* (%50 ve %37), *C. glabrata* (%31 ve %23), *C. tropicalis* (%11 ve %4,2), *C. parapsilosis* (%5,3 ve %4,2) ve *C. krusei* (%0,81 ve %2,1) ile kolonizasyon saptanmıştır. Araştırmacılar her iki çalışmanın bulguları arasında anlamlı bir fark bulunmadığını bildirmekle birlikte, *C. albicans* kolonizasyonunun 2003 kohort grubunda, 1998 yılına ait araştırma grubundan biraz daha düşük olarak saptandığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada kolonize *Candida* türlerinin dağılımı ve oranları açısından her iki araştırma ile de benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte, bu çalışmada *C. tropicalis* ve *C. krusei* oranlarının daha yüksek olduğu görülmektedir.

İzole edilen *Candida* türlerinin dağılımındaki farklılığın, antifungal tedavi yaklaşımları başta olmak üzere çalışmanın hangi YBÜ’ nde yatan hastalarda yapılmış olması, alta yatan hastalıkların ve risk faktörlerinin farklılığından ve lokal infeksiyon kontrol önlemlerinden kaynaklanabilmektedir.

Magill SS ve ark (126) antifungal ilaç kullanımının 2003 kohort grubunda %44 , 1998 araştırma grubunda ise %51 olduğunu bildirmişlerdir.

C. albicans invazif kandidiyazis olgularının üçte ikisinde etken olan en sık tür olarak bildirilmektedir. Çalışmalar bazı antifungal ilaçların artmış şekilde kullanılmasının kandidemi sıklığının ve flukonazole karşı azalmış duyarlılığa sahip *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis* gibi albicans-dışı türlerinin artışı arasında bir ilişki olduğunu bildirmektedir (54, 123).

Bu çalışmada %27,5 oranında antifungal kullanılmıştır. Antifungal tedavi alan ve almayan hastalarda kolonize olan *Candida* türleri sırasıyla, *C. albicans* 13 (%56,5) ve 27 (%62,5), *C. glabrata* 9 (%39,1) ve 20 (%31,3), *C. tropicalis* 6 (%26,1) ve 14 (%21,9), *C. krusei* 3 (%13) ve 4 (%6,3), *C. parapsilosis* 3 (%13) ve 3 (%4,7) olarak saptanmıştır. Antifungal tedavi alan ve almayan hastalar kıyaslandığında, antifungal tedavi verilen hastalarda *C. parapsilosis*, *C. krusei* ve *C. glabrata* kolonizasyonunda artış saptanmış olmakla birlikte, kolonize olan *Candida* türleri açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Magill SS ve ark (126) 1998 ve 2003 yıllarında yapılan iki çalışmada flukonazol ile tedavi edilen hastaları kolonizasyona yol açan *Candida* türleri açısından karşılaştırmışlardır. Bu iki gruptaki hastalarda sırasıyla, *C. albicans* %55 ve %46, *C. glabrata* %28 ve %29, *C. tropicalis* %11 ve %7,8, *C. parapsilosis* ile %6,6 ve %6,8, *C. krusei* ise %0 ve %5 oranında kolonizasyona neden olmuştur. Araştırmacılar flukonazol kullanımı ile *C. glabrata* kolonizasyonu arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Yine araştırmacılar flukonazol ile tedavi edilen hastalarda 2003 yılındaki çalışmada *C. krusei* izolasyonunun 1998' e göre daha yüksek olduğunu bulmakla birlikte, bu türün elde edildiği hasta sayılarının az olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapamadıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada flukonazol kullanımı ile *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis* kolonizasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Yine bu çalışmada hastaların 29 (%33,3)' unda bir ve 40 (%46)' ında ise birden fazla *Candida* türü ile kolonizasyon olduğu belirlenmiştir. Kolonize olan türlerin ise hastaların 19' unda (%21,8) tek başına *C. albicans*, 16' sında (%18,4) ise albicans-dışı *Candida* türlerinin olduğu, 34' ünde (%39,1) ise her iki grubun birlikte bulunduğu saptanmıştır. Bu çalışmada antifungal alan ve almayan hastalarda birden fazla *Candida* türü ile kolonizasyon sırasıyla %56,5 ve %42,2 olarak bulunmuştur. Antifungal tedavi alan hastalarda birden fazla *Candida* türü ile kolonizasyon oranının artmasıyla birlikte, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Magill SS ve ark. (126) cerrahi YBÜ' de yatan hastalarda kolonize olan *Candida* türlerinin dağılımını gösteren 1998 yılına ait 247 hastanın dahil edildiği ve 2003 tarihli 235 hastayı kapsayan bir araştırma olan iki ayrı çalışmadan elde edilen sonuçları karşılaştırmışlardır. İki çalışmada sırasıyla hastaların %28 ve %15' inde, flukonazol

kullanan hastaların ise yine sırasıyla %28 ve %21’ inde birden fazla *Candida* türü ile kolonizasyon olduğunu bildirilmektedir. Araştırmacılar bu çalışmayla benzer olarak, 2003 yılına ait hastalarda bir artış saptamakla birlikte, her iki yıldaki araştırmada da izole edilen *Candida* türlerinin sayısıyla flukonazol kullanımı arasında bir ilişki saptamamışlardır.

Kolonizasyona yol açan ve dolayısıyla invazif kandidiyazis etyolojisinde yer alabilen *Candida* suşlarının tür düzeyinde identifikasyonu profilaksinin ve infeksiyonların tedavisinin optimizasyonunu sağlamaktadır (17).

Bu çalışmada hastalardan dört anatomik bölgeden (orofarenks, rektum, üriner ve aksiller bölge) 716 sürveyans kültürü yapılmış olup, 289’ unda (%40.4) üreme saptanmıştır. Bu kültürlerden üretilen toplam 369 suşdan en sık izole edilen üç türün sırasıyla *C. albicans* (%45), *C. glabrata* (%22,5) ve *C. tropicalis* (%17,9) olduğu bulunmuştur. *Candida* türlerinin en sık izole edildikleri bölgelerin ise *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* için orofarenks (sırasıyla %50,6, %42,4, %72,5), *C. glabrata* için rektum (%42,1) ve *C. parapsilosis* için üriner sistem (%43,7) olduğu saptanmıştır.

YBÜ’ de yatan 1655 hastanın incelendiği bir çalışmada bronşiyal ve gastrik aspirat, idrar, orofarengeal ve rektal sürüntü örneklerinden yapılan toplam 13.849 sürveyans kültürünün 3956 (%27,6)’ sında üreme bulunmuştur. Araştırmada sürveyans kültürlerinde üreyen toplam 3886 suş arasında en sık *C. albicans* (%72.1), *C. glabrata* (%9.1) ve *C. tropicalis* (%4,2) izole edilmiştir. *Candida* türlerinin en sık izole edildikleri bölgeler *C. albicans* için orofarenks (%74), *C. glabrata* için rektum (%10,2), *C. tropicalis* için üriner sistem (%6,2), *C. krusei* için mide (%2,9) ve orofarenks (%2,8) ve *C. parapsilosis* için orofarenks (%2,2) olduğu saptanmıştır (70).

Yukarıdaki araştırmanın verileri bu çalışmadaki bulgular ile karşılaştırıldığında, en sık izole edilen ilk üç *Candida* türünün dağılımları aynı olmakla beraber, *C. albicans* oranının daha yüksek, albicans-dışı *Candida* türleri olan *C. glabrata* ve *C. tropicalis* oranının ise daha düşük olduğu görülmektedir. Bu farkların, oranların örnek alınan bölgelere göre değişkenlik göstermesinden veya hastalar ve kültür yapılan örnek sayıları arasında bulunan farktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Buna ek olarak, hastaların antifungal ilaç kullanımının da izole edilen *Candida* türlerinin oranlarını etkileyebileceği bilinmektedir.

Bu çalışmada kolonizasyon saptanan hastalarda hematolojik malignite, solid organ malignitesi ve transplantasyon gibi immunsupresyonla ilişkili faktörlerin oranları, sırasıyla %14.9, %20.7, %5.7 iken, Leon ve ark.'nın (70) yaptıkları çalışmada yine sırasıyla %1.3, %9.4, %0.2 olacak şekilde daha düşük bulunmuştur. Bu hastalarda immunsupresyona yol açabilen altta yatan nedenler YBÜ dışında izlendikleri yerlerde de antifungal ilaçlarla karşılaşma olasılıklarını arttırmakta, ayrıca kemoterapi veya radyoterapi uygulamalarının da *C. albicans* veya albicans-dışı *Candida* türlerinin oranlarını etkileyebileceği bilinmektedir. Bu çalışmada adı geçen faktörlerin oranının Leon ve ark.'larının (70) incelediği hasta grubuna göre daha yüksek olması albicans-dışı *Candida* oranının Leon ve ark.'ninkine (70) kıyasla yüksek bulunmasını açıklayan nedenlerin arasında yer aldığı düşünülmektedir.

Ergon ve ark. (129) YBÜ'nde yatan 360 hastanın 462 örneğinden (idrar, kan, trakeal aspirat) izole edilen 490 suşun %53,3'ünü *C. albicans*, %14.5'ini *C. tropicalis*, %12.2'sini *C. glabrata*, %6.5'ini *C. parapsilosis*, %3.9'unu *C. kefyr*, %1.6'sını *C. krusei* ve %2.1'ini diğer *Candida* türleri olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar tür dağılımlarının 2001-2005 yılları arasında dört periyotta incelendiğinde, birinci ve ikinci periyotta *C. albicans*'dan sonraki en sık tür olarak *C. glabrata*'nın (sırasıyla %14,8 ve 15,5), üçüncü ve dördüncü periyotta ise *C. tropicalis*'in (yine sırasıyla %12,5 ve %10) oranında bulunduğu bildirmişlerdir.

Küçükateş ve ark. (130) YBÜ'nde yatan 97 hastadan çeşitli örneklerden (endotrakeal aspirasyon, idrar, balgam, kan, boğaz sürüntüsü) izole edilen 113 *Candida* suşunun 85'ini (%72.6) *C. albicans*, 19'unu (%16.2) *C. tropicalis* olduğunu, diğer türlerin ise 3'er (%2,6) olmak üzere, *C. kefyr*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis* olarak tanımlandığını bildirmişlerdir.

Bu çalışma ile Türkiye'de YBÜ'lerinde yapılan adı geçen iki çalışma karşılaştırıldığında bu çalışmada *C. albicans* oranlarının daha düşük albicans-dışı *Candida* türlerinin ise daha yüksek olduğu görülmektedir. Ek olarak, bu çalışmada en sık tür olarak izole edilen *C. glabrata*'nın Küçükateş ve ark.'nın (130) çalışmasında hiç izole edilmediği göze çarpmaktadır.

Çoğunlukla azol grubu antifungallerle yapılan profilaksinin *C. glabrata* ve *C. krusei* gibi dirençli olabilen albicans-dışı *Candida* türleriyle oluşan kandidemilerin

gelişimiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (3, 131). Ekinokandin kullanılan hastalarda ise *C. parapsilosis* ile oluşan kateter ilişkili kandidemiler arttığı gösterilmiştir (80).

Bu bulgularla zıt olarak, başka bir çalışmada, YBÜ’de yatan hastalarda flukonazol profilaksisi başlanmasından sonra 3 yıl boyunca saptanan invazif kandidiyazis oranlarında azalma olduğu ve buna *C. glabrata* oranında bir artışın eşlik etmediği gösterilmiştir (127). Uzun dönem profilaksi ve tedavideki flukonazol maruziyet süresinin uzunluğundaki farklılıklara bağlı olabilmesi muhtemel olduğu düşünülen bu zıt bulgunun, kanser hastalarında daha sık görüldüğü bildirilmiştir (54).

Kritik hastalarda, santral venöz kateter varlığı, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, *Candida* türleri ile kolonizasyon, kullanılan antimikrobiyal ilaç sayısı ve antimikrobiyal tedavi süresi, önceden yapılan cerrahi girişimler, damar içi kateterlerin kullanılması, parenteral beslenme, mekanik ventilasyon, YBÜ’ de yatış süresi, hemodiyaliz ve hastalığın ağırlık düzeyi gibi risk faktörlerinin invazif kandidiyazis ile ilişkisini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır (1, 4, 10, 76, 99, 125, 132). YBÜ’ nde yatan hastalarda peritonit, akut pankreatit, nötropeni veya kanser hastaları gibi belli predispozan faktörlerin invazif mantar infeksiyon geliştirme riskini arttırdığı bildirilmiştir (10).

Bu çalışmada, YBÜ’ nde yatan ve tedavi gören hastaların risk faktörleri, *Candida* kolonizasyonu ve infeksiyon gelişimi açısından değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede, *Candida* kolonizasyonunun mekanik ventilasyon yapılan, en az üç antibiyotik kullanan ve solid organ malignitesi olan hastalarda; *Candida* infeksiyonunun ise trakeostomili, vankomisin tedavisi yapılan ve yine çoklu antibiyotik kullanan hastalarda anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Ancak, hastalardaki diğer risk faktörleri ile *Candida* kolonizasyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bunun nedenlerinden birinin infeksiyonun veya risk faktörlerinin az sayıda saptanmış olabileceği düşünülmektedir.

Birçok çalışmada dissemine kandidiyazisin yatış süresi uzayan ağır hastalarda daha sık olduğu gösterilmiştir. Kandidemiye yol açan risk faktörleri arasında en sık *Candida* kolonizasyonu, antibiyotik kullanımı, böbrek yetmezliği, santral venöz kateter varlığı ve total parenteral beslenmenin saptandığı bildirilmiştir (4, 76, 132). Blumberg ve ark. (132) YBÜ’ ndeki hastalarda kandidemi için belirlenen risk faktörlerinin santral

venöz kateter, total parenteral beslenme ve akut-kronik böbrek yetmezliği olduğunu saptamışlardır.

Massou ve ark. (127) ise kortikosteroid tedavisi ve yoğun kolonizasyonun ($KI \geq 0,5$) artmış sistemik kandidiyazis riski ile ilişkili olduğunu saptamışlardır.

Ülkemizdeki çalışmalardan Keskin ve ark. (133) 36'sı (%42.7) anestezi yoğun bakımda, diğerleri ise başka kliniklerde yatan 82 kandidemi olgusunu inceleyerek, hastaların hepsinde antibiyotik kullanımı, %82.9'unda santral, %74.4'ünde üriner kateter varlığı, %67'sinde eşlik eden hastalık varlığı, %64.6'sında total parenteral beslenme, %64.6'sında operasyon, %64.6'sında kan transfüzyonu, %58.5' inde mekanik ventilatör kullanımı ve %29.3'ünde invazif girişim öyküsü saptamışlardır. Aynı çalışmada yaş, APACHE II skoru, ameliyat tipi, üriner kateter, mekanik ventilatör kullanımı, total parenteral beslenme, sepsis gibi risk faktörleri ile mortalite arasında anlamlı bir ilişki göstermişlerdir.

Wey ve ark. (76), kandidemi gelişen hastalarla yaptıkları çalışmada, en önemli risk faktörünün çoklu antibiyotik kullanımı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar üçten fazla antibiyotik alanlarda kandidemi riskinin, hiç antibiyotik almayan veya en fazla iki antibiyotik alanlara göre 12.5 kat daha yüksek olduğu saptamışlardır. Bununla birlikte, *Candida* kolonizasyonu, hemodiyaliz, "Hickmann" kateteri varlığı, parenteral beslenme, malignite, nötropeni, immünsüpresif tedavi, üretral kateterler, diyare ve özellikle komplike cerrahi girişimler kandidemi riskini artıran diğer faktörler olarak gösterilmiştir.

Antianaerobik etkinliğe sahip antimikrobiyallerin (metronidazol, klindamisin, piperasilin-tazobaktam, seftriakson, ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulanik asit, vankomisin ve karbapenemler) normal florayı baskılayarak *Candida* türlerinin aşırı çoğalmasına yol açtığı düşünülmektedir (134). Birçok çalışmada antibiyotik kullanımı ve kandidemi veya kolonizasyon arasındaki ilişki araştırılmakla birlikte, antibiyotiklerin antimikrobiyal spektrumu ve kullanım süresi ile kandidemi arasındaki ilişki hakkındaki bilgiler oldukça azdır (134).

Bu çalışmada incelenen hastalar yüksek oranda GSA ile tedavi edilmiştir. Bu nedenle antibiyotik kullanan ve kullanmayan gruplar arasında *Candida* enfeksiyonu ve kolonizasyonu açısından bir fark bulunmaması beklenebilir bir sonuçtur. Ancak hastalar kullanılan antibiyotik sayıları açısından incelendiğinde en az üç antibiyotik kullanan

hastaların tamamının *Candida* ile kolonize olduğu ve kullanılan antibiyotik sayısının artışı ile kolonizasyon ve infeksiyon arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu saptanmıştır.

Acar ve ark. (135) YBÜ' nde en az üç antibiyotik kullanan hastalarda bir antibiyotik kullananlara göre beş kat, iki antibiyotik kullananlara göre ise dört kat daha fazla infeksiyon oluştuğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmadaki sonuçlarla uyumlu olarak, en az üç antibiyotik kullanımının *Candida* kolonizasyonu ve infeksiyonu için potansiyel risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada antibiyotik olarak, en sık vankomisin ve piperasilin-tazobaktam kullanılmıştır. *Candida* infeksiyonu gelişen 8 hastanın; 5' inin (%62,5) vankomisin tedavisi aldığı, 3' ünün de (37,5) vankomisin tedavisi almadığı saptanmış ve bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Ancak bu bulguların diğer risk faktörleriyle birlikte hasta sayısının yeterli olduğu YBÜ popülasyonlarında çok merkezli ve uzun süreli çalışmalarla karşılaştırılarak değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Uygun antifungal tedavinin hızla başlanması invazif kandidiyazisin kontrolü için esastır ve infeksiyon ile ilişkili morbidite ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (123). Ancak erken antifungal tedavinin uygun olmayan ve nonselektif bir şekilde uygulanmasının maliyet artışına, ilaç direncinin ortaya çıkışına ve buna paralel olarak tedavi başarısızlığıyla sonuçlanabileceği bildirilmiştir (16). *Candida* suşlarında saptanan intrensek ve kazanılmış azol direncinin ampirik tedavi ve profilaktik stratejiler için büyük sorun oluşturduğu bilinmektedir (10). En uygun antifungal ilaçların optimal seçimi için antifungal direnç konusunda lokal epidemiyolojik verilerin belirlenmesinin ve rutin *Candida* duyarlılık testlerinin yapılmasının önemi vurgulanmaktadır (54, 123).

Bu çalışmada toplam 369 *Candida* suşunun 354' ü (%95,9) amfoterisin B'ye, 330' u (%89,4) flukonazole, 331' i (%89,7) itrakonazole ve 362' si (%98) vorikonazole duyarlı; 20' si (%5,4) flukonazole, 31' i (%8,4) itrakonazole ve 5' i (%1,4) vorikonazole doza bağlı duyarlı; 15' i (%4,1) amfoterisin B'ye, 19' u (%5,2) flukonazole, 7' si (%1,8) itrakonazole ve 2' si (%0,6) vorikonazole dirençli olarak saptanmıştır. Hastalarda infeksiyon etkeni olarak tanımlanan ve duyarlılığı çalışılabilen üç *Candida* suşunun tamamı denenen tüm antifungallere duyarlı olarak bulunmuştur. İstanbul Tıp Fakültesi geçmişte YBÜ' ndeki hastalarda kolonizasyona yol açan *Candida* suşlarına rutin tanımlama ve duyarlılık testlerinin uygulanmamış olması nedeniyle türlerin sıklıkları ve antifungal ilaç duyarlılıklarındaki değişim ile ilgili karşılaştırma yapılamamıştır. YBÜ'

nde yatan hastalarda kolonize olan *Candida* suşlarının antifungal duyarlılıklarını değerlendiren çalışmaların az sayıda olması nedeniyle, bu çalışmada süveyans kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarının antifungal duyarlılık sonuçları daha çok YBÜ' nde invazif kandidiyazis olgularından izole edilen *Candida* suşlarının antifungal duyarlılıklarıyla karşılaştırılmıştır.

Marriott ve ark. (136) YBÜ' de yatan kandidemi olgularından izole edilen 174 *Candida* izolatının tamamının amfoterisin B'ye, 136' sinin (%78) flukonazole, 115' inin (%66) itrakonazole, 172' sinin (%99) vorikonazole duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar *C.glabrata* suşlarının ikisinin (%6) flukonazole duyarlı, 23' ünün (%72) doza bağlı duyarlı ve 7' sinin (%22) dirençli olduğunu ve flukonazol dirençli izolatın ikisinin aynı zamanda vorikonazole de dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada 369 *Candida* suşunun 354' ü (%95,9) amfoterisin B'ye, 330' u (%89,4) flukonazole, 331' i (%89,7) itrakonazole ve 362' si (%98) vorikonazole duyarlı olarak bulunmuştur. *C.glabrata* suşlarının ise 12' si (%14) flukonazole doza bağlı duyarlı; 5' i (%6) ise flukonazole dirençli bulunmuştur. Flukonazole dirençli izolatların üçü aynı zamanda itrakonazole de dirençli olarak saptanmıştır. Flukonazole dirençli diğer suşlardan 7' si (%4,2), *C. albicans*, 5' i (%6) *C. glabrata*, 4' ü (%36) *C. krusei*, 2' si (%100) *C. inconspicua* ve biri (%8) *C. kefyr* türlerinden oluşmuştur. *C. albicans* suşlarından biri (%0,6) flukonazole doza bağlı duyarlı iken, bu oran *C. glabrata*'da 12 (%14), *C. krusei*'de ise 7 (%64) olarak bulunmuştur. Yine *C.albicans*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis* izolatlarında vorikonazol direnci bulunmamıştır.

Marriott ve ark.' nın (136) araştırmaları ile karşılaştırıldığında bu çalışmada *Candida* suşlarında düşük de olsa (%4,1) amfoterisin B direnci görüldüğü, flukonazol ve itrakonazol direncinin ise daha düşük bulunduğu görülmektedir. Her iki araştırmada da suşların tamamına yakını vorikonazole duyarlı olarak saptanmıştır. *C. glabrata* suşlarının flukonazol duyarlılıkları karşılaştırıldığında ise Marriott ve ark.'nın (136) araştırmalarında doza bağlı duyarlı suşların oranının bu çalışmaya göre yüksek olduğu saptanmıştır. Bu bulgunun ve Marriott ve ark.' nın (136) izole ettikleri *Candida* suşlarında flukonazol ve itrakonazol direncinin yüksek olmasının nedenlerinden birinin araştırmacıların inceledikleri hasta grubunun bu çalışmaya kıyasla (%27,5) çok daha yüksek oranda (%87,5) antifungal tedavi uygulanmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Leroy O ve ark. (10) 180 YBÜ' nin katıldığı bir çalışmada 271 invazif kandidiyazis olgusundan izole edilen 210 *Candida* izolatının 36' sının (%17,1) flukonazole dirençli veya doza bağlı duyarlı olduğunu saptamışlardır. Araştırmada *C. albicans* %4,4 (113/5), *C. glabrata* %50 (38/19), *C. parapsilosis* %10,5 (19/2), *C. krusei* %83,3 (6/5), *C. tropicalis* %14,3 (14/2) ve diğer *Candida* türlerinde %27,3 (11/3) oranında flukonazole dirençli olarak saptanmıştır. Araştırmacılar *C. kefir* suşlarının hiçbirinde flukonazol direnci saptamamışlardır. Leroy O ve ark. flukonazole dirençli veya doza bağlı duyarlı izolatların oranlarının daha önce azollerle tedavi edilen hastalarda, tedavi edilmeyenlere göre daha yüksek olma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada Leroy O ve ark.' nın (10) araştırmalarına göre flukonazole direnç oranları *C. albicans*' da benzer, ancak *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* türlerinde daha düşük olarak belirlenmiştir. Ek olarak, bu çalışmada izole edilen *C. kefir* suşları arasında %8 oranında flukonazol direnci bulunmuştur. Yine Leroy ve ark.' nın sonucundan farklı olarak, bu çalışmada azol tedavisi ile flukonazol dirençli veya doza bağlı duyarlı suşların izolasyonu arasında bir ilişki gösterilememiştir.

Magill SS ve ark. (126) cerrahi YBÜ' de yatan kolonize 116 hastanın kültürlerinden izole edilen en az bir *Candida* suşunda flukonazol için MİK değerlerini saptayarak, kolonize hastaların %28' inin (32/116), bütün hastaların ise %14' ünün (32/224) flukonazole doza bağlı duyarlı veya dirençli türlerle kolonize olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu türlerin *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. lusitaniae* olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada kolonize hastaların 15' inin (%21,7), bütün hastalarda ise yine 15' inin (%17,2) flukonazole dirençli / doza bağlı duyarlı türlerle kolonize olduğu saptanmıştır.

Türkiye' de yapılan bir çalışmada, Küçükateş ve ark.(130) YBÜ' nde yatan 97 hastanın, endotrakeal aspirasyon, idrar, balgam, kan, boğaz sürüntüsü olmak üzere çeşitli örneklerinden kolonizan veya infeksiyon etkeni olarak izole edilen tüm *Candida* suşlarının %95,7' sini flukonazole, tamamını ise amfoterisin B' ye duyarlı olarak saptamışlardır. Araştırmacılar *C. albicans* ve *C. tropicalis* türlerinin flukonazol ve amfoterisin B için MİK50/90 değerlerinin sırasıyla 0,25/0.75 µg/ml; 0,5/1 µg/ml ve 0,064/0.19 µg/ml, 0,125/0.38 µg/ml olduğu bildirilmişlerdir. Araştırmacılar az sayıda

saptanan türlerin flukonazol için MİK değerlerini sırasıyla üç *C. parapsilosis* suşunda 1µg/ml, üç *C. krusei* suşunda 32µg/ml, 128µg/ml ve 128 µg/ml, üç *C. kefyr* suşunda 0,5µg/ml, 0,5µg/ml ve 1µg/ml ; Amfoterisin B için ise, üç *C. parapsilosis* suşunda <0,0312µg/ml, üç *C. krusei* suşunda 0,125µg/ml, 0,25µg/ml ve 0,5µg/ml, üç *C. kefyr* suşunda ise 0,125µg/ml, 0,125µg/m ve 0,25µg/ml olarak bulmuşlardır

Cömert ve ark. (137) YBÜ’ de yatan 320 hastadan çoğunluğu idrar ve solunum yolu örnekleri olmak üzere alınan çeşitli örneklerden kolonizan veya infeksiyon etkeni olarak izole edilen 270 *Candida* suşunun %92,9’ unun, *C. albicans* suşlarının ise tamamının flukonazole duyarlı olduğu bildirilmişlerdir. Araştırmacılar *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C. tropicalis* MİK90 değerlerinin sırasıyla 1, 2, 8 ve 4µg/ml olduğunu ve en yüksek MİK değerlerinin ise *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* türlerinde gözlemlendiğini bulmuşlardır. Adı geçen çalışmada *Candida* suşlarının 18’ i (%6,6) (7 *C. guilliermondii*, 4 *C. tropicalis*, 4 *C. glabrata*, 2 *C. parapsilosis*, 1 *C. lusitaniae*) doza bağlı duyarlı olarak saptanmıştır.

Bu çalışmada *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. lusitaniae* için flukonazol MİK90 değerlerinin sırasıyla 1, 0,5, 4, 1 ve 1 µg/ml olduğu ve en yüksek MİK değerlerinin ise *C. krusei*, ve *C. glabrata* türlerinde gözlemlendiği bulunmuştur.

Pfaller ve ark. (17) dünya genelinde 79 merkezin katıldığı bir araştırmada YBÜ’ ndeki kandidemi olgularından izole edilen toplam 779 *Candida* suşu arasından, *C.albicans*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis*’ de vorikonazol direncinin saptanmadığı, bununla birlikte *C. glabrata* ve *C. tropicalis*’ de flukonazol ve vorikonazole sırasıyla %5,9, %5,9 ve %4,9, %4,9, *C. parapsilosis*’ de ise sadece flukonazole %6,8 oranında direnç belirlendiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise *C. glabrata* suşlarının sadece 2’ si (%0,6) vorikonazole dirençli, suşların 5’ i (%1,4) ise doza bağlı duyarlı ve diğer *Candida* türlerinin tamamının bu antifungale duyarlı olduğu saptanmıştır.

Mariott ve ark. (136)YBÜ’ nde yatan hastalardan izole edilen kandidemi etkeni suşlarla yaptıkları bir çalışmada *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*’ e ait MİK50 ve MİK90 değerlerini sırasıyla amfoterisin B için 0,125/0,25 µg/ml, 0,25/0,5 µg/ml, 0,25/0,5 µg/ml, 0,5/0,5 µg/ml, 0,5/0,5 µg/ml, flukonazol için 1/2 µg/ml, 32/64 µg/ml, 64/>64 µg/ml, 2/4, 1/4µg/ml, itrakonazol için 0.06/0 µg/ml, 125,

2/16 µg/ml, 0,5ve 0,5 µg/ml, 0,25/0,5 µg/ml, 0,25/0,5 µg/ml, vorikonazol için 0,016/0,03 µg/ml, 0,5/1 µg/ml, 0,5/0,5 µg/ml, 0,06/0,25 µg/ml, 0,06/0,5 µg/ml olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*' ye ait MİK50 / MİK90 değerleri sırasıyla amfoterisin B için 0,5 / 0,5 µg/ml, 0,5 / 1 µg/ml, 0,25 / 0,5 µg/ml, 0, 25 / 0,25 µg/ml, 0,5 / 1µg/ml, flukonazol için 0,5 / 0,5 µg/ml, 2 / 4 µg/ml, 0,5 / 1 µg/ml, 0,5 / 0,5 µg/ml, 16 / 32 µg/ml, itrakonazol için 0,0313 / 0,0625 µg/ml, 0,0313 / 0,125 µg/ml, 0,0313 / 0,125 µg/ml, 0,0625 / 0,125 µg/ml, 0,0625 / 0,125 µg/ml, vorikonazol için 0,0313 /0,0625 µg/ml, 0,0313 / 0,0313 µg/ml, 0,0313 / 0,125 µg/ml, 0,0313 / 0,0313 µg/ml, 0,0625 / 0,25µg/ml olarak saptanmıştır.

Her iki çalışmada da *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*' ye ait amfoterisin B MİK50 ve MİK90 değerlerinin benzer olduğu görülmektedir. Ancak bu çalışmada MİK50 / MİK90 değerlerinin *C. glabrata* türlerinde vorikonazol ve itrakonazol için daha düşük, bütün türlerde ise flukonazol için daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, KI'nin infeksiyon gelişimi açısından yüksek risk taşıyan *Candida* ile kolonize hastaların belirlenmesindeki NPD'nin yüksek bulunması nedeniyle, sürveyans kültürleri profilaktik ve preemtif antifungal tedaviden fayda görmeyecek hastaların tanımlanması için yarar sağlayabilir. Elde edilen verilere göre, çok sayıda antibiyotik kullanan, vankomisin tedavisi verilen ve trakeostomisi olan kolonize hastalar *Candida* infeksiyonu gelişimi için artmış bir riski taşımaktadır. Bu nedenle klinisyenler adı geçen risk faktörlere sahip hastalarda dikkatli olmalıdır. İstanbul Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı YBÜ'nde en sık kolonizan olarak izole edilen *C. albicans*'ı *C. glabrata*'nın takip etmesi bu türün azollere karşı azalmış duyarlılık gösterebilmesi açısından önemlidir. Bu türe denenen azollerin arasında en duyarlı olarak vorikonazolün saptanması, *C. albicans* suşlarında %4 oranında flukonazol; non-albicans suşlarında ise %4.6 oranında amfoterisin B direncinin belirlenmiş olması profilaksi veya olası infeksiyon öncesinde preemtif antifungal tedavi seçiminde klinisyene yol gösterecek önemli verilerdir.

Bu veriler ışığında, her YBÜ için hastalarda invazif kandidiyazis ile ilişkili risk faktörlerinin, altta yatan hastalıkların ve *Candida* kolonizasyonu açısından sürveyans

kültürleri ile suşların tür dağılımlarının ve hatta antifungal duyarlılıklarının belirlenerek izlenmesi invazif kandidiyazis tanı ve tedavisi için büyük önem taşıdığı görülmektedir.



KAYNAKLAR

1. Garbino J, Lew PD, Romand JA, et al: Prevention of severe *Candida* infections in non-neutropenic, high-risk, critically ill patients. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in SDD-treated patients. *Intensive Care Med* 2002; 28:1708-1717.
2. Hsueha PR, Graybill JR, Playford EG et al. Consensus statement on the management of invasive candidiasis in Intensive Care Units in the Asia-Pacific Region. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2009;34:205–209.
3. Eggimann P, Bille J, Marchetti O. Diagnosis of invasive candidiasis in the ICU. *Annals of Intensive Care* 2011; 1:37.
4. Pittet D, Monod M, Suter PM, et al: *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 1994, 220:751-758.
5. Voss A, Hollis RJ, Pfaller MA, Wenzel RP, et al. Investigation of the sequence of colonization and candidemia in nonneutropenic patients. *J Clin Microbiol* 1994, 32:975-980.
6. Pincus DH, Orenga S, Chatellier S.. Yeast identification past, present, and future methods. *Medical Mycology*, 2007; 45: 97-121.
7. Eggimann P, Francioli P, Bille J, et al: Fluconazole prophylaxis prevents intra-abdominal candidiasis in high risk surgical patients. *Crit Care Med* 1999, 27:1066-1072.
8. Sandven P, Qvist H, Skovlund E, et al: Significance of *Candida* recovered from intraoperative specimens in patients with intraabdominal perforations. *Crit Care Med* 2002; 30:541-547
9. Dupont H, Bourichon A, Paugam-Burtz C, et al. Can yeast isolation in peritoneal fluid be predicted in intensive care unit patients with peritonitis? *Crit Care Med* 2003; 31:752-757.
10. Leroy O, Gangneux JP, Montravers P, et al: Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). *Crit Care Med* 2009; 37(5):1612-1618.

11. Bougnoux ME, Kac G, Aegerter P, et al: Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive Care Med* 2008; 34:292-299.
12. Pelz RK, Hendrix CW, Swoboda SM, et al: Double-blind placebo controlled trial of fluconazole to prevent *Candidal* infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 2001; 233:542-548.
13. Peman J, Rafael Z. Current diagnostic approaches to invasive candidiasis in critical care settings. *Mycoses* 2009; 53: 424-433.
14. Vincent JL, Anaissie E, Bruining H, et al: Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care Med* 1998; 24:206-216.
15. Eggimann P, Garbino J, Pittet D: Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patient. *Lancet Infect Dis.* 2003; 3:685-702.
16. Eggimann P, Ostrosky-Zeichner L: Early antifungal intervention strategies in ICU patients. *Curr Opin Crit Care* 2010; 16:465-469.
17. Pfaller MA, Messer SA, Moet GJ, et al. *Candida* bloodstream infections: comparison of species distribution and resistance to echinocandin and azole antifungal agents in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008–2009) *Int J of Antimicrobial Agents* 2011;38: 65–69.
18. Warnock DW. Taxonomy and Classification of Fungi. İçinde Murray PR, Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC, editörler. *Manual of Clinical Microbiology*. 9 th. ed. Washington; ASM Press; 2007. pp. 1721-1727.
19. Murray PR, Rosenthal KS, Tenover FC, Tenover FC. *Medical Microbiology: Fungal classification, structure and replication*. 6th ed. St Louis; Elsevier Mosby; 2009. pp. 57-63.
20. Reiss E, Shadomy HJ, Lyon GM. *Fundamental Medical Mycology: Introduction to fundamental medical mycology*. 1th. Ed. New Jersey; Wiley-Blackwell: 2012. pp. 1-30.
21. Segal E, Elad D. Candidiasis. İçinde: Collier L, editör. *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial infectious Medical Mycology* 10th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC 2006; 579-623.

22. Barnett JA. History of research on yeasts 12: medical part I, *albicans*. Yeast. 2008; 25: 385-417.
23. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, et al: Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance study, 1997 to 2005: an 8.5-year analysis of susceptibilities of species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2007, 45:1735-1745.
24. Zilbelberg MD, Shorr AF. Fungal infection in the ICU. *Infect Dis Clin N Am* 2009; 23: 625-642.
25. Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, et al. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology*. 1995;141(7):1507-21.
26. Hazen KC, Howel SA. *Candida Cryptococcus* and other medically important fungi. İçinde Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editörler. *Manual of Clinical Microbiology*. 9 th. ed. Washington; ASM Press; 2007. pp. 1721-1727.
27. Larone DH. Medically important fungi: Identification of fungi culture. 5th edition American Society for Microbiology, Washington DC, 2011. pp. 69-314.
28. Sullivan DJ, Henman MC, Moran GP, et al. Molecular genetic approaches to identification, epidemiology and taxonomy of non-*albicans Candida* species. *J Med Microbiol*. 1996 Jun;44(6):399-408.
29. Kwon-Chung KJ, Riggsby WS, Uphoff RA, et al. Genetic differences between type I and type II *Candida stellatoidea*. *Infect Immun*. 1989;57(2):527-532.
30. Sullivan D, Bennett D, Henman M, et al. Oligonucleotide fingerprinting of isolates of *Candida* species other than *C. albicans* and of atypical *Candida* species from human immunodeficiency virus-positive and AIDS patients. *J Clin Microbiol*. 1993;31(8):2124-33.
31. 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

32. Calderone RA. Taxonomy and Biology of *Candida*. İçinde Calderone R editör. *Candida* and Candidiasis American Society for Microbiology, Washington : ASM Press; 2002;pp: 15-27.
33. Hays C, Duhamel C, Cattoir V, et al. Rapid and accurate identification of species belonging to the *Candida* parapsilosis complex by real-time PCR and melting curve analysis. J Med Microbiol. 2011;60(Pt 4):477-80.
34. Loreto ES, Scheid LA, Nogueira CW, et al. *Candida dubliniensis*: Epidemiology and Phenotypic Methods for Identification. Mycopathologia 2010;169(6):431-43.
35. Ells R, Kock JL, Pohl CH. *Candida albicans* or *Candida dubliniensis*? Mycoses 2011;54(1):1–16.
36. Shepard JR, Addison RM, Alexander BD, et al. Multicenter evaluation of the *Candida albicans/Candida glabrata* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization method for simultaneous dual-color identification of *C. albicans* and *C. glabrata* directly from blood culture bottles. J Clin Microbiol 2008;46:50–55.
37. Marklein G, Josten M, Klanke U, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. J Clin Microbiol. 2009 ;47(9):2912-7.
38. Hiller E, Zavrel M, Hauser N, et al. Int J Med Microbiol. Adaptation, adhesion and invasion during interaction of *Candida albicans* with the host-focus on the function of cell wall proteins. 2011;301(5):384-9.
39. Calderone RA, Braun P. Adherence and relationship of *albicans*. Microbiol Rev. 1991;55:1-20.
40. Blankenship JR, Mitchell AP. How to build a biofilm: a fungal perspective. Current opinion in Microbiol. 2006; 9:588–594.
41. Gale CA, Bendel CM, McClellan M, et al. Linkage of adhesion, filamentous growth and virulence in *Candida albicans* to a single gene, INT1. Science 1998;279:1355–1358.
42. Calderone R, Gow NA. Host recognition by *Candida* species. . İçinde Calderone R editör. *Candida* and Candidiasis American Society for Microbiology, Washington, ASM Pres. 2002;67-86.

43. Baillie GS, Douglas LJ. Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. *J Antimicrob Chemother.* 2000;46(3):397-403.
44. Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, et al. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemother.* 2002;49(6):973-80.
45. Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol.* 2003 Jan;11(1):30-6.
46. Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. *Candida*. İçinde: *Clinical Mycology* Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editörler. Elsevier Second Edition. 197-230; 2009.
47. Li Han T, Cannon RD, Villas-Boas SG. The metabolic basis of *Candida albicans* morphogenesis and quorum sensing. *Fungal Genetics and Biology.* 2011;48:747–763.
48. Naglik J, Albrecht A, Bader O, et al. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cell Microbiol.* 2004;6(10):915-26.
49. Lim CSY, Rosli R, Seow HF, et al. *Candida* and invasive candidiasis: back to basics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011; 31(1):21-31.
50. Srikantha T, Chandrasekhar A, Soll R. Functional Analysis of the Promoter of the Phage-Specific WH11 Gene of *Candida albicans*, *Molecular and Cellular Biology* 1995;15(3):1797-1805.
51. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology: Opportunistic mycoses.* 6th ed. St Louis; Elsevier Mosby: 2009. pp. 771-774.
52. MacCallum D. *Candida albicans*: İçinde Kavanagh K, editörler. *New Insights in Infection, Disease, and Treatment New Insights in Medical Mycology.* Springer 2007: 99-129.
53. Vazquez JA, Sobel JD. *Candidiasis.* İçinde, Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, editörler. *Clinical Mycology.* London: Oxford University Press; 2003.143–187.
54. Arendrup MC. Epidemiology of invasive candidiasis. *Current Opinion in Critical Care* 2010; 16:445–452.
55. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB: Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases

- from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004, 39:309-317.
56. Bouza E, Munoz P: Epidemiology of candidemia in intensive care units. Int J Antimicrob Agents 2008. 32 Suppl 2:S87-91.
 57. Bouza E, Perez-Molina J, Munoz P. Report of ESGNI01 and ESGNI02 studies. Bloodstream infections in Europe. Clin Microbiol Infect 1999, 5(Suppl 2):2S1-12.
 58. Beck-Sague CM, Jarvis WR. The National Nosocomial Infections Surveillance System: secular trends in epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. J Infect Dis 1993;167:1247-51.
 59. Erbay H, Yalcin AN, Serin S, Turgut H, Tomatir E, Cetin B, et al. Nosocomial infections in intensive care unit in a Turkish university hospital: a 2 year survey. Intensive Care Med 2003;29:1482-8.
 60. Meriç M, Wilke A, Çağlayan Ç, ve ark. Intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish university hospital. Jpn J Infect Dis 2005;58:297-302.
 61. Palabıyıkoglu İ, Tulunay M, Oral M, ve ark. Bir reanimasyon ünitesinde gözlenen hastane infeksiyonları: Risk faktörleri, etkenler ve antibiyotik direnci. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2000;4:150-5.
 62. Pappas PG, Rotstein CM, Betts RF, Nucci M, Talwar D, De Waele JJ, Vazquez JA, Dupont BF, Horn DL, Ostrosky-Zeichner L, et al: Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. Clin Infect Dis 2007, 45:883-893.
 63. Mikulska M, Bassetti M, Ratto S, ve ark. Invasive Candidiasis in Non-Hematological Patients. Mediterr J Hematol Infect Dis 2011;(3)1.
 64. Kuse ER, Chetchotisakd P, da Cunha CA, et al: Micafungin versus liposomal amphotericin B for *Candidaemia* and invasive candidosis: a phase III randomised double-blind trial. Lancet 2007, 369:1519-1527.
 65. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med 2003, 348:1546-1554.
 66. Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Secular trends in candidemia-related hospitalization in the United States, 2000-2005. Infect Control Hosp Epidemiol 2008, 29:978-980.

67. Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, et al. *Candidaemia* in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2006, 27:359-366.
68. Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, et al: Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends 1991-2000. *Clin Infect Dis* 2004, 38:311-320.
69. Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ, Bow EJ, et al. Early treatment of candidemia in adults: a review. *Med Mycol.* 2011 Feb;49(2):113-20.
70. Leon C, Alvarez-Lerma F, Ruiz-Santana S, et al. Fungal colonization and/or infection in non-neutropenic critically ill patients: results of the EPCANobservational study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009; Mar; 28 (3) :233-42
71. Sezer BE, Arman D. Yoğun bakım ünitesinde gelişen infeksiyonlar. *Yoğun Bakım Dergisi* 2010;9(3):121-128.
72. Richet HM, Andremont A, Tancrede C, et al. Risk factors for candidemia in patients with acute lymphocytic leukemia. *Rev Infect Dis* 1991, 13:211-215.
73. Bernhardt HE, Orlando JC, Benfield JR, et al. Disseminated candidiasis in surgical patients. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 134:818-825. 4 nolu kaynakta site edilmiştir.
74. Solomkin JS, Flohr AB, Quie PG, et al. The role of *Candida* in intraperitoneal infections. *Surgery.* 1980;88:524–530. 4 nolu kaynakta site edilmiştir.
75. Calandra T, Bille J, Schneider R, et al. Clinical significance of *Candida* isolated from peritoneum in surgical patients. *Lancet* 1989; 2:1437-1440.
76. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case- control study. *Arch Intern Med* 1989; 149: 2349–53.
77. Charles PE, Doise JM, Quenot JP, et al. Medical and surgical patients difference of outcome between Candidemia in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2003, 29:2162-2169.
78. Piarroux R, Grenouillet F, Balvay P, et al: Assessment of preemptive treatment to prevent severe candidiasis in critically-ill surgical patients. *Critical Care Med* 2004, 32:2443-2449.
79. Agvald-Ohman C, Klingspor L, Hjelmqvist H, et al. Invasive candidiasis in long-term patients at a multidisciplinary intensive care unit: *Candida*

- colonization index, risk factors, treatment and outcome. Scand J Infect Dis 2008; 40:145-153.
80. Slavin MA, Sorrell TC, Marriott D, et al. *Candidaemia* in adult cancer patients: risks for fluconazole-resistant isolates and death. J Antimicrob Chemother 2010; 65:1042–1051.
 81. Lee I, Fishman NO, Zaoutis TE, et al. Risk factors for fluconazole-resistant *Candida glabrata* bloodstream infections. Arch Intern Med 2009; 169:379–383.
 82. Lin MY, Carmeli Y, Zumsteg J, et al. Prior antimicrobial therapy and risk for hospital-acquired *Candida glabrata* and *Candida krusei* fungemia: a case-case-control study. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49:4555–4560.
 83. Lee I, Zaoutis TE, Fishman NO et al. Risk factors for fluconazole resistance in patients with *Candida glabrata* bloodstream infection: potential impact of control group selection on characterizing the association between previous fluconazole use and fluconazole resistance. Am J Infect Control 2010; 38:456–460.
 84. Forrest GN, Weekes E, Johnson JK. Increasing incidence of *Candida parapsilosis* candidemia with caspofungin usage. J Infect 2008; 56:126–129.
 85. Sipsas NV, Lewis RE, Tarrand J, et al. Candidemia in patients with hematologic malignancies in the era of new antifungal agents (2001–2007): stable incidence but changing epidemiology of a still frequently lethal infection. Cancer 2009; 115:4745–4752.
 86. Dizbay M, Fidan I, Kalkanci A, et al. High incidence of *Candida parapsilosis* *Candidaemia* in nonneutropenic critically ill patients: Epidemiology and antifungal susceptibility. Scand J Infect Dis 2010; 42:114–120.
 87. Playford EG, Nimmo GR, Tilse M, et al. Increasing incidence of *Candidaemia*: long-term epidemiological trends, Queensland, Australia, 1999–2008. J Hosp Infect 2010; 76(1): 46-51.
 88. Oxman DA, Chow JK, Frendl G, et al. *Candidaemia* associated with decreased in vitro fluconazole susceptibility: is *Candida* speciation predictive of the susceptibility pattern? J Antimicrob Chemother 2010; 65:1460–1465.
 89. Pappas PG. Invasive candidiasis. Infect Dis Clin North Am 2006;20:485–506.
 90. Vazquez JA. Invasive Fungal Infections in the Intensive Care Unit. Semin Respir Crit Care Med 2010;31:79–86.

91. Shah CP, McKey J, Spirn MJ, et al. Ocular candidiasis: a review. *Br J Ophthalmol* 2008; 92:466–468.
92. Henry D. Isenberg. *Clinical Microbiology Procedures Handbook: Mycology and Antifungal Susceptibility Testing*. 2th edition Washington DC: ASM Press; 2004.
93. Pfaller MA, McGinnis MR. *The laboratory and clinical mycology*. İçinde: *Clinical Mycology* Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editörler. Second edition Elsevier. 2009; pp.55-78.
94. Shea YR. *Algorithms for Detection and Identification of Fungi*. İçinde, Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC, Yolken RH, editörler. *Manual of Clinical Microbiology*. 9 th. ed. Washington: ASM Press; 2007. pp. 1745-1761.
95. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology: Laboratory diagnosis of fungal diseases*. 6th ed. St Louis; Elsevier Mosby: 2009, pp. 689-699.
96. Larone DH. *Medically important fungi: Laboratory technique*. 5th edition American Society for Microbiology, Washington DC, 2011. pp. 339-403.
97. Ostrosky-Zeichner L. Invasive mycoses: diagnostic challenges. *Am J Med*. 2012;125(1 Suppl):S14-24.
98. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, et al. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Crit Care*. 2010;14(6):R222.
99. Petri MG, König J, Moecke HP, et al: Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients. *Intensive Care Med* 1997, 23:317-325.
100. Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, et al: Practice guidelines for the treatment of candidiasis. *Infectious Diseases Society of America*. *Clin Infect Dis* 2000, 30:662-678.
101. Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, et al. A bedside scoring system ("*Candida* score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med* 2006, 34:730-737.
102. Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, et al: Usefulness of the "*Candida* score" for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in

- non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Crit Care Med* 2009, 37:1624-1633.
103. Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, et al: Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007, 26:271-276.
 104. Arikan S, Rex JH. Antifungal Agents. İçinde Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC, Yolken RH, editörler. *Manual of Clinical Microbiology*. 9 th. ed. Washington: ASM Press; 2007. pp. 1949-1960.
 105. Bille J, Sanglard D. Current Understanding of Modes of Action and Resistance Mechanisms to Conventional and Emerging Antifungal Agents for Treatment *Candida* Infections. İçinde Calderone R editör. *Candida* and Candidiasis American Society for Microbiology, Washington, ASM Pres. 2002. pp 349-383.
 106. Gubbins PO, Anaissie EJ. Antifungal therapy. İçinde: *Clinical Mycology* Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA) Elsevier Secound Edition. 2009. 161-195.
 107. Chiou CC, Groll AH, Walsh TJ. New drugs and novel targets for treatment of invasive fungal infections in patients with cancer. *Oncologist* 2000;5: 120-35.
 108. Bhattacharya M, Rajeshwari K, Dhingra B. Posaconazole. *J Postgrad Med*. 2010 Apr-Jun;56(2):163-7.
 109. Pasqualotto AC, Denning D.W. New and emerging treatments for fungal infections. *J.Antimicro.Chemother*. 2008;62:19-30).
 110. Arikan S. Current status of antifungal susceptibility testing methods. *Medical Mycology* November 2007; 45: 569-587.
 111. Coyle EA. Invasive Candidiasis and the Utility of Antifungal Susceptibility Testing in the ICU. *Journal of Pharmacy Practice*, 2010; 23(1): 33-37.
 112. Lass-Flörl C, Perkhofer S, Mayr A. In vitro susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods. *Mycoses*. 2010;53(1):1-11.
 113. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved Standard M27-A3, 3rd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
 114. Espinel-Ingroff A, Pfaller MA. Susceptibility Test Methods: Yeast and Filamentous Fungi. içinde Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC,

- Yolken RH, editörler. Manual of Clinical Microbiology. 9 th. ed. Washington: ASM Press; 2007. pp. 1972-1986.
115. Alexander BD, Byrne T, Smith K et al. Comparative evaluation of Etest and sensititre yeastone panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. J Clin Microbiol 2007; 45: 698–706.
 116. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ et al. Antifungal Susceptibility Testing: Practical Aspects and Current Challenges. Clinical Microbiology Reviews, 2001 . 643–658
 117. Willinger B. P. Apfalter, A. M. Hirschl, et al Susceptibility testing of species: comparison of NCCLS microdilution method with Fungitest (R). Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2000. 38:11–15.
 118. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A. Comparison of the Vitek 2 Antifungal Susceptibility System with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Broth Microdilution Reference Methods and with the Sensititre YeastOne and Etest Techniques for *In Vitro* Detection of Antifungal Resistance in Yeast Isolates Journal of Clinical Microbiology, 2010,48;5:1782–1786.
 119. www.chromagar.com.
 120. Alves SH, Milan EP, de Laet Sant'Ana P, et al. Hypertonic sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002;43(1):85-6.
 121. Staib P, Morschhauser J. Chlamydospore formation on Staib agar as a species-specific characteristic of *Candida dubliniensis*. Mycoses 1999;42:521–4.
 122. Akgül O, Cerikçioğlu N. Hypertonic sabouraud dextrose agar as a substrate for differentiation of *Candida dubliniensis*. Mycopathologia. 2009;167(6):357-9.
 123. Marchetti O, Eggiman P, Calandra T. Invasive candidiasis in critically patients: does progressing knowledge improve clinical management and outcome. Current Opinion in Critical Care 2010, 16:442-444.
 124. Caggiano G, Puntillo F, Coretti C, I et al. *Candida* colonizatin index in patients admitted to an ICU. Int J. Mol. Sci. 2011; 12:7038-7047.

125. Charles PE, Dalle F, Aube H. *Candida* spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. *Intensive Care Med.* 2005 Mar;31(3):393-400.
126. Magill SS, Swoboda SM, Johnson EA. The association between anatomic site of *Candida* colonization, invasive candidiasis, and mortality in critically ill surgical patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006;55(4):293-301
127. Massou S, Ahid S, Azendour H, Bensghir M, et al. Systemic candidiasis in medical intensive care unit: Analysis of risk factors and the contribution of colonization index. *Pathol Biol (Paris)* (2012), doi:10.1016/j.patbio.2012.03.010.
128. Magill SS, Swoboda SM, Shields CE, et al. The epidemiology of *Candida* colonization and invasive candidiasis in a surgical intensive care unit where fluconazole prophylaxis is utilized: follow-up to a randomized clinical trial. *Ann Surg* 2009; 249:657–665.
129. Ergon MC, Yücesoy M. Evaluation of species distribution of yeasts isolated from intensive care units during the four years period. *Mikrobiyol Bul.* 2005 Jul;39(3):309-18.
130. Kucukates E, Erturan Z, Susever S. Nozokomiyal fungal infeksiyonlar. Willke TA, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji*. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008:616-24.
131. Lortholary O, Desnos-Ollivier M, Sitbon K, et al. Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:532–8.
132. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, et al: Risk factors for *Candidal* bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *The National Epidemiology of Mycosis Survey.* *Clin Infect Dis* 2001, 33:177-186.
133. Keskin E. Kandidemi saptanan hastalarda risk faktörlerinin değerlendirilmesi ve invitro antifungal duyarlılıklarının incelenmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, 2007 Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi.
134. Zaoutis TE, Prasad PA, Localio AR, et al. Risk factors and predictors for candidemia in pediatric intensive care unit patients: implications for prevention.

135. Acar A, Öncül O, Küçükdarlı Y, et al. Yoğun bakım ünitelerinde saptanan *Candida* infeksiyonlarının epidemiyolojik özellikleri ve mortaliteye etki eden risk faktörleri. Mikrobiyol Bul 2008; 42:451-461.
136. Marriott DJE, Playford EG, Chen S, et al. Determinants of mortality in non-neutropenic ICU patients with candidemia. Critical Care. 2009;13;R115.
137. Comert F, Kulah C, Aktas E, et al. Identification of *Candida* species isolated from patients in intensive care unit and in vitro susceptibility to fluconazole for a 3-year period. Mycoses. 2007 Jan;50(1):52-7.

