



T.C.
VAN YÜZÜNCÜYIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA'LARIN
TANIMLANMASI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARIN
BELİRLENMESİ**

Dr.Rukiye AKBOĞA
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Yasemin BAYRAM

İKİNCİ DANIŞMAN
Dr.Öğr.Üyesi.AyşeÖZKAÇMAZ

VAN-2024

T.C.
VAN YÜZÜNCÜYIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDİDA’LARIN
TANIMLANMASI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ
BELİRLENMESİ**

Dr.Rukiye AKBOĞA
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Yasemin BAYRAM

İKİNCİ DANIŞMAN
Dr.Öğr.Üyesi.Ayşe ÖZKAÇMAZ

VAN-2024

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2023-
10721 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araş. Gör. Dr. Rukiye AKBOĞA tarafından hazırlanan "Kankültürlerinden izole edilen *Candida* 'ların tanımlanması ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17/10/2024

Prof. Dr. Yasemin BAYRAM
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Mehmet PARLAK
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe ÖZKAÇMAZ
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı tarafından onaylanmıştır.

ETİK BEYAN

T.C.

VANYÜZÜNCÜYIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Uzmanlık tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Kan kültürlerinden izole edilen *Candida*’ların tanımlanması ve antifungal duyarlılıkların belirlenmesi” başlıklı tezimin; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alandan deney sel çalışma/ araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgilere akademik kurallara ve etik kurallara uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususları doğru ve berrak olarak beyan ederim.

Adı Soyadı: Araş. Gör. Dr. Rukiye AKBOĞA

Tarih: 17/10/2024

İmza:

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca her zaman yanımda olan, derin bilgi ve tecrübesiyle bize her daim yol gösteren, güler yüzü ve neşesiyle laboratuvarımıza renk katan, sevgili tez danışmanım anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Yasemin BAYRAM'a,

Tüm asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden her zaman yararlanabildiğim, hem güzel ahlakı hem de iş disipliniyle bizlere örnek olan, kıymetli hocamız Prof. Dr. Mehmet PARLAK'a,

Güler yüzü ve güzel kalbiyle her daim yanımızda olan, uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca her zaman bana yol gösterici olan, ikinci tez danışmanım Dr.Öğr. Üyesi Ayşe ÖZKAÇMAZ'a,

Tezimin istatistiksel analiz kısmınında destek veren, yoğun çalışma temposunda bize zaman ayıran Tıbbi İstatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sıddık Keskin'e,

Güzel ve eğlenceli bir çalışma ortamı sağlayan sevgili asistan arkadaşlarıma ve tüm mikrobiyoloji ailesine,

Tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen sevgili laborant arkadaşlarım Emel KESKİN MEMİŞ, Erkan MATBAY, Leyla ŞEN ve Nazife PINAR'a,

Büğünlere gelmemi sağlayan, her daim yanımda olan sevgili annem ve babama, en büyük destekçim, hayatı katlanır kılan ve kolaylaştıran, her daim bana huzur ve mutluluk veren sevgili eşim Seyithan AKBOĞA'ya, hayatımın neşesi, miniğim Renas'a,

Tüm kalbimle çok teşekkür ederim.

ÖZET

Akboğa R. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida*’ların tür düzeyinde tanımlanması ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Van, 2024.

Candida’ların yol açtığı kan dolaşımı enfeksiyonları yüksek morbidite ve mortaliteyle seyretmektedir. *Candida*’ların tür düzeyinde doğru ve hızlı tanımlanarak antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi, tedavinin doğru ve erken yapılmasına olanak sağlamaktadır. Çalışmamızda Van YYÜ Dursun Odabaş Tıp Merkezine başvuran hastalardan alınan kan kültür örneklerinden izole edilen *Candida* izolatlarının geleneksel yöntemler, otomatize sistemler ve PCR yöntemiyle tür düzeyinde tanımlanması ve standart yöntem olan broth mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle antifungal direnç profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Van YYÜ Dursun Odabaş Tıp Merkezi’ne başvuran hastalardan alınan kan kültür örneklerinden izole edilen 63 *Candida* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatların identifikasyonu geleneksel yöntemlerden germ tüp ve CHROMagar *Candida* (RTA, Türkiye) ile; otomatize sistemlerden BD Phoenix M50 (Becton Dickonson, ABD) ve MALDI-TOF MS (Biomeriux, Fransa) ile ve moleküler yöntemlerden multipleks PCR ile yapılmıştır. Antifungal duyarlılık için Gradyent Test ve Disk Difüzyon yöntemleri referans yöntem olarak önerilen Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile karşılaştırılmıştır.

Toplam 32 suş, germ tüp testinde pozitiflik vermiş ve *C. albicans* olarak tanımlanmıştır. Sekiz izolatta yalancı germ tüp pozitifliği bulunmuş ve diğer izolatlar germ tüp negatif olarak tespit edilmiş ve non-*albicans Candida* olarak belirlenmiştir. CHROMagar *Candida* besiyerinde yaygın olarak görülen 59 suş tür düzeyinde belirlenirken dört suş tür düzeyinde tanımlanamamış, *Candida* spp. olarak rapor edilmiştir. Multipleks PCR ile *C. albicans* olarak saptanan bir suş CHROMagar *Candida* besiyeri ile *C. tropicalis* olarak adlandırılmıştır. Türe spesifik primerlerin kullanıldığı multipleks PCR yönteminde 32 suş *C. albicans*, 11 suş *C. parapsilosis*, sekiz suş *C. tropicalis*, yedi suş *C. glabrata*, üç suş *C. kefyr*, bir suş *C. lusitaniae* ve bir suş *C. krusei* olarak tanımlanmıştır. Phoenix M50 otomatize sistemi 63 suşun 61’ini multipleks PCR’la uyumlu bir şekilde tanımlamış; multipleks PCR yöntemiyle *C. tropicalis* olarak saptanan bir suş BD Phoenix M50 ile *S. cerevisiae* ve *C. albicans* olarak tanımlanan bir suş da *C. parapsilosis* olarak tanımlanmıştır. MALDI-TOF MS otomatize sistemi 63 suşun 60’ını multipleks PCR’la uyumlu bir şekilde tanımlamış; multipleks PCR yöntemiyle *C. albicans* olarak tespit edilen üç ayrı suş *C. kefyr*, *C. tropicalis* ve *C. lusitaniae* olarak tanımlamıştır.

Antifungal duyarlılık testlerine göre; broth mikrodilüsyon yöntemine göre EUCAST’e göre sınır değerleri belli olan tüm izolatlar amfoterisin B’ye duyarlı bulunmuştur. Bir *C. albicans*, iki *C. parapsilosis* ve tüm *C. glabrata* izolatları flukonazole orta duyarlı; kalan izolatlar duyarlı bulunmuştur. Dirençli bir *C. albicans* suşu hariç tüm izolatlar vorikonazole duyarlı bulunmuştur. *C. albicans* izolatlarının 15’inde ve *C. parapsilosis* izolatlarının altısında mikafungin dirençli, tüm *C. glabrata* suşları duyarlı bulunmuştur. Disk difüzyon yönteminde Amfoterisin B için bulunan zon çapları 10-20 mm arasında değişmekteydi.

Vorikonazol için disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri arasındaki uyum *C. parapsilosis* için %90,9 iken *C. albicans* ve *C. tropicalis* için %100 olarak bulunmuştur. Flukonazol için iki yöntem arasındaki uyum *C. parapsilosis* için %81,8 iken *C. albicans* için %96,8, *C. tropicalis* için %100, *C. glabrata* için %42,8 olarak bulunmuştur. Gradient test amfoterisin B için broth mikrodilüsyon yöntemiyle %100 uyumlu bulunmuştur. Flukonazol için iki yöntem arasındaki uyum *C. albicans* için %56, *C. parapsilosis* için %36, *C. tropicalis* için %75 ve *C. glabrata* için %100 olarak bulunmuştur. Vorikonazol için iki yöntem arasındaki uyum *C. albicans* için %25, *C. parapsilosis* için %73, *C. tropicalis* için %62 olarak bulunmuştur. Gradient test mikafungin için, değerlendirilebilen tüm izolatlarda duyarlı bulunmuştur. Mikafungin için iki yöntem arasındaki uyum *C. albicans* için %50, *C. parapsilosis* için %45 ve *C. glabrata* için %100 olarak bulunmuştur.

Geleneksel yöntemler ve otomatize sistemlerle *Candida* türleri yüksek oranda doğru tanımlanmış; multipleks PCR yöntemiyle karşılaştırıldığında, en yüksek uyumluluk oranı BD Phoenix otomatize sistemiyle elde edilmiştir. Bunu MALDI-TOF MS otomatize sistemi takip etmiştir. Antifungal direncini tespit etmede disk difüzyon yöntemi, broth mikrodilüsyona alternatif bir yöntem olarak belirlenmiştir. Gradient test yöntemi amfoterisin B için güvenli bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Candida*, antifungal direnci, broth mikrodilüsyon

ABSTRACT

Akboğa R. Identification of *Candida* isolated from blood cultures at species level and determination of their antifungal susceptibilities. Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Medical Specialization Thesis, Van, 2024.

Bloodstream infections caused by *Candida* have high morbidity and mortality. Accurate and rapid identification of *Candida* at the species level and determination of their antifungal susceptibility allows accurate and early treatment. In our study, we aimed to identify *Candida* isolates isolated from blood culture samples taken from patients admitted to Van YYÜ Dursun Odabaş Medical Center at the species level using traditional methods, automated systems and PCR methods, and to determine their antifungal resistance profiles using the standard methods of broth microdilution, gradient test and disk diffusion methods.

63 *Candida* isolates isolated from blood culture samples taken from patients admitted to Van YYÜ Dursun Odabaş Medical Center were included in the study. Identification of isolates was carried out using traditional methods such as germ tube and CHROMagar *Candida* (RTA, Turkey); It was performed with automated systems BD Phoenix M50 (Becton Dickonson, USA) and MALDI-TOF MS (Biomeriux, France) and with molecular methods multiplex PCR. For antifungal susceptibility, Gradient Test and Disk Diffusion methods were compared with the Broth Microdilution Method, which is recommended as a reference method.

A total of 32 strains were positive in the germ tube test and were identified as *C. albicans*. False germ tube positivity was found in eight isolates and the other isolates were detected as germ tube negative and determined as *non-albicans Candida*. While 59 commonly seen strains in CHROMagar *Candida* medium were identified at the species level, four strains could not be identified at the species level, indicating *Candida* spp. It was reported as. A strain detected as *C. albicans* by multiplex PCR was named *C. tropicalis* with CHROMagar *Candida* medium. In the multiplex PCR method using species-specific primers, 32 strains were identified as *C. albicans*, 11 strains as *C. parapsilosis*, eight strains as *C. tropicalis*, seven strains as *C. glabrata*, three strains as *C. kefyr*, one strain as *C. lusitaniae* and one strain as *C. krusei*. BD Phoenix M50 automated system identified 61 of 63 strains compatible with multiplex PCR; A strain identified as *C. tropicalis* by the multiplex PCR method was identified as *S. cerevisiae* by BD Phoenix M50, and a strain identified as *C. albicans* was identified as *C. parapsilosis*. The MALDI-TOF MS automated system identified 60 of 63 strains compatible with multiplex PCR; He identified three separate strains detected as *C. albicans* by multiplex PCR method as *C. kefyr*, *C. tropicalis* and *C. lusitaniae*.

According to antifungal sensitivity tests; According to the broth microdilution method, all isolates with known breakpoints according to EUCAST were found to be sensitive to amphotericin B. One *C. albicans*, two *C. parapsilosis* and all *C. glabrata* isolates were moderately susceptible to

fluconazole; the remaining isolates were found to be susceptible. All isolates except one resistant *C. albicans* strain were susceptible to voriconazole. 15 of the *C. albicans* isolates and six of the *C. parapsilosis* isolates were found to be resistant to micafungin, and all *C. glabrata* strains were sensitive. Zone diameters found for amphotericin B in the disc diffusion method varied between 10-20 mm. The agreement between disk diffusion and broth microdilution methods for voriconazole was found to be 90.9% for *C. parapsilosis* and 100% for *C. albicans* and *C. tropicalis*. For fluconazole, the agreement between the two methods was 81.8% for *C. parapsilosis*, 96.8% for *C. albicans*, 100% for *C. tropicalis*, and 42.8% for *C. glabrata*. The gradient test was found to be 100% compatible with the broth microdilution method for amphotericin B. For fluconazole, the agreement between the two methods was found to be 56% for *C. albicans*, 36% for *C. parapsilosis*, 75% for *C. tropicalis* and 100% for *C. glabrata*. For voriconazole, the agreement between the two methods was found to be 25% for *C. albicans*, 73% for *C. parapsilosis*, and 62% for *C. tropicalis*. The gradient test was sensitive to micafungin in all isolates that could be evaluated. For micafungin, the agreement between the two methods was found to be 50% for *C. albicans*, 45% for *C. parapsilosis* and 100% for *C. glabrata*.

Candida species have been identified with a high rate of accuracy by traditional methods and automated systems; Compared to the multiplex PCR method, the highest compatibility rate was obtained with the BD Phoenix automated system. This was followed by the MALDI-TOF MS automated system. The disc diffusion method has been identified as an alternative method to broth microdilution in detecting antifungal resistance. Gradient testing method was found to be safe for amphotericin B.

Key words: *Candida*, antifungal resistance, broth microdilution

İÇİNDEKİLER

İçindekiler

KABUL VE ONAY	II
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XVI
TABLolar DİZİNİ	XVII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Candida</i> ’ların Tarihçesi	3
2.2. <i>Candida</i> ’ların Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması	3
2.3. Epidemiyoloji.....	4
2.4. Tıbbi Önemi Olan Bazı <i>Candida</i> ’ların Özellikleri	5
2.4.1. <i>C. albicans</i>	5
2.4.2. <i>C. dubliniensis</i>	7
2.4.3. <i>C. tropicalis</i>	8
2.4.4. <i>C. glabrata</i>	9
2.4.5. <i>C. parapsilosis</i>	10

2.4.6. <i>C. lusitaniae</i>	11
2.4.7. <i>C. krusei</i>	12
2.4.8. <i>C. kefyr</i>	13
2.4.9. <i>C. auris</i>	13
2.5. <i>Candida</i> Enfeksiyonlarında Patofizyoloji ve Risk Faktörleri	14
2.6. <i>Candida</i> ’ların Virülans Faktörleri.....	16
2.6.1. Yapışma (Adherens)	16
2.6.2. Enzimler	17
2.6.3. Değişen çevre koşullarına uyum sağlama, dimorfizm ve fenotipik değişim.....	18
2.6.4. Biyofilm üretimi.....	19
2.7. <i>Candida</i> ’ların Oluşturduğu Enfeksiyonlar	19
2.7.1. Kutanöz ve mukozal enfeksiyonlar	20
2.7.2. Dissemine kandidoz	23
2.7.3. Diğer kandidozlar.....	26
2.8. <i>Candida</i> Enfeksiyonlarında Tanı	28
2.8.1. Geleneksel yöntemler.....	28
2.8.2. Serolojik yöntemler ile tanımlama	34
2.8.3. Otomatize sistemler ile tanımlama.....	35
2.8.4. Moleküler yöntemler ile tanımlama	36
2.9. <i>Candida</i> Enfeksiyonlarında Kullanılan Antifungal Ajanlar	37

2.9.1. Ekinokandinler	37
2.9.2. Azoller	39
2.9.3. Poliyen Antifungaller	41
2.9.4. Pirimidin sentez inhibitörleri	43
2.9.5. Griseofulvin	43
2.9.6. Alilaminler	44
2.10. Antifungal İlaçlara Direnç	44
2.11. Antifungal Duyarlılık Testleri.....	47
2.11.1. Makrodilüsyon yöntemi	48
2.11.2. Mikrodilüsyon yöntemi.....	48
2.11.3. Disk difüzyon yöntemi.....	50
2.11.4. Gradient test yöntemi	51
2.11.5. Akış sitometrisi	52
2.11.6. Ticari olarak geliştirilen antifungal duyarlılık testleri	53
2.11.7. Moleküler yöntemler.....	54
3. MATERYAL VE METOD.....	55
3.1. Çalışmaya Alınacak İzolatların Seçimi.....	55
3.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri	55
3.3. Çalışmada Kullanılan Antifungal Maddeler	56
3.4. Geleneksel Yöntemlerle İdentifikasyon.....	56
3.4.1. Germ tüp testi.....	56

3.4.2. Kromojenik besiyeri ile tanımlama.....	57
3.5. Otomatize Sistemlerle İdentifikasyon	57
3.5.1. BD Phoenix™ (Becton Dickinson, ABD)	57
3.5.2. MALDI-TOF MS	58
3.6. PCR Yöntemi ile İdentifikasyon	58
3.6.1. DNA izolasyonu.....	58
3.6.2. Agaroz jel hazırlanması	61
3.6.3. 0,5X TBE hazırlanması.....	61
3.6.4. PCR Ürünlerinin Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi	62
3.7. Kullanılan Antifungal Duyarlılık Yöntemleri.....	62
3.7.1. Broth (sıvı) mikrodilüsyon yöntemi.....	62
3.7.1.1. İnokulumun hazırlanması.....	62
3.7.2. Gradient test yöntemi	78
3.7.3. Disk difüzyon yöntemi.....	78
3.8. İstatistik Analiz	79
3.9. Etik Kurul Onayı.....	79
4. BULGULAR.....	81
4.1. İzolatların Klinik ve Hasta Gruplarına Göre Dağılımı.....	81
4.2. İdentifikasyona Ait Bulgular.....	82
4.2.1. Germ tüp testi sonuçları	82
4.2.2. CHROMagar <i>Candida</i> sonuçları.....	84

4.2.3. Phoenix Otomatize Sistemine Ait Bulgular	86
4.2.4. MALDI-TOF Otomatize Sistemine Ait Bulgular	86
4.2.5. PCR Sonuçları.....	86
4.3. Antifungal Duyarlılık Sonuçları.....	94
4.3.1. Broth mikrodilüsyon sonuçları.....	94
4.3.2. Disk difüzyon sonuçları	94
4.3.3. Gradyent test sonuçları	95
5. TARTIŞMA	104
6. SONUÇLAR	117
7. KAYNAKÇA.....	118
8. ÖZGEÇMİŞ	131
9. EKLER.....	132
9.1. Etik Kurul Onayı.....	132
9.2. Orjinallik Raporu	135

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AFST	: Antifungal Sensitivity Testing
AST	: Antibiotic Susceptibility Testing
ATCC	: American Type Culture Collection
ATU	: Area of Technical Uncertainty
BMD	: Broth Mikrodilüsyon
CFU	: Colony Forming Unit
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CVC	: Central Venous Catheter
DD	: Disk Difüzyon
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonukleotid Asit
ECM	: Extracellülmatriks
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	: Food and Drug Administration
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
I	: Intermediate
ID	: İntrasek Direnç
IE	: Infective Endocarditis
IE	: Insufficient Evidence
IYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
KK	: Kalite Kontrol
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
MALDI-TOF-MS	: Matris Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry
MDR	: Multi-drug Resistance
MDY	: Mikrodilüsyon Yöntemi
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MOPS	: (N-morfolino) propansülfonik asit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAC	: Non-Albicans <i>Candida</i>
NACI	: Sodyum Klorür
NOAH	: Sodyum Hidroksit
PCR	: Polymerase Chain Reaction
R	: Resistant
RNA	: Ribonukleotid Asit
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute
S	: Sensitive
SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar
SDD	: Dose Dependent Sensitive

SGLT	: Sodyum Glukoz ko-transporter
TBE	: Tris Borat EDTA
UDP	: Uridindifosfat
WHO	: World Health Organization
WT	: Wild Type
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi



ŞEKİLLERDİZİNİ

Şekil 1. Germ tüp yapısı (Yücel ve Kantarcıoğlu, 2014)	6
Şekil 2. Yalancı germ tüp yapısı (Yücel ve Kantarcıoğlu, 2014).....	6
Şekil 3. Klamidospor yapısı. Hiflerin ucunda klamidosporlar (Yücel ve Kantarcıoğlu, 2014).....	7
Şekil 4. Germ tüp yapısı (Atalay ve ark., 2012).....	30
Şekil 5. Mısır unlu tween-80 agarda farklı <i>Candida</i> türlerinin oluşturduğu morfolojiler a: <i>C. albicans</i> , b: <i>C. glabrata</i> (Alam ve ark., 2014)	31
Şekil 6. Farklı <i>Candida</i> türlerinin CHROMagar <i>Candida</i> besiyerinde oluşturduğu farklı renk ve morfolojiler (Sahand ve ark., 2005).....	32
Şekil 7. CHROMagar <i>Candida</i> besiyeri ile farklı <i>Candida</i> türlerinin oluşturduğu farklı renk ve morfolojiler (Jain ve ark., 2012)	57
Şekil 8. Germ tüp çalışma sonuçları. A: Germ tüp pozitif, B: Germ tüp negatif, C: Yalancı germ tüp (ok işareti boyun kısmındaki boğumlanmayı göstermektedir).	83
Şekil 9. CHROMagar <i>Candida</i> sonuçları	85
Şekil 10. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (1-15. suşlar).....	87
Şekil 11. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (16-28. Suşlar).....	87
Şekil 12. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (29-42. suşlar).....	88
Şekil 13. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (43-55. suşlar).....	88
Şekil 14. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (56-62. suşlar).....	89
Şekil 15. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (21, 35, 50 ve 63. suşlar) .	89
Şekil 16. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (32. suş)	90
Şekil 17. <i>Candida</i> izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (3, 27 ve 30. suşlar)	90
Şekil 18. Gradient ve disk difüzyon yöntemleriyle antifungal duyarlılığın belirlenmesi	101

TABLOLARDİZİNİ

Tablo 1. CLSI ve EUCAST'e göre broth mikrodilüsyon yöntemleri arasındaki temel farklılıkların karşılaştırılması.....	49
Tablo 2. <i>Candida</i> türleri için kullanılan primerlerin baz dizilimleri ve uzunluğu	60
Tablo 3. <i>Candida</i> türlerini tanımlamak için kullanılan PCR karışımının içeriği.....	60
Tablo 4. <i>Candida</i> türlerini tanımlamak için PCR döngü aşamaları	61
Tablo 5. EUCAST'e göre Amfoterisin-B için plak hazırlama	65
Tablo 6. EUCAST'e göre Flukonazol için plak hazırlama.....	68
Tablo 8. EUCAST'e göre Vorikonazol için plak hazırlama.....	70
Tablo 9. EUCAST'e göre Mikafungin için plak hazırlama.....	73
Tablo 10. EUCAST'e göre Antifungal MİK Değerleri	75
Tablo 11. CLSI'ye Göre Antifungal MİK Değerleri	76
Tablo 12. CLSI'ye Göre Antifungal Zon Çapları.....	76
Tablo 13. <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	77
Tablo 14. <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	77
Tablo 15. İzolatların cinsiyete göre dağılımı	81
Tablo 16. İzolatların yaş gruplarına göre dağılımı.....	81
Tablo 17. İzolatların kliniklere göre dağılımı	82
Tablo 18. Tanı testlerinin karşılaştırılması.....	92
Tablo 19. İzolatların mikrodilüsyon yöntemi, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan MİK değerleri	96
Tablo 20. İzolatların tür düzeyinde broth mikrodilüsyonla bulunan MİK değerlerine göre dağılımı.....	98
Tablo 21. Mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan antifungal değerlerinin kategorilendirilmesi.....	99
Tablo 22. Mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan antifungal değerlerinin tür düzeyinde kategorilendirilmesi.....	102
Tablo 23. Mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan antifungal değerlerinin karşılaştırması.....	103

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Mantar enfeksiyonları, duyarlı konakçılar arasındaki görülme sıklığının artması ve direnç özellikleri nedeniyle son birkaç dekatta daha fazla ilgi görmektedir. Bunlar arasında *Candida* enfeksiyonları en yaygın olanlarıdır(Evren ve ark., 2022).

Candida'lar, tıbbi açıdan önemli mantarların en büyük cinsidir. Üyelerinin çoğu insan vücudunda zararsız bir şekilde yaşayan komensaller olsa da bazıları fırsatçı ve tehlikeli derecede istilacıdır. Bunlar, iç organları ve kan dolaşımını etkileyen şiddetli kandidiyazis ve kandidemiye neden olma yeteneğine sahiptir (Lorenzo-Villegas ve ark.,2023).

Candida suşları, bağışıklık sistemi yeterli konakçılar için patojenik olmayan mikrobiyolojik ajanlar olarak kabul edilmelerine rağmen, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda yüksek morbidite ve mortaliteye sahip ciddi enfeksiyonların önemli nedenleridir(Evren ve ark.,2022).

Candida'ya bağlı kan dolaşımı enfeksiyonları, yaklaşık %50'lik bir ölüm oranıyla sepsiseminin dördüncü en sık nedeni olarak kabul edilmektedir (Ahmed ve ark., 2002).

Candida'nın tür düzeyinde tanımlanması, uygun antifungal ilaçların seçimini sağlayan önemli bir adımdır. *Candida* türlerinin dağılımındaki değişiklikler, farklı türler arasında antifungal ajanlara karşı duyarlılıktaki farklılıklar nedeniyle tedavi önerilerini etkileyebilir. İnvaziv kandidiyazis tedavisinde kullanılabilen antifungal ajanlar polienler, azol ve en son ekinokandin sınıfıyla sınırlıdır. Birkaç antifungal sınıfına duyarsız olan çoklu ilaca dirençli suşların ortaya çıkması dünya çapında büyük bir endişe kaynağıdır. Enfeksiyonların yaygınlık oranı ve antifungal duyarlılık testi üzerine yapılan çalışmalar, direncin ortaya çıkmasını sınırlayan uygun bir tedavi stratejisinin seçilmesine yardımcı olabilmektedir(El-Ganiny ve ark.,2021).

Son yıllarda, mantar hastalıklarındaki kademeli artış ve ampirik antifungal ilaçların yaygın kullanımı, dirençli mantar türlerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle, uygun ve etkili antifungal tedaviyi seçmek için in vitro antifungal duyarlılık testi gereksinimleri artmaktadır. Bu testlerin kullanılmasının temel amacı,

enfeksiyonların tedavisi sırasında klinik başarıyı öngörmeyi sağlamaktır(Türk Dağı ve ark., 2021).

Yüksek morbidite ve mortaliteyle seyreden *Candida* enfeksiyonlarının ve bu enfeksiyonlara paralel olarak antifungal direncin artışı nedeniyle bu çalışmamızda Van YYÜ Dursun Odabaş Tıp Merkezine başvuran hastalardan alınan kan kültür örneklerinden izole edilen *Candida* izolatlarının geleneksel yöntemler, otomatize sistemler ve PCR yöntemiyle tür düzeyinde tanımlanması ve standart yöntem olan broth mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle antifungal direnç profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Candida'ların Tarihçesi

Mikoloji kelimesi Yunancada şapkalı mantar anlamına gelen mykes kelimesinden türetilmiştir (McCullough ve ark.,1996). Mantarlarla ilgili ilk bilgiler MÖ IV. yüzyıla, Hipokrat dönemine kadar uzanmaktadır. Hipokrat ağızdaki pamukçuğu tanımlayarak *Candida'lar* ile ilgili ilk bilgileri sunmuştur. 1771 yılında ise Rosen von Rosenstein pamukçuğun invazyona sebep olup akciğerlere yerleştiğini göstermiştir. 1839 yılında Bernard Langenbeck özefageal mukozadan bir *Candida* türünü izole etmiş fakat bu mikroorganizmayı parazit olarak tanımlamıştır. 1839 yılında Langenbeck'in izole ettiği bu mikroorganizma 1842 yılında Gruby tarafından *Sporotrichum* olarak tanımlanmıştır (Calderone, 2002; Edwards, 2010). 1847 yılında mantarlar Robin tarafından *Oidium albicans* olarak adlandırılmıştır. 1923'te ise Roth Berkhout pamukçuk etkeni olan mikroorganizmaya *Candida* ismini vermiştir. Daha önce yüzeysel ve önemsiz görülen *Candida* enfeksiyonlarının 1960'lardan itibaren tanı ve tedavideki ilerlemelerle önemli bir mortalite ve morbidite etkeni olduğu ortaya konmuştur (Hughes ve Flynn,2004; Smith ve Steinbach, 2008).

2.2. Candida'ların Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması

Candida'lar üreme özelliklerine göre eşeyli ve eşeysiz olarak sınıflandırılırlar. Eşeysiz olarak üreyen *Candida* türleri mantarların Deuteromycota bölümü, Blastomycetes sınıfı, Cryptococcales takımının Cryptococcaceae ailesinde yer alırken eşeyli üreme gösteren *Candida'lar* mantarların Ascomycotina bölümü, Ascomycetes sınıfı, Saccaromycetales takımının Saccaromycetaceae ailesinde bulunur (4). Günümüze kadar *Candida'larda* yaklaşık 300 tür tanımlanmış olmasına karşın bunlardan çok azı klinik öneme sahiptir. Klinik öneme sahip *Candida* türlerinden bazıları;*C. albicans*, *C. dublinensis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata*ve *C. guilliermondii*'dir (Takashima ve Sugita,2022).

Candida'ların tamamı maya morfolojisinde, heterojen bir mantar grubudur. Makroskobik olarak Sabouraud dektroz agar (SDA) besiyerinde *Candida* kolonileri krem ila sarı renktedir. Türlerle bağlı olarak kolonidokusu pürüzsüz,

parlak, kuru, buruşuk veya donuk olabilir. Optimum besin maddelerine sahip standart koşullar altında maya, küre şeklinde, oval şekilli ve boyutları yaklaşık 2–5 x 3–7 µm olan tomurcuklanan hücreler (blastokonidia) şeklinde büyür (Silva ve ark., 2012; Walsh ve ark., 2020). Tüm *Candida*’lar tek tek, zincir oluşturarak ya da kümeler halinde maya hücreleri meydana getirirler. *Candida*’lar hem pseudohif (yalancı hif) hem de gerçek hif yapısı oluşturur (Walsh ve ark.,2020). *C. albicans*ve *C. dubliniensis* hem gerçek hif hem de pseudohif oluşturabilirken diğer türler pseudohif oluşturur (Silva ve ark., 2012).

2.3. Epidemiyoloji

Candida’lar toprak, su ve besinlerde bulunabilen; insanlarda cilt, gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve genitoüriner sistem mukozalarının florasında bulunan maya mantarlarıdır (Seyedmousavi ve ark., 2015). *Candida*’lar klinik örneklerden en çok izole edilen maya türleridir (Procop ve ark.,2017).*Candida*’ların 300’den fazla türü bulunmasına karşın bunlardan çok azı klinik öneme sahiptir. Bunlardan bazıları:*C. albicans*,*C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata*ve *C. guilliermondii*’dir (Takashima ve Sugita, 2022).

İnsanlarda mantar enfeksiyonları yaygındır ve hafif yüzeysel enfeksiyonlardan yaşamı tehdit eden invaziv enfeksiyonlara kadar değişir (Li ve ark., 2023). İnvaziv fungal enfeksiyonların ensık nedeni *Candida*’lardır. Kandidemiler ise invaziv kandidozun en sık görülen formudur (Erdem ve ark., 2012). Kandidemi dünyada hastanede yatan hastalar arasında en sık görülen mantar hastalığıdır ve en az bir kan kültürünün pozitif görülmesi tanı için yeterlidir (Li ve ark., 2023). *Candida*’lar kan dolaşımı enfeksiyonlarının en sık nedenleri arasındadır (Jzunhu ve ark., 2021). Kandidemi büyük oranda mortalite ve morbidite ile ilişkilidir (Zeng ve ark., 2020). Kandidemiye yol açan türlerin dağılımı coğrafi bölge ve hasta popülasyonuna göre farklılık göstermektedir. Kandidemilerin en sık sebebi *C. albicans*siken albicans dışı *Candida*’ların sebep olduğu kandidemilerin sıklığı artmaktadır. *Candida* izolatlarının göreceli oranlarındaki değişkenlik, klinik durum veya yaş, altta yatan komorbiditeler, antifungal ajanların yaygın kullanımı ve coğrafya gibi risk faktörleriyle ilişkilendirilmiştir. *Candidaalbicans* kandideminin birincil nedenidir ve birçok ülkede en yaygın türlerden biridir; *Candidaglabrata* ABD ve Avrupa’da ikinci veya üçüncü en

yaygın türdür ve *Candida parapsilosis* Güney Amerika, Güney Avrupa ve Asya'daki yenidoğanlarda baskındır (Erdem ve ark., 2012; Zeng ve ark., 2020).*C.auris*gibi yeni türlerin ortaya çıkması, antifungal direncinin artışı; komorbidite, yaş, malignite gibi hastaya bağlı faktörler ve coğrafi dağılım *albicans* dışı türlerin artışında rol oynamaktadır (Erdem ve ark., 2012).

2.4.Tıbbi Önemi Olan Bazı *Candida*'ların Özellikleri

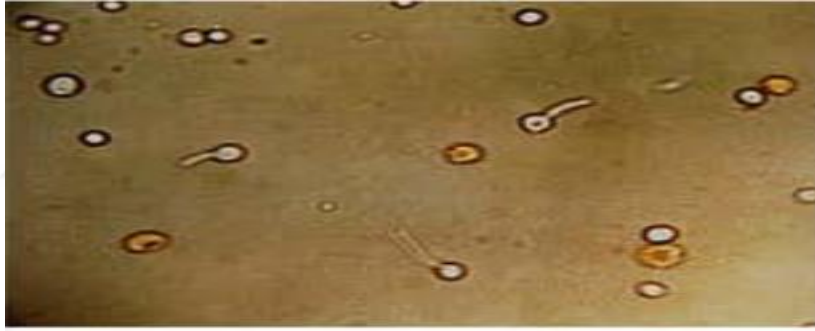
2.4.1. *C. albicans*

*C. albicans*insanlarda enfeksiyona neden olan çok az sayıdaki mantar türünden biridir. Çoğu insanın gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem ve cildini asemptomatik olarak kolonize eder. Sağlıklı bağışıklık sistemine sahip bireylerde *C. albicans*genellikle zararsızdır ve yerel mikrobiyotanın diğer üyeleriyle dengede tutulur. Bununla birlikte, konakçı mikrobiyotasındaki değişiklikler, konakçının immün yanıtındaki değişiklikler veya yerel çevredeki değişiklikler *C. albicans*'ın aşırı büyümesine ve enfeksiyona neden olmasına yol açabilir. Bu enfeksiyonlar; pamukçuk, vajinal mantar enfeksiyonları gibi yüzeysel, mukozal ve dermal enfeksiyonlardan, oldukça yüksek ölüm oranlarına sahip hematogen olarak yayılan enfeksiyonlara kadar değişir (Nobile ve Johnson, 2015).

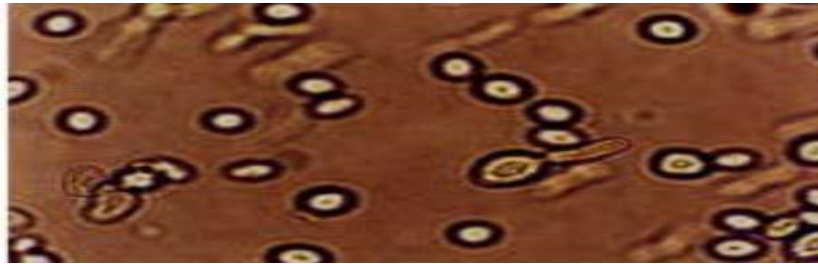
C. albicans,hastane kaynaklı enfeksiyonların önde gelen nedenlerindendir.Tüm sepsis vakalarının %15'ini oluşturur ve klinik ortamlardaki kan dolaşımı enfeksiyonlarının %40'ının nedenidir. *C. albicans*hem bağışıklığı yeterli hem de bağışıklığı baskılanmış bireyleri enfekte edebilse de neden olduğu enfeksiyonlar özellikle AIDS hastalarında, kanser kemoterapisi veya bağışıklık sistemini baskılayan tedaviler gören hastalarda ve tıbbi cihaz implantasyonu olan bireylerde ciddi tablolara yol açar (Gulati ve Nobile, 2015).

*C. albicans*türleri kültürde hızlı ürer ve 3 gün gibi kısa bir sürede olgunlaşır (Walsh ve ark., 2020). Yaşlı kültürlerde, genellikle kolonilerin köşelerinden yayılan yıldız patlaması şeklinde diken benzeri bir görünüm oluşturur. CHROMagar besiyerinde sarı-yeşil ila mavi-yeşil renkte koloniler oluşturur (Procop ve ark., 2017).

Germ tüp, *C. albicans* tarafından üretilir ve gerçek germ tüpün boyun kısmında (hifal uzantısının ana hücre ile bağlantılı olduğu yer) bir daralma bulunmaz. Germ tüp oluşumu gözlendiğinde *C. albicans*  n tanımlaması yapılabilir. Tüm *C. albicans* suşları germ tüp oluşurmaz. Bundan dolayı germ tüp oluşumu g zlenmediğinde kültür biyokimyasal testlere tabi tutulmalı ve mısır unlu agara ekimi yapılmalıdır.  nk basyon s resinin sonunda mısır unlu agar mikroskopik olarak klamidospor ve düzenli aralıklı blastokonidya varlığı yönünden incelenir. Mikroskopik olarak bu yapılar mevcut olduğu takdirde de *C. albicans*  n tanımlaması yapılır. Eğer germ tüp testi negatif ve mısır unlu agarda klamidospor oluşumu yok ise izole edilen maya hücresi muhtemelen *C. albicans* dışında bir türdür. *C. albicans* suşlarının yaklaşık %5'i germ tüp oluşurmaz; buna karşın klamidospor da oluşurmaz *C. albicans* suşu yok denecek kadar azdır (Procop ve ark., 2017). şekil 1'de germ tüp, şekil 2'de yalancı germ tüp yapısı gösterilmiştir.



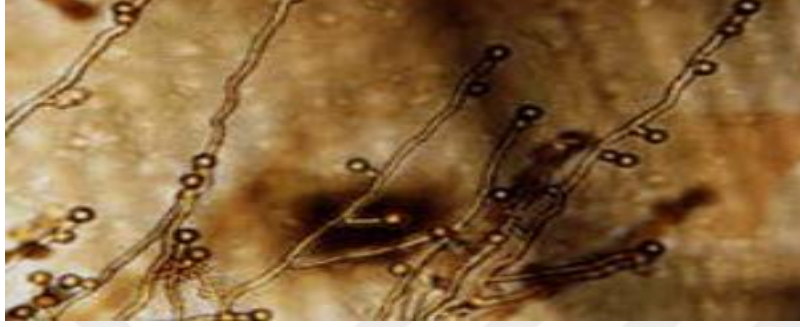
şekil 1. Germ tüp yapısı (Yücel ve Kantarcıoğlu, 2014)



şekil 2. Yalancı germ tüp yapısı (Yücel ve Kantarcıoğlu, 2014)

Mısır unlu tween-80 agarda *C. albicans* türleri blastokonidyumlar, ps dohifler (yalancı hifler), çok nadir olarak gerçek hifler ve klamidospor oluşurabilir. Mısır unlu tween-80 agar besince fakir bir ortamdır ve maya hücrelerinin, iyi yedek besin

depolayan klamidospor oluşturmasına yol açar. *C. albicans* türleri mısır unlu tween-80 agarda iri, tekli ve kalın çeperli terminal klamidosporlar oluşturur (Yücel ve Kantarcıoğlu, 2014; Walsh ve ark., 2020).şekil 3'te hiflerin ucunda tek tek dizilim gösteren klamidosporlar görülmektedir.



şekil 3. Klamidospor yapısı. Hiflerin ucunda klamidosporlar (Yücel ve Kantarcıoğlu, 2014)

2.4.2.C. dubliniensis

Candida dubliniensis, ilk kez 1995 yılında HIV ile enfekte bireylerin ağız boşluğunda tanımlanan dimorfik bir mayadır. Fenotipik olarak *C. albicans*'a benzese de *C. dubliniensis*'in fosfolipaz, aspartil proteinaz ve virlans genlerinin ekspresyonunun azalması nedeniyle daha az virlan olduğu düşünülmektedir. *C. dubliniensis*, bağışıklık sistemi baskılanmış konakların orofarinks ve solunum yollarında kolonileşir ve kanda, yumuşak dokuda, ürogenital, gastrointestinal ve korneada firsat bir patojen olarak görülmektedir (Tahir ve ark., 2020).

C. dubliniensis klinik olarak önemli yaklaşık 150 *Candida* türü arasında daha az yaygın olan bir türdür ve insanlardan izole edilen *Candida* türlerinin %0,1-1'ini oluşturur. Mikroskopik morfolojideki fenotipik benzerliği ve psödohif, gerçek hif ve klamidiaspor üretimi nedeniyle daha önce *C. albicans* olarak kabul edilmiştir. Nadir olmasına rağmen, *C. dubliniensis* potansiyel olarak invazif enfeksiyonlara neden olur (Kakehi ve ark., 2020).

C. dubliniensis ağız boşluğunun normal florasında bulunur ancak diğer anatomik bölgeleri de kolonize edebilir. *C. dubliniensis*, *Candida albicans* ile yakından ilişkilidir. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* aynı in vitro antifungal duyarlılık modellerini paylaşır.

CLSI/EUCAST referans yöntemleri veya ticari yöntemlerle belirlenen klinik sınır değerleri ve Epidemiyolojik Kesme değerleri benzerdir, Antifungallere karşı kazanılmış direnç, daha az sıklıkla da olsa tıpkı *C. albicans*'ta olduğu gibi *C.dubliniensis*'te de rapor edilmiştir. Yakın zamana kadar *C.dubliniensis*'in klinik laboratuvarlarda tanımlanması Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu – Uçuş Süresinin (MALDI-TOF) kullanılmasıyla kolaylaşmıştır(Ayadi ve ark., 2020).

C. dubliniensis kolonileri *C. albicans*'da olduğu gibi kültürde hızlı ürer ve üç gün gibi kısa bir sürede olgunlaşır. CHROMagar *Candida* besiyerinde kolonileri *C. albicans*'da olduğu gibi yeşildir ancak *C. albicans*'nkinden daha koyu bir yeşildir (Walsh ve ark., 2020).

Aşağıdaki karakteristik özellikler *C. dubliniensis*'in *C. albicans*'dan ayırımında yardımcıdır:

- 45° C'de üreyememe
- Daha bol miktarda klamidospore üretimi
- Özel besiyerinde üreme
- Karbonhidrat asimilasyon profili
- DNA dizisi veya MALDI-TOF paterni
- Germ tüp pozitif fakat *Candida albicans* için yapılan PNA FISH testinin negatif olması (Procop ve ark., 2017).

2.4.3.C. *tropicalis*

C. tropicalis, insanlarda hem yüzeysel hem de sistemik enfeksiyonlara neden olabilen yaygın bir fırsatçı maya patojenidir. *C. tropicalis* ilk olarak 1910 yılında mantar bronşiti olan bir hastadan izole edilmiştir. O zamandan beri bu maya, toprak, su, çeşitli ağaçlar ve bitki kalıntılarından yanı sıra insanlardan ve diğer hayvanlardan da izole edilmiştir. Geniş ekolojik dağılımına benzer şekilde, *C. tropicalis* coğrafi olarak da geniş bir dağılıma sahiptir ve özellikle Güneydoğu Asya, Afrika, Orta ve Güney Amerika gibi tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygındır. *C. tropicalis* insanlarda cilt, ağız boşluğu, mide-bağırsak kanalı, dolaşım sistemi ve ürogenital sistem gibi çeşitli vücut bölgelerinden izole edilmiştir. Sistemik kandidiyazi olan hastalar arasında *C.*

tropicalis , özellikle hematolojik maligniteleri olanlarda genellikle ikinci veya üçüncü en yaygın nedensel ajan olarak rapor edilmektedir. *C. tropicalis*'in neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları, %41-61 arasında değişen yüksek ölüm oranlarıyla ilişkilidir (Xu, 2021)

C. tropicalis, sabouraud dekstroza agar (SDA) besiyerinde krem veya beyaz renkte koloniler oluşturur. Kolonileri kremsi dokuya ve pürüzsüz görünüme sahiptir ve hafif kırışık kenarlara sahip olabilir ancak onu diğer *Candida* türlerinden ayırmak imkansızdır. Kültürde hızlı ürer ve üç günde olgunlaşır. CHROMagar *Candida* besiyerinde 24-72 saat sonra metalik mavi renkte koloniler oluşturur ve bu, olası tanımlama için kullanılabilir (Zuza-Alves ve ark., 2017; Walsh ve ark., 2020; Lima ve ark., 2022).

Mısır unlu tween-80 agar besiyerinde çiftler halinde veya tek başına gruplandırılabilen küresel veya oval blastokonidiler, dallanmış zincirlerde psödohifalar ve hatta gerçek hifler gözlemlenebilir. Biyokimyasal özelliklere ilişkin olarak, *C. tropicalis*'in galaktoz, sukroz, maltoz ve trehalozu fermente edebildiği, ayrıca bunları ve diğer karbonhidratları oksidatif yolla asimile edebildiği bilinmektedir (Zuza-Alves ve ark., 2017).

Germ tüp gerçek hif yapısının ilk başlangıç fazıdır ve başlangıç yerinde yalancı hif için karakteristik olan daralma bulunmaz. *C. tropicalis* eğer dikkatli bir şekilde hifal uzamanın başlangıcı incelenmez ise, germ tüp ile karıştırılabilen yalancı germ tüp oluşturur (Procop ve ark., 2017).

2.4.4.C. glabrata

Candida glabrata son yıllarda görülme sıklığı artan fırsatçı bir maya patojenidir. Cins adına rağmen, bu tür aslında *C. albicans* gibi diğer *Candida* patojenlerinden çok, tomurcuklanan *Saccharomyces cerevisiae* mayasıyla daha yakından ilişkilidir (Gabaldón ve Fairhead, 2019).

C. glabrata, invaziv kandidiyaza neden olan yaygın bir patojendir. *Albicans* dışı *Candida* enfeksiyonları arasında *C. glabrata* enfeksiyonları en yüksek ölüm oranlarıyla ilişkilidir (Cai ve ark., 2020).

C. glabrata, hastanelerde dirençten en sık sorumlu olan türdür ve *Candida* enfeksiyonlarından en sık izole edilen ikinci türdür. *C. glabrata*'nın görülme sıklığı erişkinlerde çocuklara ve yenidoğanlara göre daha yüksektir. Mayadan hifaya geçememesine rağmen *C. glabrata* proteaz enzimleri ve kalın biyofilmler de dahil olmak üzere birçok virülans faktörüne sahiptir. Konakçının bağışıklık sisteminden kaçaranca ciddi hasara neden olmadan varlığını sürdürür (Pristov ve Ghannoum, 2019).

C. glabrata, diğer *Candida* türlerine göre biraz daha yavaş ürer. SDA'da *C. glabrata* parlak, pürüzsüz ve krem renkli koloniler oluşturur. (Silva ve ark., 2012) Kolesterolün üremesini arttırdığı veya üreme için kolesterole bağımlı olan izolatlar tespit edilmiştir. Özel besiyerleri olmaksızın MacConkey agar üzerinde küçük koloniler olarak görünebilir veya rutin mikolojik besiyerlerinde sadece bir safra diski etrafında ürer. Bu organizmanın ergosterol ve bunun sentetik yolağını hedefleyen antifungallere karşı artan direnç göstermeleri olasıdır. Bu nedenle kültür besiyerlerine flukonazol ilave edilmesi bu organizmanın saptanma olasılığını artırabilir. Mısır unlu tween-80 agarda küçük, oval maya hücreleri görülür ve bunlar da tekli terminal tomurcuklanma yapar. Sıkı kümeler oluştururlar. Yalancı hifler oluşmaz, nadiren birkaç kısa zincir oluşturan oval hücreler görülebilir (Procop ve ark., 2017; Walsh ve ark., 2020).

C. glabrata, yalnızca glukoz ve trehalozu fermente ve asimile eder; bu durum, sakkarozun dikkate değer istisnası dışında birtakım şekerleri fermente eden ve/veya asimile eden *C. albicans*'la tezat oluşturur. CHROMagar *Candida* besiyerinde *C. glabrata* kolonileri, mavi-yeşil olan *C. albicans* kolonilerinin aksine beyaz, pembe veya mor görünür (Silva ve ark., 2012).

2.4.5. *C. parapsilosis*

C. parapsilosis, doğada yaygın olarak bulunur ve sıklıkla evcil hayvanlar, böcekler, toprak ve deniz ortamları gibi çeşitli insan dışı kaynaklardan izole edilir (Branco ve ark., 2023). *C. parapsilosis*, insan elinden en sık izole edilen mantarlardan biridir ve hastanede yatan hastaların normalde steril vücut bölgelerinden en sık izole edilen ikinci *Candida* türüdür. Bununla birlikte, *C. parapsilosis* fungemisi, *C. albicans* ve *C. glabrata*'nın neden olduğu fungemiyle karşılaştırıldığında daha düşük bir ölüm oranına (%4) sahiptir (Silva ve ark., 2012).

Mısır unlu agar preparatlarında çalı görünümüne benzeyen, ekim çizgilerine bitişik, çok sayıda fokal alanı olan satellit üreme paterninin gözlenmesi, *C. parapsilosis*'in olası tanımlaması için anahtardır (Procop ve ark., 2017). *C. parapsilosis* hızlı ürer ve 3 günde olgunlaşır. Kremi, bazen dantel şeklinde bir görünüm oluşturur. Mısır unlu tween-80 agarda yalancı hif boyunca tek tek veya küçük kümeler halinde blastokonidyumlar görülür. En çok göze çarpan özellikleri nispeten kısa olan yalancı hiflerin (*C. tropicalis*'inkilerle karşılaştırıldığında) yamuk veya kavisli görünümü ve dev hücreler olarak adlandırılan iri hifal elemanların bazen bulunmasıdır (Walsh ve ark., 2020). *C. parapsilosis* izolatları CHROMagar *Candida* besiyerinde kirli beyazdan pembeye kadar çeşitli tonlarda görülür (Nü ve ark., 2003).

C. parapsilosis'in biyofilm üretmesi total parenteral beslenme alan santral venöz kateter takılan hastalarda yaygındır. *C. parapsilosis*'in biyofilm yapısı klinik izolatlar arasında yüksek değişkenlik göstermektedir. *C. parapsilosis* gerçek hif oluşturmadığı için biyofilmi, diğer *Candida* türlerinden daha düşük bir hacim kaplayan, toplanmış blastokonidia ve psödohifadan oluşur. Santralvenöz kateterin veya diğer kalıcı cihazların uzun süreli kullanımına ihtiyaç duyan hastalar, *C. parapsilosis*'in protez yüzeylere ve implante edilmiş tıbbi cihazlara yapışma yeteneği nedeniyle yüksek risk altındadır. Bu gibi durumlarda biyofilm oluşumu tipik olarak bağlanmadan hemen sonra başlar. Yapı olgunlaştığında, antifungallerin hücrelere ulaşma yeteneği büyük ölçüde azalır ve bu da konakçıda potansiyel olarak yaşamı tehdit eden sonuçlar doğurur (Branco ve ark.,2023).

2.4.6.C. lusitaniae

C. lusitaniae nadir görülen fırsatçı bir patojendir ve en yaygın risk faktörleri arasında genellikle altta yatan bir malignite bulunan bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar yer alır. Genellikle amfoterisin B'ye direnç gösterir ve ekinokandinler birinci basamak tedavi olarak kabul edilir. *C. lusitaniae* fungemisi, altta yatan malignitesi olan ve/veya kemoterapi gören hastaları etkileyen çok nadir bir hastalıktır. *C. lusitaniae* hızla antifungal direnç geliştirir. Biyofilm oluşumu meydana geldiğinde antifungal direnç yeteneği artar (Raja ve Park, 2021).

C. lusitaniae, oval, elipsoidal veya uzun maya hücreleri üreten dimorfik bir *Candida* türüdür. Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerindeki kolonileri beyaz ile krem renginde, yumuşak ve pürüzsüz görünümündedir. CHROMagar'da koloniler pembemsi ile mor bir renk oluşturur. Bu özelliğiyle morfolojik olarak benzer olduğu *C. tropicalis*'ten ayrımı sağlanmış olur (Khan ve ark., 2019; Mendoza-Reyes ve ark.,2022).

C. lusitaniae gerçek hif geliştirme yeteneğine sahip değildir, yalnızca psöдохif geliştirir. Mısır unlu tween-80 agarda yalancı hifler ince, dallanmış ve kavisli görünümündedir ve uzamış blastokonidyumlardan oluşan kısa zincirler vardır. (Mendoza-Reyes ve ark.,2022;Walsh ve ark., 2020).

C. lusitaniae, morfolojik olarak *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*e benzer, fakat sellobiyozu fermente etme, ramnozu da genellikle asimile etme yeteneği ile ayırt edilir (Walsh ve ark., 2020).

2.4.7.C. krusei

Candida krusei fırsatçı bir mantar patojenidir. Yüksek prevalansta invazif kandidiyazis ve kandidemiye neden olan, *albicans* dışı *Candida* türleri (NAC) arasında en sık görülen dördüncü türdür. *C. krusei*, diğer *Candida* türleriyle karşılaştırıldığında en düşük 90 günlük hayatta kalma oranına sahip bir mayadır. Enfeksiyonlar sıklıkla bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ortaya çıkar (Van Haren ve ark.,2022; Fadilah ve ark., 2023).

C. krusei kültürde hızlı ürer, 3 gün gibi kısa bir sürede olgunlaşır. Yaklaşık 5–8 mm çapında yuvarlak, kremi ve pürüzsüz beyazımsı koloniler oluşturur. Kolonileri yassı ve kuru görünümlüdür. *C. krusei*, 25 µm uzunluğa sahip olabilen silindirik maya hücreleri üretir. Bu maya hücreleri diğer *Candida* türlerinin küresel veya oval şekliyle tezat oluşturan uzun taneli pirince benzerler. CHROMagar *Candida* agardaki kolonileri pürüklüdür, ortası pembe ve kenarları beyaz renklidir. *C. krusei* de *C. albicans* gibi termodimorfizm gösterir; 37°C'de büyüdüğünde hifler, daha düşük sıcaklıklarda inkübe edildiğinde ise blastokonidia ve psöдохif üretir. *C. krusei*, gerçek hif oluşturabilen bir türdür. Mısır unlu tween-80 agarda çapraz kibrit çöplerine veya ağaca benzer

görünümdeki uzun blastokonidyumların bulunduğu yalancı hifler oluşturur(Walsh ve ark., 2020;Gómez-Gaviria ve ark.,2020).

C. krusei, sistemik hastalığın yanı sıra yüzeysel enfeksiyonlarla da ilişkilidir. Bu organizma bronkopnömoni ve nadir olarak vulvovajinal kandidiyazise neden olabilir.*C. krusei*, *Candida* enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılan bir antifungal olan flukonazole karşı doğal direnci olan eşsiz türler arasındadır(Gómez-Gaviria ve ark., 2020;Fadilah ve ark., 2023).

2.4.8.C. kefy

Candidakefy, son yıllarda daha sık görülen, yeni ortaya çıkan ve nadir görülen bir non-albicans *Candida* türüdür. Bu mantar patojeni histoloji, PCR ve DNA dizilimi ile teşhis edilir ve hem yüzeysel hem de sistemik enfeksiyonlara sebep olabilir. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyonlar büyük endişe kaynağıdır. *C. kefy*, onkohematolojik maligniteli olgularda ortaya çıkan bir enfeksiyon ajanıdır. Onkohematoloji servislerinden diğer servislere göre daha sık izole edilmektedir. Bu türler azollere, ekinokandinlere, amfoterisin B ve flusitozine duyarlıdır. Bağışıklığı baskılanmış konakçıda bu patojenin baskınlığının nedeni hala bilinmemektedir(Jyothi ve ark., 2021;Kumar ve ark.,2022).*C. kefy* gastrointestinal sistemde yaşar ve bu türü barındıran süt ürünlerinin tüketimiyle ilişkilidir (Reda ve ark.,2022).

C. kefy, besiyerinde hızlı ürer ve üç gün gibi kısa bir sürede olgunlaşır. Mısır unlu tween-80 agarda karakteristik olarak birbirine paralel dizilim gösteren, derede yüzen kütüklere benzer görüntü sergileyen uzun blastokonidyumlar ile yalancı hifler oluşturur. Blastokonidyumların üreme noktalarının ağaç dallarına benzer şekilde sıralı dizilim göstermesi dışında *C. krusei* de benzer patern oluşturur. Bu iki türün ayrımının yapılmasında karbonhidrat asimilasyon testleri gerekli olabilir (Walsh ve ark 2020,Procop ve ark., 2017).

2.4.9.C. auris

Candida auris, *Candida* cinsine ait bir maya türüdür. İlk olarak 2009 yılında Japonya'da bildirilen *Candidaauris*, beş kıtada izole edilen yeni ortaya çıkan bir patojendir(Jeffery-Smith ve ark., 2018).

C. auris, CHROMagar'da soluktan koyu pembeye ve nadiren bej rengine kadar değişen çok sayıda renk morfları sergileyebilir ve inkübasyon süresi uzatılırsa koloni rengi kırmızıya dönebilir. Sabouraud dekstroz agarda *C. auris* pürüzsüz ve beyaz ila krem renginde koloniler üretir. *C.auris* suşu 40°C'deyi gelişir ancak 42°C'deyavaş büyüme gösterir ve %0,01 sikloheksimit varlığında büyüme göstermez. Tek başına, çiftler halinde veya gruplar halinde oluşabilen oval veya uzun maya hücreleri oluşturur. *C. auris* nadiren hif veya psödohif oluşturur ve germ tüp yapısı oluşturmaz (Jeffery-Smith ve ark., 2018; Walsh ve ark 2020).

Bir hastadan diğerine yayılma yeteneği ve cansız yüzeylerde hayatta kalma yeteneği, *C. auris*'i özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastane salgınlarından sorumlu kılmaktadır.*C. auris*'in virülans faktörlerinden bazıları, fosfolipazlar ve aspartik proteazlar gibi enzimler ve adezin üretimi sayesinde biyofilm oluşturma yeteneğidir. Biyofilm üretimi, *C.auris*'in hastaların cildinde, özellikle koltuk altı ve kasık bölgelerinde ve idrar sondası veya santral venöz kateter (CVC) gibi çok sayıda sağlık cihazında kolonize olmasına olanak tanır. Biyofilm, *C. auris*'in hastane ortamında da uzun bir süre boyunca hayatta kalmasını sağlar. Ayrıca *C. auris* tarafından üretilen biyofilm, kuaterner amonyak bileşikler dahil yaygın olarak kullanılan dezenfektanlara karşı direnç gösterebilir. Biyofilm, aynı zamanda antifungal maddelere karşı duyarlılığın azalmasına neden olabilir. *C. auris*izolatlarının yaklaşık %97'si flukonazole ve %50'si polienlere dirençlidir(Pallotta ve ark., 2023).

2.5. *Candida* Enfeksiyonlarında Patofizyoloji ve Risk Faktörleri

Candida türleri hem insanlarda hem de hayvanlarda normal florada bulunan mikroorganizmalardır. Bağışıklık sistemi zayıfladığında veya normal florada dengesizliğe yol açan bir durum olduğunda, *Candida* türleri çoğalır. Bu durum *Candida* 'ların aşırı kolonizasyonuna ve translokasyon yoluyla kan dolaşımına geçişine neden olur (Cortés ve ark.,2020; Mba ve Nweze,2020).

Candida türleri birkaç farklı anatomik bölgeyi kolonize edebilir. *Candida* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların çoğu endojen kolonizasyondan kaynaklanır. Ancak hastane çalışanları, hastane atmosferi ve kateterler gibi biyofilmle kirlenmiş

invaziv cihazlar aracılığıyla bulaşan enfeksiyonlar gibi ekzojen kontaminasyon da meydana gelebilir (Mba ve Nweze, 2020).

Candida türlerinin patogenezi, birden fazla mekanizma ve yolu içeren çok yönlü bir süreçtir. Ayrıca hem konak hem de mikroorganizmanın özelliklerini içeren karmaşık ve çok faktörlü bir mekanizmadır. Enfeksiyonun oluşması için fırsatçı patojenin konak ortamında çoğalması ve konağın bağışıklık sisteminde hayatta kalması gerekir. Organizma ayrıca, özellikle sistemik enfeksiyonda, diğer vücut dokularına ve organlarına yayılabilmektedir. Cilt veya gastrointestinal bariyerlerin bozulması, yayılmış veya derin organ kandidiyazisine yol açabilir. Daha ciddi durumlarda, vücudun farklı organlarına yayılabilen kan dolaşımı enfeksiyonları meydana gelebilir.Çoğuinsanda *Candida* enfeksiyonları asemptomatiktir. Bunun nedeni, bağışıklık sisteminin organizmanın vücutta yayılıp enfeksiyon oluşturmamasını engellemesidir. Ancak bağışıklık sistemindeki azalma veya mikrobiyota dengesindeki değişiklikler, diğer faktörlerle bir araya geldiğinde *Candida*'nın yayılmasını kolaylaştırabilir ve bu durum sıklıkla ölümcüldür (Mba ve Nweze, 2020).

Candida türleri, kan dolaşımı enfeksiyonları içinde en sık saptanan etkenler arasında olup ciddi morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. *Candida* kan dolaşımına gastrointestinal sistem, üriner sistem ve intravasküler kateterler ile ulaşmaktadır. Özellikle kemoterapi ve diğer immünsupresif tedavi alan hasta sayısının giderek artması, transplantasyon cerrahisindeki gelişmeler, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımları ile son iki dekadda *Candida* türlerinin etken olduğu, kan dolaşım enfeksiyonlarının insidansı artmaktadır (Korkmaz ve ark., 2021).

C. albicans genel olarak *Candida* türlerinin çoğunluğunu oluştursa da kandidemiye neden olan albicans dışı *Candida* oranı artmaktadır.*Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis* ve *Candida auris*'in neden olduğu enfeksiyonlar büyük endişe kaynağıdır (Zhang ve ark., 2019;Mba ve ark.,2020).

Candida enfeksiyonları için çeşitli risk faktörleri mevcuttur. Bunlar: (Cortés ve ark., 2020; Korkmaz ve ark.,2021; Hohmann ve ark.,2023; Li ve ark.,2023).

- Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
- Büyük cerrahi operasyonlar
- İmmünsüpresif tedavi
- Total parenteral beslenme
- Ciddi yanıklar
- Malignite
- Hemodiyaliz
- Yoğun bakım ünitesinde uzun süreli yatış
- Nötropeni
- İleri yaş
- Prematürite
- Santal venöz kateterler gibi invaziv tıbbi cihazların varlığı
- Komorbidite
- Organ nakli
- Akut böbrek yetmezliği
- Yetersiz beslenme
- Derin doku abseleri
- Metastatik enfeksiyon odakları
- Etkisiz ampirik tedavi
- Protez malzemeleriyle ilişkili enfeksiyonlar

2.6.Candida'ların Virülans Faktörleri

2.6.1.Yapışma (Adherens)

Yapışma yeteneği, *Candida* türlerinin virülansında anahtar faktördür ve hem kolonizasyonun başlatılması hem de enfeksiyonun gelişmesi için gereklidir. Adezyon, organizmanın konakçı içinde kalıcılığına katkıda bulunur ve hastalığın oluşmasında esas olarak kabul edilir.*Candida* türleri biyotik yüzeylerin yanı sıra çeşitli biyomateryal yüzeylere de yapışabilmektedir. Yapışma aynı zamanda biyofilm yapısının oluşmasının ilk aşaması olup, her iki tip yüzeyde de olgun biyofilm oluşmasına olanak sağlar(Silva ve ark.,2012;Czechowicz ve ark.,2022).

Spesifik yapışmada rol oynayan *Candida* hücre yüzeyi proteinleri, adezinler olarak tanımlanır. Yapışmanın diğer aşamaları, adezinlere özgü yapışkan proteinlerin varlığıyla ilişkilidir. Yapışkan proteinlerin ekspresyonu mantar hücre duvarında meydana gelir. Konakçı hücrelerin yüzeyindeki spesifik ligandlarını (laminin, fibronektin, kollajen, fibrinojen, vitronektin veya kompleman proteinleri) tanıyıp bağlayarak yapışmaya aracılık ederler. Farklı yapışkan proteinler sıklıkla farklı türlerdeki blastosporlar ve hifler üzerinde çeşitli ekspresyonlar gösterir ve farklı etki mekanizmalarına sahiptir (Silva ve ark., 2012; Czechowicz ve ark., 2022).

2.6.2.Enzimler

Candida türleri hidrolitik enzimler salgılar. Hidrolitik enzimler hem çeşitli molekülleri sindirerek *Candida*'ların besin elde etmelerini sağlar, hem de bir virülans faktörüdür. Enzimler doku istilasını ve konakçı bağışıklık sisteminin bileşenlerinin inaktivasyonunu kolaylaştırır. Hidrolitik enzimler, konak dokuya bağlanma ve konak hücre zarının yırtılmasına neden olma gibi ortak ve patojenik özellikleri kolaylaştırır. Bu enzimler nedeniyle mukoza ve kan damarlarının yüzeylerine istila mümkündür (Talapko ve ark., 2021; Czechowicz ve ark., 2022).

Hidrolitik enzimler arasında proteazlar, lipazlar ve hemolizinler bulunur. Farklı proteolitik enzimler arasında aspartik proteazlar, *Candida* türlerinde en iyi çalışılanlardır. Salgılanan aspartil proteinazlar (fosfolipazlar, lipazlar ve hemolizinler) *Candida* türlerinin patojenitesinde en sık suçlanan enzimlerdir. Aspartil proteinazlar konakçı mukoza zarlarını ve önemli immünolojik ve yapısal savunma proteinlerini parçalayarak konakçı dokuların istilasını ve kolonizasyonunu kolaylaştırır. Aspartil proteinazlara ek olarak fosfolipaz olarak sınıflandırılan enzimlerin de *Candida* patojenitesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Fosfolipazlar, fosfolipitleri yağ asitlerine hidrolize eden enzimlerdir. Lipazlar triçilgliserollerin hidrolizinde rol oynar. *Candida*, proteaz ve lipaz üretiminin yanı sıra çeşitli hemolizinleri de salgılar. Hemolizinler, hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik ligandları tanıyan gözenek oluşturucu toksinlerdir. Bu virülans faktörleri *Candida*'nın demir açısından zengin konakçı hücrelere, özellikle de eritrositlere zarar vermesine yardımcı olur, böylece kandidiyazis sırasında yüksek konsantrasyonda demir içeren konakçı proteinlerine erişim sağlanır. Dolayısıyla hemolizinler, patojenin hayatta kalmasını ve konakçada

kalıcılığını sağlayan temel virölans faktörleri olarak kabul edilir (Silva ve ark., 2011; Ramos-Pardo ve ark., 2023).

2.6.3. Değişen çevre koşullarına uyum sağlama, dimorfizm ve fenotipik değişim

Candida türleri çeşitli morfolojik formlarda çoğalabilme yeteneği gösterir. Bu yeteneğe dimorfizm denir. Polimorfizm ise *Candida* 'ların kommensal bir formdan, bulunduğu ortamdaki değişikliklere bağlı olarak patolojik bir forma geçişini ifade eder. Blastosporların hiflere morfolojik geçişi ile karakterize edilir ve aradaki geçiş formu psödohiftir. Mayadan hif formuna geçiş, patojenik forma geçiştir. Hifal form invaziftir ve bu formda hücreler konakçı dokuya aktif penetrasyon ve indüklenmiş endositoz yoluyla girerler (Talapakko ve ark., 2021; Czechowicz ve ark., 2022).

Candida türleri, enfeksiyonları ortaya çıkarmak için geniş bir virölans faktörü cephaneliği kullanır. Hastalığındaki spesifik rolleri enfeksiyon bölgesine ve mantarın morfolojik durumuna bağlı olarak değişebilir. Blastospor, hifa veya psödohifa gibi farklı morfolojiler, hücre yapışmasını, bağırsak mukozal bariyerinden penetrasyonu/translokasyonu ve enfeksiyonun erken evrelerinde kan dolaşımına yayılmasını kolaylaştırarak veya konakçının bağışıklık tepkilerini baskılayarak enfeksiyon ve hastalık gelişimini büyük ölçüde etkileyebilir (Ramos-Pardo ve ark., 2023).

Dimorfizm olgusu *Candida* türlerinin çevredeki besin eksikliği, sıcaklık, pH, oksijen veya serum varlığındaki değişikliklere uyum sağlama adaptasyonudur. Fenotipik değişimin önemli bir özelliği, tersine çevrilebilirliği ve hif formundan büyüyen blastokonidialara dönüş olasılığıdır (Czechowicz ve ark., 2022).

C. albicans ve *C. dubliniensis*'in gerçekten polimorfik mantarlar olduğu doğrulanmıştır. Aynı zamanda *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* tarafından yalancı hif oluşturulur. Bu yeteneğe sahip olmayan *Candida* türlerinin bir örneği, yalnızca son derece ince blastosporlar şeklinde büyüyen *C. glabrata*'dır (Czechowicz ve ark., 2022).

2.6.4.Biyofilm üretimi

Biyofilm, hücrelerin hücre dışı bir matriks ile çevrelendiği, belirli işlevleri yerine getirmede uzmanlaştığı ve birbirleriyle iletişim kurduğu, oldukça heterojen, çok hücreli ve çok katmanlı, üç boyutlu bir yapı olarak tanımlanır. Biyofilmler, hücre dışı bir matrkis içine gömülmüş yüzeyle ilişkili mikroorganizma topluluklarıdır. Biyofilm kanalları hücrenin besin, hava ve su ile beslenmesini kolaylaştırarak ona yeni "çok hücreli" özellikler kazandırır. Biyofilm, antimikrobiyalere ve konak savunma mekanizmalarına karşı oldukça dirençlidir. Biyofilm oluşumu, bazı *Candida* türleri için önemli bir virülans faktörüdür; çünkü maddelerin matriks yoluyla nüfuzunu sınırlayarak ve hücreleri konakçının bağışıklık tepkilerinden koruyarak antifungal tedaviye önemli bir direnç kazandırır. *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* izolatlarının oluşturduğu biyofilmler, biyofilm oluşturamayan izolatlarla karşılaştırıldığında daha yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda çoğu mikroorganizmanın tercih edilen ve yaygın büyüme şekli olduğu da açıkça belirtilmektedir. *Candida* cinsinin maya benzeri mantarları arasında klinik olarak ilgili türlerin neredeyse tamamı biyofilm oluşturur (Silva ve ark., 2012; Talapko ve ark., 2021; Czechowicz ve ark., 2022).

2.7. *Candida*'ların Oluşturduğu Enfeksiyonlar

Candida'ların neden olduğu enfeksiyonlar yüzeysel, kutanöz, mukozal ve sistemik enfeksiyon olarak sınıflandırılabilir. *Candida*'lar ağız boşluğunu, cildi, genital organları, solunum sistemini ve gastrointestinal sistemin geri kalanını enfekte ettiğinde enfeksiyon yüzeysel tip olarak sınıflandırılır. İnvaziv kandidiyazis ise kandidemi, menenjit ve endokardit gibi son derece ciddi durumlarla karakterize bir tablodur. Hastanede yatan hastalarda ve bağışıklık sistemi zayıflamış olanlarda invaziv enfeksiyon, yüksek insidans ve yaygınlık oranlarıyla önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (Mba ve Nweze, 2020).

2.7.1.Kutanöz vemukozal enfeksiyonlar

2.7.1.1.Oral kandidoz

Yaygın olarak "pamukçuk" olarak adlandırılan oral kandidiyaz, dil ve diğer oral mukozal bölgelerin enfeksiyonlarını kapsar ve mantarın aşırı büyümesi ve yüzeysel dokuların istilası ile karakterizedir. İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) pozitif bireylerde ve bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde oral kandidiyaz en yaygın oral fırsatçı enfeksiyondur. *C. albicans*, vakaların %95 kadarını oluşturur. *C. albicans* yaygın olarak ağız mukozasında kolonize olan ve sağlıklı bireylerin ağız boşluklarından kolayca izole edilen, her yerde bulunan kommensal bir organizmadır. *C. albicans*'ın zararsız bir kommensal durumdan patojenik bir duruma geçişi birçok predispozan faktöre bağlıdır. Kandidiyaz insidansında devam eden artış, geniş spektrumlu antibiyotiklerin, immünosüpresif ajanların, kalıcı tıbbi cihazların ve kateterlerin artan kullanımının ve katı organ ve hematopoietik hücre transplantasyonlarındaki artışın yansımasıdır (Vila ve ark., 2020; Peña ve ark., 2021).

Oral kandidiyaz, intraoral, faringeal ve perioral bölgeleri etkileyerek sıklıkla ağrı, tat kaybı ve yiyeceklere karşı isteksizlik gibi durumlara yol açar. Ayrıca, bağışıklık sistemi zayıfladığında veya konakçı ortamında bir bozulma olduğunda, trakeal veya özofageal yayılma ve hatta sistemik yayılma riski vardır ve bu da hayatı tehdit edici olabilir. Oral kandidiyaz, *albicans* dışı *Candida* türlerinden de kaynaklanabilir. *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* ve *C. dubliniensis* gibi mikroorganizmalar da oral kandidozdan sorumludur ve bu türler giderek daha yaygın ve önemli hale gelmektedir (Gheorghe ve ark., 2021).

2.7.1.2.Özefagus kandidozu

Candida türleri özefagusun normal florasında bulunur. Konak savunma mekanizmalarının bozulması *Candida* türlerinin özefagus mukozasında çoğalmasına ve yapışkan plaklar oluşturmaya izin verir. Özefagus kandidiyazı, HIV ile enfekte hastalarda yaygın görülür. HIV ile enfekte hastaların yaklaşık %10-15'i yaşamları boyunca özefagial kandidiyaz, hastaların diğer %85-90'ı ise orofaringeal kandidiyaz geliştirir. Bununla birlikte, HIV pozitif hastalar arasında bu enfeksiyonun eğilimi,

yüksek düzeyde aktif antiretroviral tedavinin etkinliği nedeniyle azalmaktadır. Enfeksiyonun ortaya çıkması patojen ile konakçı arasındaki etkileşimin bir sonucudur, özellikle vücudun bağışıklık durumuna ve hastanın başka bir hastalığa sahip olup olmadığına bağlıdır. Günümüzde diyabet, peptik ülser gibi komorbiditeler veya organ nakli yapılan hastalara verilen antibiyotik ve kortikosteroid gibi ilaçlar nedeniyle HIV dışı hastalarda artış görülmektedir (Mohamed ve ark.,2019).

Özefagial kandidiyaz esas olarak *Candidaalbicans* tarafından oluşturulur. Bununla beraber *C. glabrata*, *C. tropicalis*ve *C.dubliniensis* gibi diğer albicans dışı *Candida* türleri de özefagial kandidiyaz tablosuna sebep olabilir. Özefagial kandidiyaz ciddi morbidite ile ilişkilidir ve hastalığa atfedilen disfaji, odinofaji, retrosternal göğüs ağrısı ve aşırı kilo kaybı nedeniyle etkilenen kişilerin yaşam kalitesini olumsuz yönde etkiler. Endoskopik incelemede sıklıkla beyaz mukozal plak benzeri lezyonlar, eritem ve mukozaya yapışık eksüdalar görülür. Biyopsi veya mukozal fırçalama örnekleri *Candida* türlerinin psödohifasını ortaya çıkarır ve özefagial kandidiyaz tanısında tercih edilen yöntemdir. Mikrobiyolojik doğrulama, tür tayini ve antifungal duyarlılık, endoskopik olarak elde edilen numunelerin kültürü yoluyla elde edilir (Olum ve ark., 2020).

2.7.1.3.Vulvovaginal kandidoz

Vulvovajinal kandidiyaz çoğunlukla polimorfik fırsatçı mantar *C. albicans*'ın neden olduğu alt kadın üreme sisteminin son derece yaygın bir mukozal enfeksiyonudur. Normal insan mikrobiyotasının bir üyesi olan *C. albicans*, genellikle vajinal lümeni asemptomatik olarak kolonize eder. Bununla birlikte, semptomatik enfeksiyon, öncelikle vajinadaki mantarın aşırı çoğalmasının ve ardından epitel istilasının ve virülans efektörlerinin üretiminin neden olduğu aşırı mukozal inflamasyondan kaynaklanır. Yaygın hastalık belirtileri arasında vajinal kaşıntı, yanma, ağrı ve kızarıklık bulunur. Çoğunlukla bunlara, dökülmüş epitel, bağışıklık hücreleri, maya ve vajinal sıvıdan oluşan vajinal akıntı eşlik eder. Vulvovaginal kandidiyaz, tüm kadınların yaklaşık %75'ini yaşamları boyunca en az bir kez etkilediği tahmin edilen, en yaygın insan *Candida* enfeksiyonudur (Willems ve ark., 2020; Farr ve ark.,2021).

Vulvovaginal kandidiyaz için risk faktörleri arasında antibiyotik kullanımı, cinsel aktivite, yüksek östrojen içeren oral kontraseptifler, hamilelik, sodyum glukoz kotransporter 2 (SGLT2) inhibitörlerinin kullanımı, lokal savunma mekanizması bozuklukları, gen polimorfizmleri, alerjiler, serum glikoz seviyeleri, psikososyal stres ve kontrolsüz diyabet vardır. İnvazif ve oral kandidiyazın aksine, vulvovaginal kandidiyaz immün sistemi yeterli ve diğer açılardan sağlıklı kadınların hastalığıdır (Willems ve ark., 2020; Satora ve ark., 2023).

C. albicans, vulvovaginal kandidiyaz vakalarının %90'ından fazlasının sebebi iken, *albicans* dışı diğer *Candida* (NAC) türleri de etiyolojik etken olarak tanımlanmıştır. Bazı durumlarda, NAC türlerinin prevalansı orantısız derecede yüksektir ve %50'yi aşmaktadır. NAC türlerinden *C. glabrata*, vulvovaginal kandidiyazın ikinci önde gelen nedeni olarak kabul edilir (vakaların ~%8'i), *C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* ise geri kalanın çoğunluğunu oluşturur. NAC türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda vajinal semptomların genellikle *C. albicans*'ın neden olduğu vulvovaginal kandidiyaz sırasında yaşananlardan daha hafif olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, azol ilaç sınıfına karşı doğal direnç ve kazanılmış direnç mekanizmaları, NAC türlerinin tedavisini karmaşık hale getirebilir (Willems ve ark., 2020; Farr ve ark., 2021).

2.7.1.4. Kronik mukokutanöz kandidoz

Kronik mukokutanöz kandidiyaz, *Candida* türlerinin neden olduğu cilt, tırnaklar ve mukozalarda tekrarlayan veya kalıcı enfeksiyonlarla karakterize olan, lökosit fonksiyonu veya endokrin sistemin baskılanması gibi çeşitli genetik bozukluklar sonucu gelişen heterojen bir sendrom grubunu içerir. Kronik mukokutanöz kandidiyaz vajinayı, özefagusu, cildi ve diğer organları tutabilir (Procop ve ark., 2017; Jing ve ark., 2024).

Candida'ya karşı bağışıklık tepkileri hem doğuştan hem de kazanılmış bağışıklıktan oluşur. Bu yollardaki kusurlar, tek veya ana klinik belirti olarak kronik mukokutanöz kandidiyaz ile ortaya çıkan bağışıklık sistemi hastalıklarına neden olabilir. Kronik mukokutanöz kandidiyaz tablosunun gelişiminde rol oynayan durumlar arasında; hipogamaglobulinemi varlığı veya yokluğuyla seyreden timik displazi, hipoparatiroidizm ve fagositlerde fagositoz sonrası mayaların öldürülememesine yol

açan miyeloperoksidaz eksikliği ile karakterize kronik granülomatöz hastalık sayılabilir. Başta *C. albicans* olmak üzere diğer *Candida* türleri de bu tabloya sebep olabilir (Procop ve ark., 2017; Cinicola ve ark., 2024; Jing ve ark., 2024).

Kronik mukokutanöz kandidiyazı olan çocuklarda *Candida* türleri ile tekrarlayan enfeksiyonlar görülür. Enfeksiyonlar mukozal veya invaziv olabilir ve izole edilebilir veya diğer enfeksiyonlarla ilişkili olabilir. Ayrıca bu hastaların erken dönemlerindeki şiddetli immün düzensizlik, çeşitli otoimmün hastalıklara neden olur ve normal büyüme ve gelişmeyi etkiler. Tıbbi bakım karmaşıktır ve genellikle sistemik mantar önleyici ve bağışıklık sistemini baskılayıcı ajanların bir kombinasyonunu gerektirir (Shamriz ve ark., 2020).

2.7.1.5. Gastrointestinal kandidoz

Sıklıkla orofarengeal hastalığın bir uzantısı olarak trakea ve bronşların mukoz membranları ile hemen hemen tüm sindirim sisteminde *Candida* enfeksiyonu gözlenebilir. Özofajit, gastrit, enterit ve perianal hastalıkların geliştiği olgular bildirilmiştir. Özellikle gastroözefagial bileşke, *Candida* enfeksiyonlarının sık geliştiği bir bölgedir. Hematolojik maligniteli hastalarda düşük pH ortamı bu bölgede enfeksiyonun sık görülme eğiliminde olmasını açıklayabilir. Disfaji, retrosternal ağrı, üst gastrointestinal kanama ve bulantı görülebilen semptomlardır. Özellikle yenidoğanda özefageal kandidoz, orofarengeal pamukçuk sonrasında da gözlenebilir (Procop ve ark., 2017).

2.7.1.6. Deri ve tırnak kandidozu

Deri enfeksiyonları sıklıkla el ve ayak parmak araları, kasık çizgileri, kadınlarda meme altı gibi nemli, kıvrımlı bölgelerde gelişir. Onikomikoz veya paronişi, tırnak çevresindeki deri katlantısının enfeksiyonuna verilen isimdir. Sık gözlenen bir diğer klinik tablo da yenidoğanda bebek bezi dermatitidir (Procop ve ark., 2017).

2.7.2. Dissemine kandidoz

İnvaziv kandidiyazis, *Candida* türlerinin kan dolaşımı enfeksiyonunu ve *Candida* türlerinin vücudun steril bölgelerine yayılmasından kaynaklanan derin

dokukandidiyazını kapsar. İnvaziv kandidiyazis yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahiptir. Ölüm oranları %40 ile %55 arasında değişmektedir (Riera ve ark., 2022; Soriano ve ark., 2023)

İnvaziv *Candida* enfeksiyonlarının çoğu beş patojen tarafından tetiklenir: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei*. *C. albicans* en yaygın *Candida* türü olmasına rağmen *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*'in neden olduğu albicans dışı kandidemi son yıllarda giderek artmaktadır ve bazı serilerdeki vakaların %50'sinden fazlasından sorumludur. Albicans dışı *Candida* türlerinin görülme sıklığı çoğu bölgede genellikle bölgedeki antifungal kullanımı, bireysel risk faktörleri ve *Candida* türlerinin moleküler suşlarını içeren salgınlar gibi farklı faktörler tarafından belirlenir (Riera ve ark., 2022; Soriano ve ark., 2023).

İnvaziv kandidiyazis her zaman olmasa da sıklıkla kandidemi ile birlikte görülür. *Candida* 'ların nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının dördüncü en yaygın nedeni olduğu belirtilmektedir. Çoğu durumda invaziv kandidiyazis, hastanın kendi florasından kaynaklanır ve böyle bir enfeksiyonun gelişme riski, *Candida* tarafından kolonize edilen vücut bölgelerinin sayısı ile birlikte artar. Her ne kadar çoğu invaziv kandidiyazis vakasından sorumlu tür *C. albicans* olsa da son yıllarda albicans dışı türlere bağlı invazif enfeksiyonların giderek daha fazla olduğu kaydedilmiştir. Bu durum yalnızca virülans ve patojenite açısından değil aynı zamanda direnç profillerinin de türler arasında farklılık göstermesi açısından önemlidir. *C. albicans* genellikle antifungallerin tüm ana gruplarına karşı duyarlı olsa da *C. glabrata* azollere karşı direnç kazanabilir. *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii* ekinokandinlere karşı, *C. lusitanae* amfoterisine daha az duyarlı olabilir ve *C. krusei* izolatları doğal olarak flukonazole dirençlidir. Bu nedenle, albicans dışı türlere doğru gözlenen kayma, uygun ampirik tedavinin seçilmesini daha da zorlaştırmaktadır. Bir diğer endişe ise *C. auris*'in ortaya çıkmasıdır (Camp ve ark., 2020).

İnvaziv kandidiyazise zemin hazırlayan pek çok faktör bulunmaktadır. Yoğun bakımda uzun süreli yatis, mekanik ventilasyon, total parenteral beslenme ve santral venöz kateter kullanımı en önemli faktörlerdir. Özellikle santral venöz kateter ve total parenteral beslenme, eradikasyonu çok güç olan *Candida* biyofilm üretimiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı,

kortikosteroidler, kemoterapötik ajanlar, nötropeni, malignensi ve diğer komorbid durumlar da invaziv kandidiyazis oluşumuna yol açar (Riera ve ark., 2022).

İnvaziv kandidiyazis tanısında kan kültürleri ve steril bölgelerden alınan örneklerin histopatolojik incelenmesi esastır. Kan kültürleri, 1 CFU/ml konsantrasyonda pozitifleşir ve *Candida* türlerini tespit etmede yüksek etkinlik gösterir (Barantsevich ve Barantsevich, 2022).

İnvaziv kandidiyazisin klinik belirti ve semptomlarının yelpazesi geniştir, ancak hastanın durumu antibiyotik tedavisiyle düzelmiyorsa, özellikle de yüksek riskli bir hastada *Candida* spp. ile kolonizasyon gözlemlenmişse, her zaman invaziv bir mantar hastalığı düşünülmelidir. İnvaziv kandidiyazisin sonucunu iyileştirmek için uygun bir antimikotik tedavinin derhal başlatılması esastır. Direnç modellerindeki farklılıklar göz önüne alındığında, antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları henüz mevcut olmadığında doğru antimikotik ajanı seçmek için tür düzeyinde hızlı tanımlama gereklidir (Camp ve ark., 2020).

İnvaziv kandidiyaziste antifungal tedavinin erken başlatılmasının mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir ancak kan kültürleri alındıktan sonraki 24 saat içinde antifungal tedaviye başlanması gerekmektedir. *Candida* spp.'nin üremesi genellikle 24 saatten uzun sürdüğü için kültür sonuçlarına göre tedaviyi başlatmak tedavide başarıyı olumsuz yönde etkiler. Bu nedenle antifungal tedavilerin çoğu, mikrobiyolojik enfeksiyon kanıtı olmaksızın sürekli olarak ateşi olan ve invaziv kandidiyazis geliştirme riski yüksek olan hastalarda ampirik olarak başlatılır (Soriano ve ark., 2023).

İnvaziv kandidiyazis tedavisinin yönetiminde en önemli adımlardan biri kaynak kontrolüdür. Kaynak kontrolü, *Candida* 'ların tıbbi cihazlarda kalıcı bir enfeksiyon odağı oluşturan biyofilm oluşturma özelliği nedeniyle önemlidir. Kaynak kontrolü intravasküler kateterlerin, protez cihazların ve protez eklemlerin çıkartılmasını; enfekte materyalin boşaltılmasını ve altta yatan patolojinin cerrahi olarak düzeltilmesini içerir (Soriano ve ark., 2023).

2.7.3.Diğer kandidozlar

2.7.3.1.Üriner sistem kandidozu

Bakteriyel İYE'ye ek olarak, fungal İYE giderek daha sık görülen bir hastane enfeksiyonu haline gelmiştir ve *Candida* türleri en yaygın organizmalardır. Kandiduri, klinik belirti ve semptomların yanı sıra idrarda önemli sayıda *Candida* spp.'nin bulunduğu bir durumdur ($>10^5$ CFU/mL idrar). Çalışmalar, idrar kültüründe en sık gözlenen türün *C. albicans* olmasına rağmen idrardaki *Candida* izolatlarının %50'den fazlasının albicans dışı türler olduğunu göstermiştir. Bunların arasında özellikle *C. glabrata* antifungallere karşı önemli ölçüde dirençlidir ve tedaviye karşı hızla direnç geliştirir (Deng ve ark.,2023; Konje ve ark.,2023).

Uzun süreli veya sık antimikrobiyal kullanımı, diabetes mellitus varlığı, idrar yolu kateteri kullanımı, kadın cinsiyet, idrar yollarında obstrüktif bir durum, böbrek nakli, büyük batın cerrahileri, ileri yaş ve total parenteral beslenme gibi durumlar *Candida*'ların idrar yolu enfeksiyonu geliştirmesi için risk teşkil eder (Odabasi ve Mert,2019;Konje ve ark., 2023).

Kandidürisi olan hastaların çoğu asemptomatik olduğundan, antifungal ajanların kullanılmasına karar verilmesi ve optimal tedavi stratejisinin nasıl belirleneceği hala sorun teşkil etmektedir. Kandidüri, çeşitli risk faktörlerine yatkın olabilen, hastanede yatan hastalarda yaygın olarak görülür. Ayaktan tedavi gören genç, sağlıklı hastalarda tekrarlayan kandidüri nadirdir ve bu nedenle etiyolojik faktörlerin belirlenmesi için ileri tetkiklere ihtiyaç vardır (Deng ve ark., 2023).

2.7.3.2.Merkezi sinir sistemi kandidozu

Merkezi sinir sisteminin mantar enfeksiyonu genellikle HIV enfeksiyonu, transplantasyon sonrası immünsüpresyon, kortikosteroid kullanımı ve kanser kemoterapisinden dolayı bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda görülen bir tablodur. En sık izole edilen organizmalar *Cryptococcus neoformans*, *Candida* spp. ve *Aspergillus* spp.'dir. *Mucorales* sınıfı ise daha az sıklıkta görülür (Khaba ve ark.,2022).

Merkezi sinir sistemi kandidozu başka bölgelerden hematogen yayılım ya da nöroşirürji prosedürleri sırasında meydana gelebilen komplikasyonlar sonrası doğrudan

yayılım ile meydana gelir. Klinik tablo meningoensefalit, beyin apsesi ve enfarktüstten felce kadar değişir. Ateş, ense sertliği ve zihinsel durum değişikliğinden oluşan klasik semptom üçlüsü hastaların yalnızca az bir kısmında mevcuttur. Merkezi sinir sistemi (MSS) *Candida* enfeksiyonları sıklıkla kötü prognozla ilişkilidir. Bu enfeksiyonlar, mevcut tedaviye rağmen oldukça ölümcüldür. Tipik olarak, MSS kandidiazisi menenjit veya mikroabseler olarak ortaya çıkar (Argersinger ve ark., 2021; Khaba ve ark., 2022).

Merkezi sinir sistemi kandidozunda *C. albicans* baskın tür olsa da *albicans* olmayan *Candida* türleri de MSS'ye ulaşabilir. Mevcut veriler, *Candida* enfeksiyonlarında beş türün baskın olduğunu göstermektedir: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* ve *C. tropicalis*. *C. albicans* en sık görülen tür olmaya devam etse de *albicans* dışı *Candida* enfeksiyonlarının görülme sıklığı son yıllarda artmaktadır (Fraga-Silva ve ark., 2022).

2.7.3.3. Endokardit

Fungal endokardit, tüm enfektif endokardit (IE) vakalarının yalnızca %2 ila %4'ünü oluşturan nadir bir durumdur. Kombine klinik ve cerrahi tedaviye rağmen ciddi komplikasyonlar ve kötü prognozla ilişkilidir. İyileştirilmiş teşhis önlemlerine ve tedaviye rağmen fungal endokardit, mortalitesi %54'e varan ölümcül bir hastalık olmaya devam etmektedir (Brito Monteiro ve ark., 2021; El Hajj ve ark., 2023).

Fungal endokardite en sık *Candida* ve *Aspergillus* türleri neden olur. *C. albicans* fungal endokarditin en sık görülen etiyolojik ajanı olmasına rağmen, *C. parapsilosis* *albicans* dışı en yaygın etken türdür (Brito Monteiro ve ark., 2021; Casey ve ark., 2023).

Fungal endokardit çoğunlukla predispozan risk faktörleri olan hastalarda ortaya çıkar. Açık kalp ameliyatı, protez greftler, santral venöz kataterler, uzun süreli antibiyotik tedavisi, intravenöz ilaç kullanımı, önceden var olan konjenital kalp defektleri, immünsüpresyon durumu, uzun süreli fungemi ve uzun süreli kortikosteroid kullanımı risk faktörleri arasındadır. Tanının ekokardiyografi ve çoklu kan kültürleri ile dikkatle takip edilmesi gerekir (Brito Monteiro ve ark., 2021; Casey ve ark., 2023).

2.8. *Candida* Enfeksiyonlarında Tanı

Candida türleri mantar enfeksiyonlarının önde gelen etiyolojik ajanlarıdır. Yakın zamana kadar *C. albicans* patojenik maya olarak kabul ediliyordu. Ancak *albicans* dışı *Candida* suşları artık mantar enfeksiyonunun etken ajanları olarak giderek daha fazla bildirilmekte ve bu da türlere özgü tanımlamayı hem epidemiyolojik amaçlar hem de uygun antifungal tedavinin uygulanması açısından klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının önemli bir rolü haline getirmektedir. *Albicans* dışı *Candida* suşlarının neden olduğu enfeksiyonlar *C. albicans* enfeksiyonlarına oldukça benzese de virülans faktörleri ve antimikrobiyal duyarlılık kalıpları birbirinden farklıdır (Evren ve ark.,2022).

Candida türlerinin doğru tanımlanması, bu türler arasında antifungal duyarlılık kalıplarının farklı olması nedeniyle önemlidir ayrıca doğru bir tanımlama, enfeksiyonları önleme ve tedavi için antifungal ilaçların seçiminde yardımcı olur (Eghtedar Nejad ve ark., 2020).

2.8.1. Geleneksel yöntemler

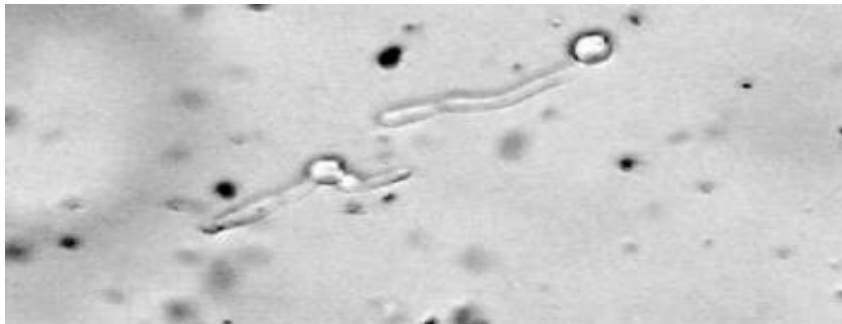
Candida 'ların tanımlanması için en yaygın kullanılan yöntemler geleneksel yöntemlerdir. Geleneksel yöntemlerde tanımlama türlerin morfolojik, fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre yapılmaktadır. Geleneksel yöntemler kültür, mikroskopi, germ tüp testi, hif-blastospor-klamidospor oluşumunun gözlenmesi, karbonhidratların fermentasyonu-asimilasyonu ve kromojenik besiyerlerine ekimi kapsar. Laboratuvar pratiğinde, mikrobiyoloji laboratuvarlarının büyük çoğunluğu yukarıda belirtilen geleneksel yöntemlerden en az birini kullanır. Ancak, bunların hiçbirisi %100 güvenilirliğe sahip değildir. Tanımlama moleküler yöntemlerle karşılaştırıldığında pek doğru değildir ve bazen türlere yanlış tanı konur. Geleneksel yöntemlerin *Candida* enfeksiyonları için, gecikmiş veya yanlış tanıya yol açabilecek çeşitli sınırlamaları vardır. Bu yöntemler zaman alıcıdır, yetenekli personel gerektirir ve klinik örneklerde düşük seviyelerde *Candida* türü hücrelerini tespit etmek için yeterince hassas olmayabilir. Ek olarak, geleneksel yöntemler kullanılarak tür tanımlama, farklı *Candida* türleri arasındaki yüksek fenotipik benzerlik nedeniyle zor olabilir (Evren ve ark., 2022; Lorenzo-Villegas ve ark., 2023).

2.8.1.1.Germ tüp

Maya hücrelerinin filamentöz uzantısına germ tüp adı verilir. Bu filamentöz yapı maya hücresinin yaklaşık yarısı kadar geniştir ve      katı uzunluğundadır. Gerçek germ tüp yapısı *C. albicans* tarafından üretilir. Germ tüp yapısı gerçek hif yapısının başlangıç fazını oluşturur. Germ tüpün başlangıç yerinde (boyun kısmında) yalancı hif için karakteristik olan daralma görülmez. *C. tropicalis* yalancı germ tüp oluşturur. *C. tropicalis*'in oluşturduğu yalancı germ tüpün boyun kısmında bir daralma gözlenir. Germ tüp görüldüğünde *C. albicans* n tanımlaması yapılabilir fakat *C. dublinensis*'in de germ tüp oluşturduğu akılda tutulmalıdır. *C. albicans* izolatlarının %5'i germ tüpü üretmemektedir. Germ tüp yapısı g zlenmediğinde mısır unlu agar ekim yapılmalıdır. Mısır unlu agar, mikroskopta klamidospor, düzenli aralıklı blastokonidya, hif ve pseudohif yönünden incelenir. Klamidospor ve düzenli aralıklı blastokonidya görülmesi durumunda *C. albicans* n tanımlaması yapılabilir (Sahiner ve ark., 2010; Procop ve ark., 2017; Evren ve ark., 2022).

Germ tüp testi çalışılacağı zaman test edilecek maya kolonisinden bir miktar steril  ze ucuyla alınarak, 0,5 ml tavşan veya insan plazması veya serumu içeren steril bir test tüpünde süspanse edilir. Hazırlanan karışım 35 C'de iki saati geçmemek üzere inkübe edilir. Maya-serum süspansiyonundan alınan bir damla lam-lamel arası, ışık mikroskobunda, X40 büyütmede germ tüp varlığı yönünden incelenir. İki saatten fazla inkübe edilen örneklerin incelenmesi geçerli değildir (Procop ve ark., 2017; Chaabaawi ve ark., 2022).

Germ tüp testi mikrobiyoloji laboratuvarlarında hala *C. albicans*'ın hızlı tanımlanması için kullanılmaktadır. Hızlı olmasına rağmen test subjektiftir. Uzun blastokonidya yapıları germ tüp pozitifliği olarak değerlendirilebilir. Bu yüzden germ tüp testi deneyimli personel gerektirmektedir. Ayrıca, germ tüp testinin *C. dubliniensis* 'te de pozitif olması ve *C. tropicalis* 'te görülen yalancı germ tüp yapısı testin özgüllüğünü azaltan durumlardır (C rdenes ve ark., 2002; Evren ve ark., 2022). şekil 4'te germ tüp yapısı gösterilmiştir.

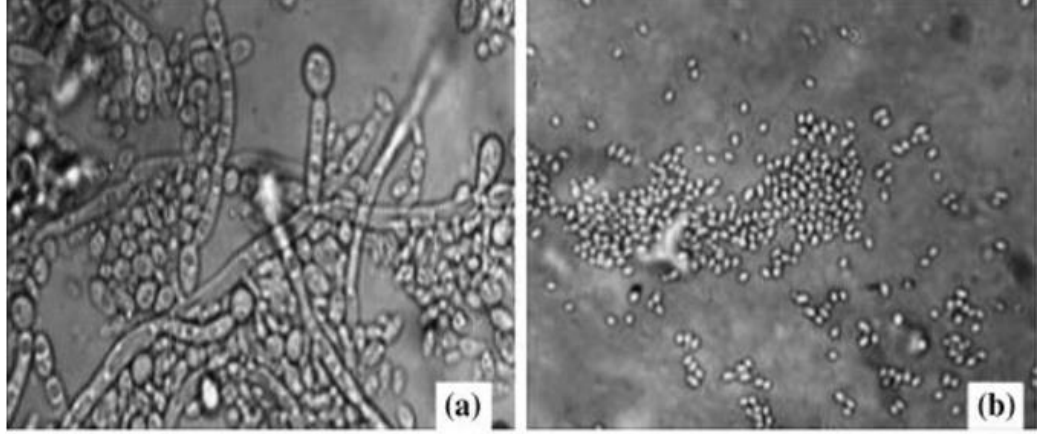


Şekil 4. Germ tüp yapısı(Atalay ve ark., 2012)

2.8.1.2.Mısır unlu tween-80 agara ekim

Mısır unlu tween-80 agar besiyeri *Candida* türlerinin kültür ve mikroskopiye dayalı tanısını sağlayan diğer bir geleneksel yöntemdir. Mısır unlu tween-80 agar preparatları klamidospor, gerçek hif, yalancı hif ve blastokonidya yapıları yönünden incelenir. Yalancı hif, gerçek hif ve klamidospor oluşturma ve blastokonidyumların şekli ve dizilişi *Candida*'ların tanımlanmasında kullanılan mikroskobik özelliklerdir. Yalancı hif ve blastokonidyumların tespiti incelenen izolatin *Candida* olduğunu gösterir. Tür düzeyinde tanımlama ise sadece klamidospor varlığında mümkündür. Klamidospor yapısının görülmesi *C. albicans* tanısını koyar (Procop ve ark., 2017;Walsh ve ark., 2020;Evren ve ark., 2022).

Mısır unlu tween-80 agar besiyerindeki mikroskobik inceleme SDA gibi başka bir katı besiyerindeki kültürün ardından gerçekleştirilir. Mısır unlu tween-80 agara ekim klamidospor oluşumunu indükleyen düşük oksijen ortamını sağlayan Dalmau ekim yöntemiyle yapılır. SDA gibi bir katı besiyerindeki kültürde üreyen maya kolonilerinden bir miktar steril öze yardımıyla alınır. Öze 45 derecelik açı ile tutulup mısır unlu tween-80 agar besiyerinin yüzeyine 1 cm aralıklarla birbirine paralel 3-4 çizgi ekim yapılır. Bir lamel alevden geçirildikten sonra ekim çizgilerinin üzerini kaplayacak şekilde besiyeri yüzeyine konur. Plaklar daha sonra 25 derecede 72 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda lamel üzerinden X40 büyütmede inceleme yapılır(Procop ve ark., 2017; Walsh ve ark., 2020; Chaabaawi ve ark., 2022;Evren ve ark., 2022). Şekil 5'te mısır unlu tween-80 agarda farklı *Candida* türlerine ait morfolojiler gösterilmiştir.



Şekil 5. Mısır unlu tween-80 agarda farklı *Candida* türlerinin oluşturduğu morfolojilere: a: *C. albicans*, b: *C. glabrata* (Alam ve ark., 2014)

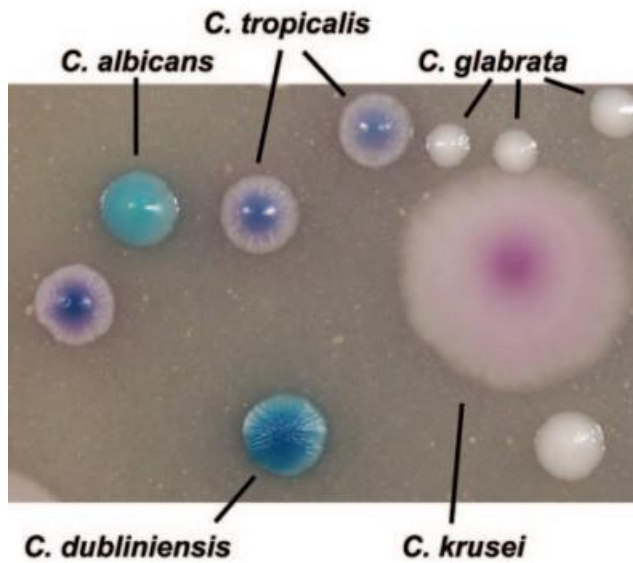
Mısır unlu tween-80 agar besiyeri ile *Candida* 'ların incelenmesi en az 72 saat gerektiren, zaman alıcı bir yöntemdir. Mısır unlu tween-80 agar genellikle klamidospore oluşumunun belirlenmesi ve olası tanımlama için bunların hifler, psödohifler ve diğer mantar yapılarıyla ilişkilerinin belirlenmesi için tavsiye edilir ve yalnızca cins aralığının daraltılmasına yardımcı olur. Bu besiyerinin nadir görülenler dışında yaygın görülen *Candida* türlerinin tanımlanmasında başarılı olduğu görülmüştür. Mikroskopik değerlendirme sonuçları genellikle subjektiftir ve türlerin tanımlanmasına ilişkin karar deneyime ve türün özelliklerine bağlıdır ve kuluçka süresi gibi çeşitli faktörler de morfolojik farklılaşmayı etkileyebilir (Evren ve ark., 2022).

2.8.1.3. Kromojenik besiyerleri ile tanımlama

Kromojenik besiyerleri, *Candida* 'ları türe spesifik enzim aktivitesi ile oluşan koloni rengine göre ayırt eden hızlı tanı yöntemleri arasındadır. *Candida* türlerinin mümkün olduğunca çabuk tanımlanması ve ayırt edilmesi ihtiyacı, laboratuvarları türlere özgü enzimlerle kromojenik substratları kullanarak *Candida* tanımlamasına izin veren kromojenik besiyerlerine yöneltmiştir. Kromojenik besiyerleri bazı maya türlerinin varsayımsal tanımlanmasına izin verir ve özellikle MALDI-TOF MS sistemini kullanmayan laboratuvarlar olmak üzere çoğunlukla bulaşıcı hastalıklara sebep olan suşların tanımlanması için kullanılır. Kromojenik besiyerleri klinik örneklerin ilk kültürü için kullanılabilir. Kromojenik besiyerleri ile karışık kültürlerin sonucu kısa sürede belirlenir. *Candida* türlerinin kromojenik besiyerleriyle tanımlanması besiyerinin markası ve hatta numunenin alındığı yer gibi çeşitli faktörlere bağlı olabilir.

Kromojenik besiyerlerinin dezavantajları ise geniş bir renk yelpazesine sahip olmalarından dolayı çok sayıda *Candida* türünü tanımlamakta zorluk yaşanması ve diğer mantar besiyerlerine göre pahalı olmalarıdır. *Candida* türlerinin tanımlamasında kullanılan başlıca kromojenik besiyerleri: CHROMagar *Candida*, Chromogenic *Candida* agar, Sabouraud kloramfenikol agar, Albicans ID (bioMerieux), Candichrom albicans (International Mycoplasma), Candiselect (Sanofi Diagnostic, Pasteur) gibi besiyerleridir(Copur ve ark., 2014;Kınıklı ve ark.,2018;Evren ve ark., 2022).

CHROMagar *Candida* besiyeri, seçici ve ayırt edici özellikte kromojenik bir besiyeridir. CHROMagar *Candida* besiyeri *Candida* türlerini renk ve morfolojik özelliklerine göre ayırt eder. CHROMagar *Candida* besiyerine ekilen izolatlar 37° C’de 48-72 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilir. 24 saatlik inkübasyondan sonra renk ve şekil bakımından koloniler belirginleşir. Fakat 48 saat sonra yapılan değerlendirmede kolonilerin renk ve şekilleri daha belirgin hale gelir. CHROMagar *Candida* besiyerinde açık yeşil koloniler *C. albicans*, metalik mavi koloniler *C. tropicalis*, beyaz sınırları olan pembe-tüylü koloniler *C. krusei*, pembe ve düzgün koloniler *C. parapsilosis*, lila/kahverengi koloniler *C. glabrata*, beyaz koloniler diğer *Candida* türleri olarak değerlendirilir(Nü ve ark., 2003; Kınıklı ve ark., 2018;Çürük ve ark.,2023;Garoussi ve ark., 2024). Şekil 6’da farklı *Candida* türlerinin CHROMagar *Candida* besiyerinde oluşturduğu farklı renk ve morfolojiler gösterilmiştir.



Şekil 6. Farklı *Candida* türlerinin CHROMagar *Candida* besiyerinde oluşturduğu farklı renk ve morfolojiler(Sahand ve ark., 2005)

2.8.1.4. Biyokimyasal testler ile tanımlama

2.8.1.4.1. Üreaz testi

Üreaz testi bir mayanın üreaz enzimi oluşturma yeteneğini ortaya koyar. Uygun substratların varlığında üreaz üreyi parçalayıp amonyak oluşturur ve amonyak da pH'yı yükselterek fenol kırmızısı indikatöründe koyu sarı renkten pembemsi kırmızıya bir renk dönüşümüne neden olur. Üreaz testi üreaz pozitif olan *Cryptococcus* türleri ve *Rhodotorula* türlerinin identifikasyonunda yararlıdır. Klinik örneklerde karşılaşılan *Candida* türlerinin hemen hemen tümü üreaz negatiftir; bu durumun istisnası *C. lipolytica* ve *C. krusei*'nin bazı kökenleridir ve bunların her ikisi de inositolü asimile etmezler(Murray ve ark., 2009).

2.8.1.4.2. Hızlı trehaloz testi

Hızlı trehaloz testi ile *C. glabrata*'nın ön identifikasyonu 3 saat içinde yapılabilir. Klinik ve Laboratuar Standartları Enstitüsü (CLSI), *C. glabrata*'nın identifikasyonu için esas olarak trehaloz asimilasyonuna dayanan hızlı bir test yöntemini yeni onaylamıştır. Trehaloz testleri yalancı pozitif sonuçlar verebilir ancak bu gibi sonuçlar maya hücrelerinin küçük olması ve germ tüp oluşturmaması gibi özellikleriyle birlikte değerlendirilirse azaltılabilir. *C. glabrata* trehalozu hızla hidrolize eder ancak maltozu hidrolize etmez (diğer mayalar maltozu hidrolize edebilir)(Murray ve ark., 2009).

2.8.1.4.3. Karbohidrat asimilasyon testleri

Mayaların tür düzeyindeki identifikasyonunda esas dayanak noktası, karbohidrat asimilasyon testidir. Bu test bir mayanın oksijen varlığında belirli bir karbohidratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneğini ölçer. Günümüzde rutin klinik izolatlara için klasik Wickerham ve Burton yönteminin kullanımını gereksiz kılan çok sayıda güvenilir ticari kitler (API 20C AUX, API ID32C gibi) ile otomatik ve yarı otomatik sistemler bulunmaktadır. Bu testlerin hiçbirisi Wickerham-Burton yöntemiyle %100 uyumlu olmadıkları gibi birbirleri ile de her zaman uyum göstermezler (Murray ve ark., 2009).

2.8.1.4.4.Karbohidrat fermentasyon testleri

Klinik örneklerden izole edilen fermentatif mayalar karbondioksit ve alkololuştururlar. Bu nedenle gaz oluşumu fermentasyonun bir göstergesidir. Besiyerinin pH'sı değişmeyebilir. Test en çok *Candida*'nın değişik türlerinin ayırımında kullanılır; *Cryptococcus* ve *Rhodotorula* türleri fermentasyon yapmazlar(Murray ve ark., 2009).

2.8.2. Serolojik yöntemler ile tanımlama

Mantar enfeksiyonlarının tanısında geleneksel yöntemlerin zaman alıcı olması, serolojik yöntemler gibi hızlı tanı koyan testlerin ön plana çıkmasını sağlamıştır. İnvazif *Candida* enfeksiyonlarında hastanın serum veya diğer vücut sıvılarında *Candida* hücre duvarı kaynaklı antijenlerin araştırılması *Candida*'larda serolojik testlerin temelini oluşturur. *Candida* hücre duvarında bulunan β -(1,3)-d-glukan ve mannan antijenleri serolojik testlerle tespit edilebilir. Mannan antijeni *Candida*'lara spesifikken β -(1,3)-d -glukan patojen mayaların çoğunda bulunur. β -(1,3)-d-glukan birçok patojen mantarda bulunduğundan çapraz reaksiyonlara sebep olabilir. *C. albicans*'a bağlı invazif enfeksiyonlarda germ tüp antikoru bakılması diğer bir serolojik alternatiftir(Murray ve ark., 2009;Eggimann ve ark.,2011; Us, 2016).

İnvazif *Candida* enfeksiyonlarında oluşan antijenler immün mekanizmalarla temizlendiğinden serumda kısa süre bulunurlar. Bundan dolayı yüksek riskli hastalarda serolojik testlerin düzenli yapılması, candidemi gelişimi ve oluşan tablonun seyrini takip açısından önem taşır(Us, 2016).

Candida enfeksiyonlarında kullanılan serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllüğü hasta gruplarına, enfeksiyon bölgesine, izolatin türüne ve gradient testkoşullarına bağlı olarak değişmektedir. Bundan dolayı serolojik testler tanıda tek başına kullanılmaz; klinik ve radyolojik bulgular ve diğer tanı testlerinin birlikte değerlendirilmesi ile tanı konur(Us, 2016).

2.8.3.Otomatize sistemler ile tanımlama

2.8.3.1.Phoenix ile tanımlama

BD Phoenix™ cihazıyla *Candida* türleri biyokimyasal özelliklerine göre isimlendirilir. Bu otomatize sistem ile tanımlama oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına dayanır. Okuma 6-16 saatte bir, 84 kuyulu plakalarda AST kullanılarak gerçekleştirilir(Bardet ve Rolain, 2018).

2.8.3.2.MALDI-TOF MS ile tanımlama

MALDI-TOF MS, mikroorganizmaların tanımlanmasına yönelik önemli bir teknolojik gelişmedir. Kullanımı kolay, hızlı, doğru ve uygun maliyetli olduğundan bakteriyel tanımlama için yaygın olarak kullanılır. Sistem aynı zamanda *Candida*’ları tür düzeyinde tanımlama konusunda da güvenilir bir yöntemdir. Kütle spektrometresi ile klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında türlere özel düzeyde doğru tanımlama, kullanılan ticari olarak mevcut sisteme göre değişiklik gösterebilir. Maya türleri için çeşitli raporlar %90 ila %96 arasında bir doğruluk oranı göstermektedir; bu aynı zamanda yaklaşık %4 ila %10'luk bir kısmın atlanabileceği veya yanlış tanımlanabileceği anlamına da gelir(Evren ve ark.,2022).

MALDI-TOF MS, proteinler gibi büyük, uçucu olmayan biyomoleküllerin iyonizasyonuna ve buharlaşmasına izin veren bir iyonizasyon tekniği kullanır.MALDI-TOF MS analizinde numuneler bir matriksle karıştırılarak hazırlanır ve bu da numunenin matriks içinde kristalleşmesiyle sonuçlanır. Matris ve mikrobiyal materyalin kristalleştirilmesinden sonra, metal plaka kütle spektrometresine sokulur ve kısa lazer darbeleriyle bombardımana tutulur. Desorbe edilen ve iyonize edilen moleküller, elektrostatik bir alan aracılığıyla hızlandırılır ve vakuma tabi tutulan bir metal uçuş tüpü aracılığıyla bir dedektöre ulaşana kadar dışarı atılır; daha küçük iyonlar daha büyük iyonlardan daha hızlı hareket eder. Böylece, biyoanalitler, değişen yoğunluklara sahip kütle-yük oranıtepe noktalarından oluşan bir kütle spektrumu oluşturur. Dolayısıyla bir spektrum, tür veya cins düzeyinde tanımlama için bir veritabanı elde edilir (Croxatto ve ark., 2012).

2.8.4.Moleküler yöntemler ile tanımlama

Candida'ların klasik tanısı mikroskopi, kültür ve biyokimyasal testler gibi yaklaşımlara dayanır. Tüm bu yöntemler, enfeksiyöz etkenin klinik örneklerden izole edilmesini ve kültürlenmesini gerektirir; bu işlem çoğu *Candida* türü için yaklaşık 48 saat sürer ve bazı örnekler veya türler için daha fazla zaman gerektirebilir. Bununla beraber, tanımlama prosedürleri özel uzmanlık gerektirir, belirsiz sonuçlar sağlayabilir, genellikle zaman alıcıdır ve etkili bir tanıya ulaşmada daha fazla gecikmeye neden olur. Bu nedenle, tanısal moleküllerin doğrudan tespitine dayalı alternatif yöntemlerin geliştirilmesine olan ilgi artmaktadır. Toplu olarak moleküler tanı olarak adlandırılan bu yaklaşımlar, doğrudan klinik örneklerle uygulanma potansiyeline sahiptir ve belirli DNA dizilerinin tespitini içerir. Bazı yeni moleküler yöntemler hem etkenin türünü hem de ilaç direnci profilini kolayca teşhis edebilme yeteneğindedir (Arastehfar ve ark., 2019).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), güçlendirilmiş fragman uzunluğu polimorfizmi (AFLP), PCR-kısıtlama uzunluğu fragmanı polimorfizmleri (PCR-RFLP), polimorfik DNA'nın rastgele amplifikasyonu (RAPD), multipleks PCR, yuvalanmış polimeraz zincir reaksiyonu (İç içe PCR gibi moleküler teknikler), DNA dizilimi, uçuş kütle spektrometresinin matris bağlantılı lazer desorpsiyon/iyonizasyon süresi (MALDI-TOF MS), DNA parmak izi, tek iplikli konformasyonel polimorfizm (SSCP) analizi ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (gerçek zamanlı PCR) *Candida* türlerinin tanısında kullanılabilen moleküler yöntemlerdir. Rutin laboratuarlarda *Candida*'ların tanımlanması için kullanılan en güvenilir yöntem, ITS bölgesinin ve/veya D1-D2 alanının Sanger dizilemesidir. Ancak, ITS bölgesinin çözünürlük eksikliği ve genomda ITS'nin homolog olmayan kopyalarının varlığı nedeniyle yakından ilişkili mantar türlerini ayırt etmede sınırlamaları var gibi görünmektedir. Dizileme, *Candida* türlerinin kesin bir şekilde tanımlanmasını sağlar ancak zaman alıcıdır ve kalifiye personel gerektirir (Eghtedar Nejad ve ark., 2020; Barantsevich ve Barantsevich, 2022).

DNA tespitine dayalı yöntemlerin yaygın bir dezavantajı, DNA tespitinin canlı hücrelerin varlığıyla mutlaka ilişkili olmayabileceğidir. Yani ölü hücrelerden de DNA izolasyonu yapılabilir. Bu nedenle, son zamanlardaki birkaç yaklaşım, aktif olarak transkripsiyona uğrayan genlerden RNA tespitine dayanmaktadır; bunlar canlı hücreleride iyi temsil eder (Arastehfar ve ark., 2019).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), hedeflenen bir DNA segmentinin seçici amplifikasyonunu sağlayarak birkaç saat içinde bu dizinin (amplikon) milyonlarca kopyasını üretir. PCR, geliştirilen ilk nükleik asit amplifikasyon yöntemidir. Yuvalanmış PCR, gerçek zamanlı PCR, multipleks PCR vb. dahil olmak üzere yeni ve gelişmiş PCR varyasyonları mevcuttur. PCR *Aspergillus*, *Candida*, *Mucorales* ve *Pneumocystis jirovecii* enfeksiyonlarının tanısı için kullanılır. Kültür tabanlı yöntemlerden daha hassas olması, kültürü yapılamayan türleri tespit edebilmesi, daha az zaman alıcı olması ve birçok klinik örnek türüne uygulanabilmesinden dolayı mantar nükleik asitlerinin tespiti için PCR analizi en iyi teşhis stratejisi olabilir (Arastehfar ve ark., 2019; Fang ve ark., 2023).

PCR, *Candida* spp.'nin 2-4 saat içinde tanımlanmasını ve enfeksiyonun kalıcılığını veya çözünürlüğünü göstererek izlenmesi olasılığını sağlar. Patojenik bakteri veya virüslerin neden olduğu enfeksiyonların tanısında oldukça etkili olan PCR tabanlı testler, invaziv kandidiyazis tanısında daha düşük güvenilirliğe sahiptir. Sorun, kandaki *Candida* hücrelerinin sayısının düşük olmasından (genellikle 1 CFU/mL'nin altında) ve mantarın ve DNA'sının insan vücudunda ve çevrede geniş dağılımından ve insan ve mantar DNA'sı arasındaki benzerlikten kaynaklanmaktadır. Yine de PCR testlerinin daha da geliştirilmesi invaziv kandidiyazis tespit oranını artırabilir (Barantsevich ve Barantsevich, 2022).

2.9. *Candida* Enfeksiyonlarında Kullanılan Antifungal Ajanlar

2.9.1. Ekinokandinler

β -(1,3)-d-glukan, mantar hücre duvarı yapısının önemli bir bileşenidir ve hayvan hücrelerinde bulunmaz, bu nedenle antifungal ajanlar için iyi bir hedeftir. β -(1,3)-d-glukanın sentezi, β -(1,3)-d-glukan sentaz olarak adlandırılan UDP-glikoz (1,3)-d-glukan- β -(3)-d-glukoziltransferaz tarafından katalize edilir. Enzimin alt birimine bağlanan ekinokandinler, onun aktivitesini inhibe eder. β -(1,3)-d-glukan biyosentezinin engellenmesi, mantar hücre duvarının yapısal anormalliklerine yol açar. Hücre duvar yapısının bozulması ozmotik basınçta dengesizliklere ve bunun sonucunda büyüme inhibisyonuna yol açar. Ekinokandinler, *Candida* türleri için fungisidal etki gösterirler. Ekinokandinlerin MİK değerleri aralığı, *Candida* türlerine bağlı olarak 0,007 μ g/ml ile

32 µg/ml arasında değişir. Ekinokandinler, esas olarak *Candida*, *Aspergillus* türleri ve bazı diğer patojenik mantarların neden olduğu invaziv enfeksiyonların tedavisi için önerilir(Altıntaş ve Şahiner, 2021;Barantsevich ve Barantsevich, 2022; Szymański ve ark.,2022).

Ekinokandinlerin gastrointestinal sistemden emilimi zayıf olduğundan hastalara sadece parenteral yoldan verilirler.Ekinokandinler, merkezi sinir sistemi ve gözler hariç olmak üzere farklı organ ve dokularda geniş dağılım gösterir.Bu nedenle göz içi iltihabı veya fungal menenjit tedavisinde kullanılmazlar. Bu antifungal ajanlar proteinlere güçlü bir şekilde bağlanır (%97-99). Yarı ömür 9 ila 133 saat arasındadır, bu nedenle günde bir kez veya haftada bir kez (rezafungin) uygulanırlar. Hastanın klinik yanıtı tedavi süresini etkiler. Çoğu hasta semptomların düzelmeye başlamasından7 gün veya en fazla 14 gün tedavi edilmelidir. Ekinokandinler çoğunlukla karaciğerde, bir miktar ayrıca adrenal bezlerde ve dalakta hidroliz ve N-asetilasyon yoluyla metabolize edilir. Metabolitleri çoğunlukla safra ve gaitayla atılır. Ekinokandinler karaciğer, dalak, bağırsak, böbrek ve akciğerde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu dokularda konsantrasyonları plazmadakinden iki ila on altı kat daha yüksek olabilir. Ekinokandinler P-glikoprotein ailesini etkilemez ve sitokrom P450 için zayıf substratlardır. Geriatrik hastalarda uygulanan doz uygun ayarlama gerektirmez. Yaşlılar, genç hastalara kıyasla farmakokinetikte değişiklik göstermezler. Ekinokandinler böbreklerden atılmaz, bu nedenle böbrek yetmezliği olan yaşlı hastalara ve diyalize giren hastalara güvenle uygulanabilirler. Bir hasta ekinokandin tedavisi sırasında birkaç ilaç alıyorsa, ekinokandinlerin ilaç-ilac etkileşimi çok az olduğundan bu ilaçları ayarlamak gerekli değildir. Bunun istisnası karaciğer yetmezliği olan hastalarda kaspofunginin özel doz ayarlamasıdır(Altıntaş ve Şahiner, 2021;Barantsevich ve Barantsevich, 2022; Szymański ve ark.,2022).

2.9.1.1.Mikafungin

Mikafungin,*Candida* türleri ve azole dirençli *Aspergillus* cinsi mantar patojenlerine karşı güçlü bir antifungal aktiviteye sahip ekinokandin türevi bir antifungaldir. Plazma proteinlerine, esas olarak albümine ve daha az oranda α 1-asit glikoproteine önemli ölçüde (> %99) bağlanır ve yarı ömrü 11 ila 17 saattir. Mikafungin, P-glikoprotein pompa için bir substrat değildir ve aktivitesini etkilemez.

Çeşitli sitokrom P450 izoenzimleri tarafından metabolize edilir. İlaç metabolitleri safra ve idrarla atılır. İlacını yüzde birinden azı idrarla değişmeden atılır. Mikafungin, invaziv kandidiyazis, kandidemi, özofageal kandidiyazis, abdominal apse ve peritonit vakalarında kullanılır. Hematopoietik kök hücre nakli yapılan hastalarda veya granülositopeni durumunda *Candida* enfeksiyonlarının profilaksisinde kullanılır. Mikafungin ayrıca insan makrofaj aktivasyonunu güçlendirerek bağışıklık sistemini etkiler (Szymański ve ark.,2022).

2.9.1.2.Kaspo fungin

Kaspo fungin suda çözünen, yarı sentetik, lipopeptit yapısında bir ekinokandin türevidir. Kaspo fungin, birçok *Candida* ve *Aspergillus* türünün yanı sıra *Pneumocystis jirovecii*'ye karşı da antifungal aktiviteye sahiptir. *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii*'ye, bunun yanında *Trichosporon beigelii*, *Rhizopus arrhizus* ve *Fusarium* türlerine karşı aktivitesi orta düzeydedir. Kaspo fungin plazma proteinlerine yüksek oranda (%97) bağlanır ve insan vücudunda 9-11 saatlik bir yarı ömre sahiptir. Yarı ömrü uzun olduğundan günde tek doz şeklinde hastaya verilir. İlaç karaciğerde metabolize edilir ve metabolitler esas olarak gaita (%35) ve idrar (%41) yoluyla atılır. Az miktarda (%2) kaspo fungin idrarla değişmeden atılır. Klinik uygulamada, kaspo fungin invaziv aspergillozlu (*A. fumigatus*'un neden olduğu) ve ilişkili nötropenisi olan hastalarda ve ayrıca kanser hastalarında, HIV enfeksiyonlu hastalarda, allojenik hematopoietik kök hücre nakli hastalarında ve organ nakli hastalarında mantar enfeksiyonlarının önlenmesi için kullanılır. Kaspo fungin, vorikonazol ve polien dirençli *Aspergillus fumigatus*'a karşı tedavi için kullanılır. Kaspo fungin insan serumundaki rifampisin ve takrolimus konsantrasyonlarını azaltabilir. Tedaviye yanıt alınamaması veya sitokrom p-450 indükleyen ilaçların eş zamanlı kullanımı durumunda, kaspo fungin'in günlük dozu yükseltilmelidir. Hipoalbuminemi ve karaciğer yetmezliği olan hastalarda, kaspo fungin dozları kişiye göre ayarlanmalıdır(Szymański ve ark., 2022).

2.9.2.Azoller

Azol grubu antifungaller azol halkasındaki azot atomlarının sayısına göre imidazol ve triazol olmak üzere ikiye ayrılır. Klotrimazol, mikonazol ve ketokonazol

imidazollere; flukonazol, vorikonazol, posakonazol, isavukonazol triazollere aittir. Azoller, p-450-bağımlı 14 alfa-sterol demetilazı inhibe eden antifungallerdir ve sitokromp-450 inhibisyonu nedeniyle yüksek ilaç etkileşimlerine neden olurlar. Ergosterol sentezinin bozulması hücre zarı bütünlüğünü bozar. Bu ilaçlar için başka etki mekanizmaları da vardır; örneğin, bu ilaçların membrana bağlanarak hücre solunumu inhibe edebilir, membran geçirgenliğini değiştirebilir ve mantar hücre membranındaki fosfolipitlerle toksik reaksiyonlar yoluyla mantar hücresinin ölümüne neden olabilir. İmidazoller solüsyon, losyon, vajinal tabletler ve kremler gibi çeşitli topikal formlarda olabilir. İmidazoller tinea versicolor, kütanöz ve vaginal kandidiyazis ve dermatomikozların tedavisinde kullanılır. İmidazollerin sistemik kullanımı önemli toksik etki gösterdiğinden triazoller geliştirilmiştir. Triazoller sistemik ve kütanöz *Candida* enfeksiyonlarında kullanılır. Azol ajanlarının antifungal aktivitesi, mantar zarındaki ergosterol sentezinin azalmasından kaynaklanır(Altıntaş ve Şahiner, 2021;Barantsevich ve Barantsevich, 2022;Rakhshan ve ark., 2023).

2.9.2.1.Flukonazol

Flukonazol, mantar hücrelerinde ergosterolün biyosentezinde görev alan 14 α -sterol demetilaz enzimini seçici olarak inhibe ederek etki gösteren bir azol antifungal ilaçtır. Flukonazol, mantar sitokrom p-450'ye karşı özgül seçiciliği nedeniyle diğer azollerden farklıdır. 14 α -sterol demetilaza odaklanan etki mekanizması onu özellikle *Candida* spp. ve *Cryptococcus neoformans*'ın neden olduğu enfeksiyonlarla mücadelede etkili bir ilaç haline getirir. Triazoller arasında, triazollerden birinci nesil antifungal ajan olan flukonazol, diğer azollere göre kıyasla birkaç ek faydaya sahiptir. Bu ek faydalardan biri daha geniş bir antifungal aktivite spektrumudur. Flukonazol, oral ve intravenöz uygulanabilir. Flukonazol, yenidoğan tedavisinde kullanımıyla kanıtlandığı gibi oldukça etkili ve güvenlidir. Terapideki güvenliği göz önüne alındığında, genellikle mikrobiyal direnç gelişimini destekleyen bir ilaç olarak yaygın şekilde kullanılır(Janowskive ark.,2024).

C. auris, *C. glabrata*ve *C. parapsilosis*'te flukonazole karşı yaygın bir direnç görülür.*C. krusei*flukonazole karşı intrensek dirençlidir.*C.dubliniensis*, *C.guilliermondi*,*C. kefir*, *C. lusitaniae* ve *C. krusei*'nin flukonazole dirençli olduğu düşünülmektedir (Barantsevich ve Barantsevich, 2022; Carmo ve ark., 2023).

Flukonazol kan-beyin bariyerine iyi nüfuz eder. Oral uygulamadan sonra tam emilim gösterir. Günde bir kez uygulanması yeterlidir. Değişmemiş ilacın %70-80'i idrarla atılır; böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlaması gerekir (Carmo ve ark., 2023).

Flukonazol, orofaringeal, özofageal, vajinal, peritoneal ve genito-üriner kandida enfeksiyonları, yaygın kandidiyazis ve kriptokokal menenjitin tedavisi için onay almıştır. İlaç ayrıca koksidioidomikozise karşı iyi bir aktiviteye sahiptir ve kronik mukokutanöz kandidiyaziste ketokonazole iyi bir alternatiftir (Carmo ve ark., 2023).

2.9.2.2. Vorikonazol

Vorikonazol, flukonazolden türetilen, sentetik, ikinci nesil bir triazol antifungal ilaçtır ve geniş spektrumlu antifungal aktivite göstermektedir. İnvaziv Aspergilloz için birincil tedavi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca hem tedavi hem de profilaksiste *Candida* türlerine karşı da etkilidir (Li ve ark., 2023).

Vorikonazol genellikle iyi tolere edilmesine rağmen yaygın yan etkiler arasında görsel ve işitsel halüsinasyonlar, deliryum, periferik nöropati, hepatotoksisite, fototoksisite, periostitis, osteokondrit, deri kanserleri, kardiyak aritmiler, alopesi, tırnak değişiklikleri, hiponatremi ve hiperkalemi yer alır (Guarascio ve ark., 2021; Li ve ark., 2023).

Vorikonazol esas olarak sitokrom p-450 izoenzimleri tarafından oksidatif olarak ve ikincil olarak CYP3A4 ve CYP2C9 enzimleri tarafından metabolize edilir, ayrıca kendisi bir CYP3A4 inhibitörüdür, bu nedenle vorikonazol ciddi ilaç etkileşimlerine sebep olur. Yaş, CYP2C19 gen polimorfizmleri, hepatik fonksiyon durumu, ilaç etkileşimleri gibi faktörler düşünüldüğünde vorikonazolün farmakokinetiği bireyler arasında değişkenlik gösterir. Bu durum da klinik yanıtta değişkenliğe neden olur (Li ve ark., 2023).

2.9.3. Poliyen Antifungaller

Başlangıçta bir toprak aktinomiçeti olan *Streptomyces nodosus*'tan elde edilen polienler, mantar hücre membranında bulunan ergosterole geri dönüşümsüz olarak

bağlanır. Bu bağlanma, iyon kanallarının oluşumuna ve proton ve monovalent kationların kaybına sebep olur ve bunun sonucunda depolarizasyon ve konsantrasyona bağlı hücre ölümü meydana gelir. Polienler aynı zamanda membran geçirgenliğini artıran serbest radikallerin oluşumunu sağlayarak oksidatif hasara da neden olur (Carmo ve ark., 2023).

Nistatin ve Amfoterisin B polien antifungallerdir. Amfoterisin B ve lipid formülasyonları sistemik mantar enfeksiyonlarında kullanılırken nistatin ciddi yan etkilerinden ve zayıf gastrointestinal emiliminden dolayı sadece topikal olarak kullanılmaktadır (Carolus ve ark., 2020; Altıntaş ve Şahiner, 2021; Carmo ve ark., 2023).

2.9.3.1. Amfoterisin B

Amfoterisin B ve lipid formülasyonları, mevcut tek sistemik polienlerdir. Lipit formülasyonları daha az toksiktir ve hastalar tarafından daha iyi tolere edilir. Amfoterisin B'nin kullanımı sıklıkla karşılaşılan bireysel tolerans sorunları ve nefrotoksisite nedeniyle sınırlıdır (Barantsevich ve Barantsevich, 2022).

Geleneksel AmB, geniş bir antifungal aktivite spektrumuna sahiptir, ancak memeli hücre membranlarındaki kolesterole de bağlanabilir ve bu da AmB ile ilişkili yaygın bir yan etki olan nefrotoksisiteye yol açabilir. AmB'nin fungal ergosterole olan afinitesi memeli kolesterolünden daha fazladır ve bu da ilacın yalnızca fungal hücrelerin varlığında salınmasını sağlar (Akinosoglou ve ark., 2024).

Amfoterisin B, *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* ve *Fusarium* türlerinin sebep olduğu sistemik enfeksiyonlarda, mucormikozis ve endemik mikozların tedavisinde kullanılır (Carolus ve ark., 2020).

2.9.3.2. Nistatin

Polien türevi bir antifungaldir. Gastrointestinal sistemden zayıf emilimi ve ciddi sistemik yan etkilerinden dolayı sadece topikal olarak kullanılmaktadır. *Candida* türlerinin sebep olduğu kütanöz, mukokütanöz ve gastrointestinal enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır (Carolus ve ark., 2020).

2.9.4.Pirimidin sentez inhibitörleri

2.9.4.1.Flusitozin(5-FC)

5-FC'nin etki şekli antifungal ajanlar arasında benzersizdir, çünkü DNA, RNA ve protein sentezini hedefler. 5-FC bir ön ilaçtır, yani aktivasyonu için bileşiğin pirimidin kurtarma yoluyla metabolize edilmesi gerekir, burada yıkıcı bir substrat olarak etki eder ve ardından toksik nükleotidlerin üretimi ve DNA ve protein sentezinin bozulmasına neden olur(Delma ve ark.,2021).

5-FC, yaygın patojenik mayalara karşı geniş bir aktivite spektrumu sergiler.5-FC, insan kriptokokozu ve kandidiyazını tedavi etmek için kullanılmaktadır.İlaç çok çeşitli *Candida* türlerine karşı etkilidir. *Aspergillus* ve kromoblastomikozun bazı etkenleri 5-FC'ye daha az duyarlıdır (Delma ve ark., 2021;Barantsevich ve Barantsevich, 2022).

5-FC, böbrekler tarafından atılır ve böbrek fonksiyonu bozuk hastalarda doz azaltılmalıdır. 5-FC vücudun çeşitli bölgelerine ve bölmelerine iyi dağılır; idrar yolu, beyin ve göz veya kalp kapakçıkları enfeksiyonları gibi diğer antifungal ajanların sınırlı ilaç penetrasyonu olan vücut bölgelerindeki mantar enfeksiyonlarının tedavisi için özellikle önemlidir.Amfoterisin B ile kombinasyon halinde uygulandığında, 5-FC kriptokokal menenjit ve kompleks *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde altın standart haline gelmiştir (Delma ve ark., 2021).

2.9.5.Griseofulvin

Penicillium griseofulvum'un metabolik bir ürünü olan griseofulvin mantar mikrotübüllerine bağlanarak mitotik içcik oluşumunu böylece hücre replikasyonunu önleyerek etki gösteren bir antifungaldir (Carmo ve ark., 2023).

Griseofulvin gastrointestinal sistemden emilir ve derinin keratinize yapılarına ulaşır, bu da dermatofitoz ve onikomikoz tedavisindeki başarısını haklı çıkarır. Griseofulvin *Trichophyton*, *Microsporum* ve *Epidermophyton* türlerine karşı fungistatik bir ilaç görevi görür. Ancak, dimorfik mantarlar, maya (*Malassezia* ve *Candida*) veya kromoblastomikoz ile ilişkili enfeksiyonların tedavisinde etkisizdir. Griseofulvinin biyolojik yarı ömrü kanda 9 ila 24 saattir ve karaciğer mikrozomal enzim sistemi

tarafından metabolize edildikten sonra idrar ve dışkıyla atılır. Mide bulantısı, kusma ve ishal en sık bildirilen yan etkilerdir ancak fotosensitivite, peteşi, pruritus ve ürtiker de bildirilmiştir. Griseofulvin porfiri hastalarında kullanılmamalıdır, çünkü varfarinin biyoyararlanımını azaltarak antikoagülan etkisinin azalmasına neden olur ve ayrıca etanol ile disülfiram benzeri reaksiyonlara neden olur. Yan etkiler ve tehlikeli ilaç-ilaç etkileşimleri göz önüne alındığında, griseofulvin kullanımı çoğu durumda terbinafin ve azoller ile değiştirilir (Carmo ve ark., 2023).

2.9.6.Alilaminler

Alilaminler ergosterol sentezini inhibe eden antifungallerdir. Bunu skualen epoksidazı inhibe ederek yaparlar. Skualen epoksidaz inhibisyonu skualen birikimine ve ergosterol sentezi inhibisyonuna neden olur. Ergosterol sentez inhibisyonu mantar hücre zarı yapısının bozulmasına yol açar. Skualen birikimi fungisidal aktiviteden, ergosterol sentez blokajı fungistatik aktiviteden sorumludur(Leung ve ark, 2022).

Terbinafin ve naftifin alilamin grubunda yer alan antifungallerdir. Terbinafin oral ve topikal olarak kullanılırken naftifin sadece topikal kullanılır(Dalal ve ark., 2022). Oral yoldan alındığında terbinafin cilt ve tırnak yataklarında yoğunlaşır ve nispeten düşük kan dolaşımı konsantrasyonlarına sahiptir, bu da onu onikomikoz ve kutanöz mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için iyi bir ilaç yapar. Terbinafin, dermatofitler,*C. albicans*ve *Scopulariopsis brevicaulis* ile ilişkili enfeksiyonları, özellikle azol antifungal ilaçları tolere edemeyen hastalarda tedavi etmek için kullanılır (Carmo ve ark., 2023).

2.10.Antifungal İlaçlara Direnç

Son birkaç dekadda geleneksel antimikrobiyallerin patojenlerle mücadelede giderek etkisiz hale geldiği görülmüştür. Bu durum, invaziv mantar enfeksiyonlarında kullanılan antifungal çeşitliliğinin yetersizliği, çoklu ilaca dirençli mantar türlerinin ortaya çıkması ve yayılması düşünüldüğünde antifungalller açısından endişe verici bir tablo oluşturmaktadır. İnvaziv mantar enfeksiyonlarında kullanılan antifungal çeşitliliğinin kısıtlılığı ve çoklu ilaca dirençli mantar patojenlerinin artışı artan mortalite ve morbidite oranlarıyla ilişkilendirilmiştir (Lee ve ark.,2021;Bilal ve ark., 2022).

Antifungal direnç, o türün çoğu izolatının büyümesini durduran ve/veya izolatu öldüren antifungal ilaç konsantrasyonlarında izolatın büyüme yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Antifungal direnç; intrinsek (birincil)direnç ve kazanılmış(ikincil) direnç olarak iki farklı şekilde görülmektedir. İntrinsek(birincil) antifungal dirençte mantar türleri işlevsel veya yapısal özellikler nedeniyle belirli bir antifungal ilaca karşı direnç gösterir. Bu kararlı durum aynı türün tüm suşlarında görülür ve önceki antifungal maruziyetten kaynaklanmamıştır. İntrinsek dirence *C. auris* ve *C. krusei*'nin flukonazole dirençli olması örnek olarak gösterilebilir. Kazanılmış(ikincil) direnç ise bir antifungale duyarlı olan türün suşlarında evrimleşebilir. Bu direnç türü genellikle klinik veya in vitro ortamda antifungale uzun süreli maruziyetten sonra gelişir. Mutasyonlar veya kromozomal yeniden düzenlemeler, antifungal aktivitenin veya mantar stres yanıtının etkilerini geçersiz kılan genlerin aşırı ifadesine neden olabilir. Bu değişiklik, ilaç tedavisinin baskısı azaltıldığında veya kaldırıldığında orijinal duruma geri dönebilir. Bazı mutantlar, gelecekteki ilaç baskısından bağımsız olarak dirençli fenotipi koruyabilir(Fisher ve ark.,2022;Czajka ve ark.,2023).

Antifungal ilaçların sık ve profilaktik olarak kullanımı direnç gelişiminde büyük rol oynar. Antifungal ilaç direncinin oluşumunda birçok adaptif mekanizma rol oynar. Bunlar;(Lee ve ark., 2021).

- 1) İlaç hedeflerindeki değişiklikler
- 2) Eflüks pompalarının aşırı ekspresyonu
- 3) Stres tepkilerinin modülasyonu
- 4) Genomik modifikasyonlar

Azol grubu antifungallere karşı görülen direnç edinilmiş veya kazanılmış olabilir. Azol direnci özellikle albicans dışı *Candida* türlerinde artış göstermektedir. *Candida*'larda azollere karşı direnç birden fazla mekanizma ile meydana gelebilir, ancak en yaygın olanları ilaç dışarı atma pompalarının ekspresyonu ve lanosterol 14 α -demetilaz üretiminden sorumlu olan ERG11 genindeki up-regülasyon veya mutasyonlardır.*Candida*'nın biyofilm üretme yeteneği, azol direncine katkıda bulunan bir diğer mekanizmadır(Logan ve ark.,2022).

Ekinokandinlere karşı direncin en yaygın şekli 1,3- β -D-glukan sentazının FKS1 genindeki mutasyonları içerir. Bu mutasyonlarla ilişkili amino asit değişimleri, ekinokandin duyarlılığının önemli ölçüde azalmasına neden olur ve bu mutasyonlar, ekinokandin sınıfının tüm üyeleri arasında çapraz dirence neden olur. Ekinokandin direncinin bir başka mekanizması, up-regülasyon kitin üretimini içerir(Logan ve ark., 2022).

Amfoterisin B'ye karşı edinilmiş direnç nadirdir ve direnç genellikle doğası gereği daha az duyarlı mantar suşlarının seçilmesiyle gelişir. Amfoterisin B'ye direnç, mantar hücre zarının ergosterol bileşeninde bir azalma ile karakterize edilir. *Candida* izolatlarının bir alt kümesinde, ERG genlerindeki mutasyonel kusurların ergosterol sentezini etkilediği gösterilmiştir (Logan ve ark., 2022).

Edinilmiş direnç, bazı ERG genlerindeki (ERG1, ERG2, ERG3, ERG4, ERG6, ERG11) değişiklikler nedeniyle hücre zarındaki ergosterol içeriğindeki azalmanın bir sonucudur. Bu nedenle, hücre sel sterol konsantrasyonlarını azaltan bir azol gibi bir antifungal ile tedavi, polien direncine yol açabilir. Direncin edinilmesi son derece nadirdir çünkü amfoterisin B'ye direnç kazandıran mutasyonlar, konaktan gelen dış streslere karşı toleransı önemli ölçüde azaltır(Tortorano ve ark.,2021).

Monoterapide kullanıldığında ortaya çıkan flusitozin direnci, FCY2, FCY1 ve FUR1 genlerindeki mutasyonlara bağlanmıştır. *C. glabrata*'da, arginin homeostazisi, hücre duvarı yeniden şekillenmesi ve Fps ailesinden akuagliseroporinler, flusitozin direncinin mekanizmaları olarak ortaya çıkmıştır(Tortorano ve ark., 2021).

Biyofilm bir diğer önemli ilaç direnci mekanizmasıdır. Hücre dışı matriks (ECM), mikroorganizmalar ile ilaç veya konak bağışıklık tepkisi arasında fiziksel bir bariyer görevi görür ve yüksek konsantrasyonlarda antifungal ilaçları tolere edebilen hücrelerin gelişimini destekler(Tortorano ve ark., 2021).

Flukonazol, vorikonazol ve itrakonazol,*Candida* biyofilmlerini ortadan kaldırmada başarısız olurken, ekinokandinler ve amfoterisin B lipid formülasyonları genç ve olgun biyofilmler arasındaki farklılıklarla antibiyofilm aktiviteleriyle bilinirler.

Ayrıca ekinokandinler *Candida* biyofilmlerine karşı in vitro aktiftir, ancak türlere bağlı olarak farklılıklar gözlenir(Tortorano ve ark., 2021).

2.11. Antifungal Duyarlılık Testleri

Antifungal duyarlılık testleri, saf bir kültürde üretilmiş belirli bir mantar suşunun bir antifungal ilaca duyarlılığını belirler. Antifungal duyarlılık testleri, sıvı veya katı ortamda ilacın tanımlanmış konsantrasyonlarında büyüme inhibisyonunu değerlendiren fenotipik yöntemlerdir (Durand ve ark.,2021).

Bir *Candida* izolatının antifungal duyarlılığı antimikrobiyal ajan seçimi ve invaziv kandidiyazis tedavisi için temel bir taşıdır. Antifungal duyarlılık testi performansı ve analizi için düzenli olarak güncellenen kılavuzlar yayınlayan iki büyük kurum vardır: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Birliği Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST). Her iki kurum da mantarlarda test performansı için yerleşik öneriler yayınlasa da antifungal duyarlılık analizinin bazı yönleri hakkında yeterli bilgiye sahip değildir. EUCAST şu anda ne *C. guilliermondii* için antifungallerin minimal inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) değerlendirilmesi hakkında bilgi ne de *Candida* türleri için kaspofungin ve isavukonazol yorumlayıcı kılavuzları sunmaktadır. Yoğun bakım ünitelerinde kan dolaşımı enfeksiyonu salgınlarına neden olabilen *C. auris*'in her iki sistemde de herhangi bir kılavuzu yoktur. Yayımlanan tek öneriler, flukonazol ve 5-florositozin hariç tüm azoller için bilgi içermeyen ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri tarafından verilen geçici MİK sınır değerleridir (Barantsevich ve Barantsevich,2022).

Son yıllarda invaziv fungal enfeksiyonlar için risk faktörlerine sahip hasta sayısının artması invaziv fungal enfeksiyonlarda artışa neden olmuştur. Bu durum beraberinde yapılan antifungal duyarlılık testlerini ön plana çıkarmıştır. Ekinokandin sınıfı antifungallerin bulunması, azollerin sayısının artması ve *C. auris*, *C. glabrata* gibi türlerde edinilmiş direnç ortaya çıkması antifungal tedavide doğru in vitro duyarlılık verilerine olan ihtiyacı arttırmıştır(Berkow ve ark.,2020).

Antifungal duyarlılık testleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarında, daha çok mayalar için yapılır. Bununla birlikte, kültürde tespit edilen her mantar patojeni için

duyarlılık testi önerilmez. Steril olmayan vücut bölgelerinden izole edilenler genellikle tedavi edilmez ve antifungal duyarlılık testi çalışılması gerektirmeyebilir. Bazı patojenler için tercih edilen antifungal ilaç, patojenin uygun şekilde tanımlanmasıyla ampirik olarak tedavi edilebilir ve klinik başarısızlık olmadığı sürece duyarlılık testi gerektirmeyebilir. Antifungal duyarlılık testlerinin önemi mantar enfeksiyonu invaziv olduğunda, edinilmiş ilaç direncinden şüphelenildiğinde veya hasta beklenmedik bir şekilde tedavide başarısız olduğunda ortaya çıkar. Bu durumların her biri için, in vitro duyarlılık örüntüsünü bilmek, klinisyene tedavi seçimleri veya değişiklikleri yaparken bilgi verecektir (Berkow ve ark., 2020).

2.11.1.Makrodilüsyon yöntemi

CLSI tarafından önerilen,mikrodilüsyonda olduğu gibi RPMI 1640 sıvı besiyerinin kullanıldığı, MİK değerlerinin görsel olarak saptandığı tüp dilüsyon yöntemidir. Yoğun emek isteyen ve zaman alıcı bir yöntemdir. Rutinde kullanım için uygun değildir (Sewell ve ark., 1994;Van Eldere ve ark., 1996; Ener, 1996).

2.11.2.Mikrodilüsyon yöntemi

Broth mikrodilüsyon, bir ilacın in vitro aktivitesinin, bilinen bir ilaç konsantrasyonuna sahip sıvı besiyerindeki bir test organizmasına karşı ölçüldüğü işlemdir. Geliştirilen ilk yöntemlerden biridir. Broth mikrodilüsyonda, standart bir ortam, antifungal bir ilacın 2 kat seri seyreltmeleri ve önceden belirlenmiş miktarda test organizması inokulumu içeren bir test tüpü veya mikrotitre plakası kullanılır. Bu deneyin son noktası, test organizmasının büyümesini önceden belirlenmiş bir dereceye kadar azaltan ilaç konsantrasyonu (MİK) olarak okunur. Makrodilüsyon, izlenen orijinal yöntem olsa da mikrodilüsyon klinik laboratuvarlarda kullanım için daha kolay benimsenmiştir (Berkow ve ark., 2020).

Klinik laboratuvarlarda broth mikrodilüsyon testi için kabul edilen iki standart vardır: CLSI tarafından belirlenen broth mikrodilüsyon standardı ve EUCAST tarafından belirlenen broth mikrodilüsyon standardı. Her iki standart farklı glikoz konsantrasyonları olsa da aynı ortamı ve gradient testin son noktasını tanımlamak için aynı kriterleri kullanır. Ayrıca şu anda klinik kırılma noktaları ve dolayısıyla antifungal

direnç ve/veya duyarlılık için yorumlar geliştirmek için benzer kriterleri kullanırlar ve bu da nihayetinde benzer sonuçlara ulaştırır. Ancak bu standartların önemli bazı farklılıkları vardır ve bunlaraşağıdaki tabloda özetlenmiştir(Berkow ve ark., 2020).

Tablo 1.CLSI ve EUCAST’egöre broth mikrodilüsyon yöntemleri arasındaki temel farklılıkların karşılaştırılması

PARAMETRE	CLSI M27-A4 7.3.1	EUCAST E.DEF
RPMI ortamının glikoz içeriği	%0,2 glikoz	%2 glikoz
Antifungal ajanın hazırlanması	En az 1 280 fg/ml veya test edilecek en yüksek konsantrasyonun10 katı dan stok konsantrasyonun hazırlayın hangisi daha büyükse onu kullanın	Plaka üzerinde test edilecek en yüksek konsantrasyondan en az 200 kat daha yüksek konsantrasyonlarda hazırlayın
Organizmanın hazırlanması	Mayayı en az iki kez alt kültüre alın	Alt kültürün sayısı tanımlanmamıştır
Mikro seyreltme plakası	U şeklinde kuyulara sahip plakalar	Düz tabanlı kuyucuklara sahip dokuyla işlenmiş plakalar
İnökulum boyutu	Mayalar 0.5×10^3 ia 2.5×10^3 hücre/ml filamentli mantarlar (dermatotif olmayan). 0.4×10^4 ila 5×10^4 hücre/ml filamentli mantarlar (dermatotif). 1×10^3 ila 3×10^3 hücre/ml	Mayalar 1×10^5 ila 5×10^5 hücre/ml filamentli mantarlar 2×10^5 ila 5×10^5 hücre/ml
Okuma yöntemi	Görsel	Spektrofotometrik
Amfoterisin B okuması	Büyümede %100 azalma veya ilk optik olarak berrak kuyu	Büyümede $\geq$ %90 azalma
Tavsiye		Düşük buharlaşmalı kapakların kullanımı tavsiye edilir

CLSI'nin kaspofungin için çeşitli maya türlerine karşı sınır değerler geliştirmiş olmasına rağmen, kaspofungin testlerinde sorunlar mevcuttur. Bazı laboratuvarlarda duyarlı izolatların dirençli olarak sınıflandırılmasıyla birlikte laboratuvarlar arası yüksek değişkenlik, kaspofunginin tek başına ekinokandinlere duyarlılık için bir alternatif olarak kullanılmaması gerektiği önerisine yol açmıştır. Bu nedenle, EUCAST kaspofungin için maya sınır değerleri tanımlamamıştır. Bu sorunlar, kaspofungin direnci için alternatif olarak kullanılabilen anidulafungin veya mikafungin ile gradient test yapıldığında karşılaşılmaz (Berkow ve ark., 2020).

2.11.3.Disk difüzyon yöntemi

Duyarlılık testine yönelik en eski yaklaşımlardan biridir ve özellikle kaynak kısıtlı ortamlarda birçok klinik laboratuvar da yaygın olarak kullanılmaya devam etmektedir. Disk difüzyon testi ucuzdur, tekrarlanabilir ve yorumlanması kolaydır (Berkow ve ark., 2020).

Disk difüzyon testi, sabit konsantrasyonda antifungal ilaç ile doyurulmuş kâğıt disklerin kullanımı ile yapılır. Antifungal madde agaraya yayılır ve diskin etrafında inhibisyon bölgesi olarak adlandırılan bir alan oluşur. Bu bölgenin çapı, antifungal maddenin disk difüzyon değeri olarak okunur. Bu çap ilacın agar ortamından difüzyon hızına ve izolatin o ilaca duyarlılığına bağlıdır (Berkow ve ark., 2020; Altıntaş ve Şahiner, 2021).

CLSI, mayalarda disk difüzyon duyarlılık testi için standartlaştırılmış bir protokol geliştirmiştir. Disk difüzyon testi için önerilen ortam, testin maksimum tekrarlanabilirliği için %2 glikoz ve 0,5 µg/ml metilen mavisi boyası (GMB) içeren Mueller-Hinton agar besiyeridir. Glikoz ilavesi mantar büyümesini destekler ve metilen mavisi boyasının ilavesi inhibisyon zonunun belirgin olmasını sağlar. Besiyerinin pH'ı oda sıcaklığında 7,2 ile 7,4 arasında olmalıdır. CLSI, disk difüzyon testi için inokulumun, broth mikrodilüsyonda olduğu gibi ml başına 1×10^6 ile 5×10^6 hücrelik süspansiyonu önermektedir. Steril bir eküvyon çubuğu hazırlanan hücre süspansiyonuna batırılır, fazla sıvıyı çıkarmak için tüpün iç duvarına sıkıca bastırılır ve daha sonra tüm agar yüzeyini toplam 3 kez çizmek için kullanılır, her seferinde inokulumun plaka boyunca eşit şekilde dağıldığından emin olmak için plaka yaklaşık 60° döndürülür. Plaka en az 3 dakika, ancak 15 dakikadan fazla olmamak üzere kurutulduktan sonra, diskler agaraya yerleştirilir ve yüzeyle tam temas sağlamak için hafifçe bastırılabilir. Birden fazla disk kullanılıyorsa, merkezden merkeze 24 mm'den daha yakın olmamalıdır. $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 20 ila 24 saatlik inkübasyonun ardından, her disk için zon çapı, büyümenin belirgin bir şekilde azaldığı noktada en yakın milimetreye kadar ölçülür (Berkow ve ark., 2020; Altıntaş ve Şahiner, 2021).

Disk difüzyon yöntemi, teknik olarak basit ve ucuz olması ve az ekipman gerektirmesi nedeniyle *Candida*'lar için ideal bir test yöntemidir. Disk

difüzyon sonuçları ile broth mikrodilüsyon ile elde edilen MİK sonuçları arasında büyük oranda uyum belirlenmiştir. Broth mikrodilüsyonla disk difüzyonu arasındaki kategorik uyum >%90 ve çoğu durumda >%95 olma eğilimindedir. Bu yöntemin sınırlaması, bir MİK değeri sağlamamasıdır. Bölge çapı yorumlayıcı ölçütleri, bölge çaplarının birçok izolatın MİK değerleriyle karşılaştırılmasıyla geliştirilmiştir. Daha sonra bu değerler, MİK ve hasta sonucuyla genel korelasyona dayalı olarak yorumlayıcı ölçütlere dönüştürülmüştür. Bunun anlamı, disk difüzyon ölçütlerinin yalnızca halihazırda kırılma noktaları bulunan mantar/antifungal kombinasyonları için geliştirilebileceğidir. Bu, disk difüzyonunun kırılma noktaları bulunan *Candida* izolatlarının >%90'ı için yararlı olduğu anlamına gelse de bu yöntem ortaya çıkan türler veya yeni geliştirilen antifungal ilaçlar için yararlı değildir çünkü sonucu yorumlamanın bir yolu yoktur (Berkow ve ark., 2020).

2.11.4.Gradient test yöntemi

Broth mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemlerine bir alternatif, gradyan difüzyon şeritlerinin kullanılmasıdır. Bunlar, bir tarafında önceden tanımlanmış, kurutulmuş bir antifungal ilaç gradyanı ve diğer tarafında bir konsantrasyon ölçeği ile işaretlenmiş ince plastik veya kâğıt şeritlerdir. Bu şeritler, disk difüzyon yönteminde olduğu gibi maya süspansiyonu ile aşılınmış agar yüzeyine yerleştirilir. 24 ila 48 saatlik inkübasyondan sonra, antifungal ajanın difüzyonundan kaynaklanan mantar büyümesinin inhibisyonu nedeniyle şeritlerin etrafında bir elips görülebilir. MIC, elipsin ölçeği geçtiği noktada okunur. Tüm onaylı antifungal ilaçlar için şeritler mevcuttur. Kullanım kolaylığının yanı sıra, gradyan difüzyon şeritlerinin disk difüzyona göre sahip olduğu bir avantaj da MİK değeri üretmek antifungal duyarlılığı ölçme yeteneğidir. Gradyan difüzyonla üretilen MİK değerleri, broth mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen değerlerle karşılaştırıldığında uyumludur (Berkow ve ark., 2020; Durand ve ark., 2021).

Gradyan difüzyon yönteminin broth mikrodilüsyon yönteminden farklı olarak bir avantajı amfoterisin B'nin test edilmesidir. Broth mikrodilüsyon testi ile *Candida* türlerinin amfoterisin B'ye karşı MİK değerleri 0,25 ila 1 µg/ml aralığında sıkı bir şekilde kümelenmiştir. Ancak gradyan difüzyon şeritleri kullanıldığında çok daha geniş ve çeşitli bir MİK değeri aralığı elde edilir. Bu, amfoterisin B testinin gradyan difüzyon

şeritleri kullanılarak yapıldığında daha güvenilir olduğunu göstermektedir (Berkow ve ark., 2020).

Gradyan test yöntemi ile antifungal duyarlılık belirlenmesinde besiyeri ortamının seçimi önem arz eder. Bu yöntemde RPMI bazlı agar besiyeri en uygun besiyeri olarak görülür. Bazı laboratuvarlarda disk difüzyon yönteminde olduğu gibi %2 glikoz ve 0.5 µg/ml metilenmavisi eklenmiş Mueller-Hinton agar besiyeri kullanılmaktadır(Altıntaş ve Şahiner, 2021).

2.11.5.Akış sitometrisi

Akış sitometrisi ile antifungal duyarlılık çalışma bir antifungalın varlığında hücre canlılığındaki değişikliklerin saptanmasıyla değerlendirilir. Bu yaklaşım, inkübasyon süresini azalttığı için hücre sayımına göre tercih edilir. Antifungal ilacın seri dilüsyonları ve floresan boya ile boyanmasının ardından, mantar hücreleri bir akış sitometresi kullanılarak floresansları açısından ölçülür.Floresandaki ve hücre canlılığındaki değişiklikler antifungal kaynaklı hasarın bir göstergesi olarak yorumlanır. MİK, bilinen bir in vitro duyarlılığı olan bir izolatla karşılaştırıldığında, pozitif hücrelerin veya yüksek floresans gösteren hücrelerin yüzdesinin bir eşik değerinin üzerinde olduğu belirli bir antifungal ilacın en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanabilir (Berkow ve ark., 2020;Durand ve ark., 2021).

Akış sitometrisinin referans antifungal duyarlılık yöntemleriyle karşılaştırılması birden fazla tür ve birden fazla antifungal için umut verici verilerle sonuçlanmıştır. Kısa sonuç alma süresine rağmen (30 dakika ila 1 saat), antifungal duyarlılık çalışmak için akış sitometrisi klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılmamaktadır. Standartlaştırılmış protokoller eksiktir. Ayrıca teknik uzmanlık gerektirir ve laboratuvarların çoğu bu tür aletlerle donatılmamıştır (Berkow ve ark., 2020;Durand ve ark., 2021).

2.11.6. Ticari olarak geliştirilen antifungal duyarlılık testleri

2.11.6.1.MALDI-TOF kütle spektrometrisi

Matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanı (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi, protein profillerini doğrudan klinik izolatlardan tespit eder ve hem bakteri hem de mantarların tanımlanması için klinik mikrobiyoloji laboratuvarında temel bir araç haline gelmiştir. MALDI-TOF kütle spektrometrisi antifungal duyarlılık testleri için de incelenmiştir. Mantarların antifungale maruziyeti protein bileşiminin değişimine neden olur. Bu protein değişimiyle bir mantar izolatının duyarlı veya dirençli fenotipi belirlenebilir. Genel olarak, bir mantar izolatu bir antifungal ilaç konsantrasyonuna maruz bırakılır ve MALDI-TOF kütle spektrometrisi ile analiz edilir ve ilaçsız bir kontrole kıyasla protein yapısındaki herhangi bir değişiklik, antifungal kaynaklı hasarın bir göstergesi olarak yorumlanır. MALDI-TOF kütle spektrometrisi ile elde edilen antifungal konsantrasyonları broth mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen MİK değerleriyle uyum içindedir. MALDI-TOF kütle spektrometrisi uzun inkübasyon süresi nedeniyle kullanımı uygun görülmemektedir (Berkow ve ark., 2020;Durand ve ark., 2021).

2.11.6.2. Vitek2 maya panelleri

Vitek 2 maya duyarlılık paneli (bioMérieux, Hazelwood, MO, ABD), klinik olarak ilgili *Candida* türleri için tür tespiti ve bir MİK değeri belirlemek üzere spektrofotometrik algılamalar yapan antifungal duyarlılık testlerine yönelik tam otomatik bir sistemdir. Temel olarak, hem test edilecek mayanın bir mantar süspansiyonu hem de 4 ila 6 farklı konsantrasyonda kurutulmuş antifungal kartlar okumanın otomatik olarak değerlendirildiği sisteme dahil edilir. Ortalama 12 ila 14 saat sonra her bir antifungal için bir MİK değeri rapor edilir(Berkow ve ark., 2020;Durand ve ark., 2021).

Vitek2 maya panellerinin sağladığı otomasyon, yüksek test hacmi olan klinik mikrobiyoloji laboratuvarları için idealdir. Özel mikoloji eğitimi gerektirmez ve broth mikrodilüsyonla karşılaştırılabilir doğru sonuçlar üreten hızlı bir antifungal duyarlılık yöntemidir. Hem CLSI hem de EUCAST referans yöntemleriyle uyum genel olarak >%95'tir (Berkow ve ark., 2020;Durand ve ark., 2021).

2.11.6.3.Sensititre yeast one panelleri

Sensititre YeastOne panelleri kolorimetrik olarak antifungal MİK'i belirleyen ticari olarak hazırlanmış bir broth mikrodilüsyon plakasıdır. Diğer broth mikrodilüsyon formları gibi, Sensititre YeastOne paneli antifungal ilacın seri dilüsyonlarını içeren 96 kuyucuklu bir plakadan oluşur. Sensititre YeastOne panelleri diğer yöntemlerden farklı olarak canlı mantarlar tarafından oksitlendiğinde maviden pembeye dönüşen hücre canlılığının bir göstergesi ve kolorimetrik büyüme göstergesi olan resazurin (alamar blue)içerir. MIC'ler, 24 saatlik inkübasyondan sonra, kuyucukların mavi kaldığı (büyüme olmadığı) en düşük antifungal konsantrasyonlar olarak belirlenir ve CLSI kesme noktalarına göre yorumlanır. Bu nedenle mantar büyümesi ve MİK tayini tanımlanmış bir büyüme miktarından ziyade kuyudaki bir renk değişimine dayanır. Şu anda, referans yöntemlerle yüksek düzeyde uyumu ve uygulanabilme ve okunabilme kolaylığı nedeniyle, yöntem klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır(Berkow ve ark., 2020;Durand ve ark., 2021).

2.11.7.Moleküler yöntemler

Antifungal direncin moleküler tespiti, PCR, hibridizasyon, hedeflilizileme veya tüm genom dizileme gibi nükleik asit bazlı testlere dayanır. Moleküler yöntemlerde antifungal dirençle ilişkili olduğu bilinen genetik değişikliklerin saptanması hedeflenir. Mantarlarda kazanılmış direnç, çoğunlukla antifungal hedefleri ve taşıyıcıları kodlayan genlerdeki mutasyonların yanı sıra bu ürünlerde yer alan transkripsiyon faktörlerinden kaynaklanmaktadır.Moleküler yöntemler ile antifungal duyarlılık çalışılmasının en önemli avantajı tedavi sırasında gelişen direnç mekanizmalarının direkt tespitidir. Yüksek duyarlılık ve verimliliğe sahip alele özgü direnç durumunu saptayan gerçek zamanlı PCR kullanımı ilaca dirençli suşların hızlı ve kolay belirlenmesini sağlamakta ve tedavinin yönetimine yardımcı olur(Altıntaş ve Şahiner, 2021; Durand ve ark., 2021)

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışmaya Alınacak İzolatların Seçimi

Çalışmaya Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na gönderilen ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hastanesi'nde tanı ve tedavi nedeniyle takip edilen hastaların kan kültürlerinden izole edilen, otomatize sistemlerle tanımlanan ve in vitro antifungal duyarlılık testleri çalışılan 63 *Candida* suşu dahil edildi. İzole edilen suşlar boncuklu saklama tüplerinde -80°C'de saklandı. 63 *Candida* suşu, 63 ayrı hastadan izole edilmiştir.

3.2.Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

SDA besiyerinin hazırlanması: Dekstroz, kazeinin pankreatik sindirimi, hayvan dokusunun peptik sindirimi karışımı ve bakteriyolojik agar içeren hazır toz içerikten 65 gram tartıldıktan sonra 1000 ml distile suya eklendi. Karışım 121°C'de 15 dk boyunca otoklavlandı. Otoklavdan çıktıktan sonra 50°C'ye soğutulan besiyeri, çapı 9 cm olan steril petri kaplarına 20'şer ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

Metilen Mavili Müller Hinton Agar Besiyerinin Hazırlanması:1 litre, metilen mavili %2 glukoz içeren müller hinton agar besiyeri hazırlamak için 38 gram müller hinton toz agar ve 20 gram glukoz tartılıp 1 litre distile suda çözülmüştür. 1 litre besiyerine 0,0005 mg metilen mavisi eklemiş olmak için 0,5 gram metilen mavisi tartılıp 100 ml distile suda çözülmüştür. Hazırlanan çözeltiden 100 µl alınıp besiyerine ilave edilmiştir. Sterilizasyon için hazırlanan besiyeri 121°C'de 15 dk boyunca otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıktıktan sonra 50°C'ye soğutulan besiyeri, çapı 9 cm olan steril petri kaplarına 20'şer ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

RPMI1640 Besiyerinin Hazırlanması:*Candida* suşlarının sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi yönteminde sodyum bikarbonat içermeyen, L- glutamin ve %2 glukoz içeren Roswell Park Memorial Institute (RPMI%2 G) 1640 sıvı besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri 2 kat güçte (RPMI, MOPS Free Asit ve glukoz 2 kat konsantrasyonda kullanılmıştır) olacak şekilde hazırlanmıştır. 1 litrelik besiyeri hazırlamak için 20,8 g RPMI 1640 besiyeri, 69,06 g MOPS Free Asit tamponu ve 36 g glukoz 900 ml distile suda çözülmüştür. 1 M NAOH çözeltisi ile

besiyeri pH değeri 7.0(6,9-7,1 kabul edilebilir değerler) olacak şekilde ayarlanmıştır. 1 L olan son hacme ulaşmak için distile su kullanılmıştır. Hazırlanan çözelti 22 µm por çaplı bir filtreden geçirilerek steril edilmiş, 100ml'lik hacimlere bölünerek +4°C'de saklanmıştır. Hazırlanan besiyeri standart bir suş kullanılarak üreme kontrolü yapılmıştır.

CHROMagar *Candida* besiyeri : Hazır plak şeklinde temin edilip kullanılmıştır.

3.3.Çalışmada Kullanılan Antifungal Maddeler

- Amfoterisin B (Toz, disk ve gradient test)
- Flukonazol (Toz, disk ve gradient test)
- Vorikonazol (Toz, disk ve gradient test)
- Mikafungin (Toz ve gradient test)

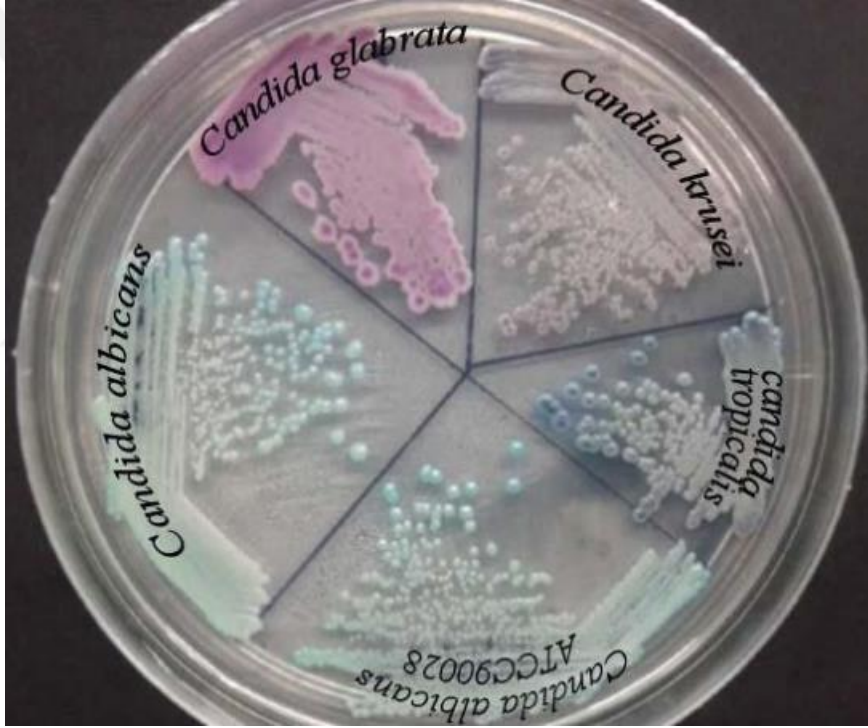
3.4.Geleneksel Yöntemlerle İdentifikasyon

3.4.1.Germ tüp testi

SDA besiyerinde 37°C'de 24-48 saat boyunca inkübe edilmiş *Candida* kolonilerinden steril öze yardımıyla bir miktar alınıp 0,5 ml insan plazması bulunan test tüpüne eklenerek karıştırıldı. Hazırlanan karışım 37°C'de 2 saati geçmeyecek şekilde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra steril öze yardımıyla karışımdan bir miktar alınıp lam-lamel arası direkt preparat hazırlandı. Preparat X40 objektifle ışık mikroskopunda incelendi. Maya hücresinden boğumlanma olmadan çıkan, maya hücresinin yaklaşık 3-4 katı uzunluğundaki hif benzeri yapılar germ tüp olarak değerlendirildi. Maya hücresinden boğumlanma göstererek çıkan hif benzeri yapılar ise yalancı germ tüp olarak değerlendirildi. Germ tüp oluşturan *Candida* izolatları *C. albicans*; yalancı germ tüp oluşturanlar *C. tropicalis* ve germ tüp oluşturmayanlar non-albicans *Candida* olarak değerlendirildi (Procop ve ark., 2017).

3.4.2.Kromojenik besiyeri ile tanımlama

SDA besiyerinde 37°C’de 24-48 saat boyunca inkübe edilmiş *Candida* izolatları steril bir öze yardımıyla CHROMagar *Candida* besiyerine ekildi. CHROMagar *Candida* besiyeri 37°C’de 48 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyeri, *Candida* kolonilerinin oluşturduğu renk ve görünüm yönünden incelendi. Açık yeşil koloniler *C. albicans*, metalik mavi koloniler *C. tropicalis*, beyaz sınırları olan pembe-tüylü koloniler *C. krusei*, pembe ve düzgün koloniler *C. parapsilosis*, lila/kahverengi koloniler *C. glabrata*, beyaz koloniler ise diğer *Candida* türleri olarak değerlendirildi(Nü ve ark., 2003; Kınıklı ve ark., 2018; Çürük ve ark., 2023; Garoussi ve ark.,2024).



Şekil 7. CHROMagar *Candida* besiyeri ile farklı *Candida* türlerinin oluşturduğu farklı renk ve morfolojiler(Jain ve ark., 2012)

3.5. Otomatize Sistemlerle Identifikasyon

3.5.1. BD Phoenix™ (Becton Dickinson, ABD)

İdentifikasyonu yapılan suşlara, BD Phoenix M50 (Becton Dickinson, ABD) otomatize sisteminde, *Candida*’lar için Phoenix 50 NMIC paneli kullanılarak tanımlama yapıldı. SDA plaklarından saf olarak elde edilen kolonilerden steril eküvyon

ile alınarak Phoenix ID sıvısı içerisinde 0,5 McFarland maya süspansiyonu hazırlandı. Mikropipetle 25 µl maya süspansiyonundan alınıp AST tüpüne konulup paneldeki yuvasına boşaltıldı ve cihaza tanıtılıp yerleştirildi. *Candida*'ların tür düzeyinde tanımlanması 16-20 saat sonra gerçekleşti.

3.5.2.MALDI-TOF MS

İzolatların doğrudan SDA besiyerinden elde edilen taze kültürlerinden analiz yapıldı. *Candida* izolatlarının bir günlük ve iki günlük kültürlerinden alınan koloniler 48 noktalı paslanmaz çelik plaka (VITEK MS, bioMe'rieux, Fransa) üzerine sürüldü. Plaka üzerinde ekstraksiyon, her noktanın 0.5 µl %28,9'luk formik asit çözeltisi ile kaplanması ve numunelerin 5 dakika boyunca kurumaya bırakılmasıyla gerçekleştirildi. Daha sonra her bir numuneye 1 µl CHCA matrisi (α -siyano-4-hidroksisinamik asit) pipetlendi ve MALDI-TOF MS ile analiz öncesi havada kurutuldu. Kuruma sonrası plaka MALDI-TOF kütle spektrometrisi cihazına (VITEK-MS) yüklendi. Spektrum analizi için VITEK® MS veri tabanı (MYLA 4.9 yazılım programı ve kütüphanesi) kullanıldı. Bu spektrumlardan elde edilen pikler, belirli bir tür, cins veya mikroorganizma ailesi için karakteristik modellerle karşılaştırıldı ve bu, organizmanın tanımlanmasıyla sonuçlandı. Üretici firma talimatlarına göre güven değeri 60 ile 99,9 arasında değişiyorsa “kesin tanımlama”, güven değeri 60'ın altındaysa “belirsiz tanımlama” olarak kabul edildi. Kalite kontrol suşları *C. albicans* ATCC 90028 idi. Her çalışma için aleti kalibre etmek üzere *E. coli* ATCC8739 kullanıldı.

3.6.PCR Yöntemi ile İdentifikasyon

3.6.1. DNA izolasyonu

Candida örnekleri Saboroud Dekstroz agarda (SDA) 37°C'de 48 saat boyunca, 2 ayrı pasaj kullanılarak inkübe edildikten sonra çalışmaya alındı. *Candida*'ların DNA izolasyonu için genomik DNA izolasyon kiti (NucleoGene, Türkiye) kullanıldı. Buna göre;

2 ml tüp içindeki 5×10^6 hücre, 5000 devirde 10 dk boyunca santrifüj edildi ve süpernatantı atıldı. Hücre pelleti 100 µl TE Tamponda yeniden süspanse edildi.

400 µl Lizis Tamponu, 20 µl proteinaz K eklendi ve numune bir termo çalkalayıcıda 60° C’de ve 550 rpm’de 35 dakika boyunca inkübe edildi.

İnkübasyondan sonra tüpe 400 µl Bağlama Tamponu eklendi ve 15 saniye boyunca vortekslendi.

Karışımın 800 µl’si döndürme kolonuna aktarıldı ve 2 dakika boyunca 10000 devirde santrifüjlendi. Alt tüpteki sıvı atıldı ve kolon bir toplama tüpüne yerleştirildi.

500 µl Yıkama Tamponu döndürme kolonuna eklendi. 10 000 devirde 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Sıvıyı içeren alt tüp atıldı ve kolon bir toplama tüpüne yerleştirildi.

750 µl Yıkama 2 Tamponu döndürme kolonuna eklendi. 10000 devirde 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Sıvıyı içeren alt tüp atıldı ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.

Döndürme kolonu, rezidü etanolün uzaklaştırılması için 10.000 devirde 3 dakika boyunca santrifüjlendi.

Döndürme kolonu, steril 1,5 ml’lik bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Döndürme kolonunun merkezine 200 µl Arıtma (Elüsyon) Tamponu eklendi ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.

Döndürme kolonu 10000 devirde 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Elde edilen sıvı DNA içerir ve kullanıma hazır durumdaydı. Uzun süreli saklama için -20°C’de saklandı. Kullanılan *Candida* primerlerinin baz dizilimi ve ampikon uzunluğu tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2.*Candida* türleri için kullanılan primerlerin bazdizilimleri ve uzunluğu

Primer Adı	Baz Dizisi 5'-3'	Amplikon boyu (bp)	Kaynak
<i>C. albicans</i>	F:TTT ATC AAC TTG TCA CAC CAG A	273	Susever ve Yeğenoğlu, 2012
	R: ATC CGG CCT TAC CAC TAC CG		
<i>C. krusei</i>	F:ACT ACA CTG CGT GAG CGG AA	360	Susever ve Yeğenoğlu, 2012
	R:AAA AAG TCT AGT TCG CTC GG		
<i>C. tropicalis</i>	F:CAA TCC TAC CGC CAG AGG TTA T	357	Susever ve Yeğenoğlu, 2012
	R:TGG CCA CTA GCA AAA TAA GCG T		
<i>C. parapsilosis</i>	F:GCCAGAGATTAAACTCAACCAA	297	Taira ve ark., 2014
	R: CCTATCCATTAGTTTATACTCCGC		
<i>C. glabrata</i>	F:TTA TCA CAC GAC TCG ACA CT	423	Susever ve Yeğenoğlu, 2012
	R:CCC ACA TAC TGA TAT GGC CTA CAA		
<i>C. lusitaniae</i>	F:GCG ATA CGT AGT ATG ACT TGC AG	137	Taira ve ark., 2014
	R:GAT ATT TCG GAG CAA CGC CTA ACC		
<i>C. kefyr</i>	F:CTT CCA AAG GTC AGA AGT ATG TCC	532	Erbaş ve ark., 2017
	R:CTT CAA ACG GTC TGA AAC CT		

PCR karışımının hazırlanması için HotStart Mastermix (2X) (Nucleogene, Türkiye) kullanıldı. Karışım miktarları Tablo 3'de gösterildiği gibi hazırlanmıştır

Tablo 3.*Candida* türlerini tanımlamak için kullanılan PCR karışımının içeriği

İçerik	Miktar
2XHotStart Mastermix	12,5 µl
F Primer	0,5µl
R Primer	0,5µl
DNAaz, RNAaz içermeyen deiyonize su	7,5µl
DNA	4µl

Toplam	25µl
---------------	------

PCR karışımları soğuk blok üzerinde hazırlandı. Hazırlanan karışım amplifikasyon işlemi için termal döngü cihazına yerleştirildi. Isı döngüsü Tablo 4’de gösterildiği gibi ayarlandı. Termal döngüden çıkarılan ampliconlar elektroforez işlemi için 4°C’de muhafaza edildi. Tablo 4’te *Candida* türlerini tanımlamak için kullanılan PCR döngü aşamaları gösterilmiştir.

Tablo 4. *Candida* türlerini tanımlamak için PCR döngü aşamaları

Aşamalar	Sıcaklık	Süre	Siklus Sayısı
Ön denatürasyon	95°C	5 dk	1
Denatürasyon	95°C	10 sn	40
Bağlanma	60°C	40sn	

3.6.2. Agaroz jel hazırlanması

Çalışmada %1,5 ‘luk agaroz jel kullanıldı. 1,5 gr agaroz hassas terazide tartıldı. Üzerine 100 ml distile su eklendi. Mikrodalga fırında kaynamayacak şekilde ısıtılarak agaroz eritildi. Hazırlanan çözelti 50°C’ye soğutulduktan sonra 5µl syber safe jel boyası eklendi. Elektroforez tepsisine uygun tarak konuldu. Jel, hazırlanan tepsiye 6mm kalınlığında olacak şekilde dökülerek soğumaya bırakıldı. Yaklaşık 25-30 dk sonra jel soğuyup katılaşarak hazır duruma geldi.

3.6.3. 0,5X TBE hazırlanması

0,5XTBE için firmadan (Hydra, Türkiye) hazırlanan 10XTBE sıvısından 1/20 oranında dilüsyon yapıldı. 10XTBE sıvısından 50ml alındı. Üzerine 950ml distile su eklenerek 1000ml’ye tamamlandı. Soğuyup katılaşan jel, tepsi ile birlikte jel tankına yerleştirildi. Jeldeki tarak dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Üzerine jel geçecek şekilde hazırlanan 0,5XTBE tamponu eklendi. Jel ampliconlarının yüklenmesi için hazır duruma getirilmiş oldu.

3.6.4. PCR Ürünlerinin Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi

Elektroforeze yüklenmek üzere hazır olan *Candida* amplikonları +4°C'den çıkarıldı. 5µl amplikon+2µl yükleme boyası karıştırıldı. İlk kuyucuğa ve son kuyucuğa DNA Ladder plus'tan 7µl yüklendi. 100-3000 baz çifti arasında ayırmayı yapabilen DNA ladder kullanıldı. 2. ve 3. kuyucuğa pozitif kontrol olarak *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 standart suşları, 4. kuyucuğa negatif kontrol olarak *K. pneumoniae* ATCC 700603 standart suşu yüklendi. Daha sonra diğer örnekler sırayla kuyucuklara eklendi. Yükleme işlemi bittikten sonra, *Candida* türlerini tanımlama için 70 voltta 90 dk yürütme yapıldı. Yürütme işlemi bittikten sonra jel, görüntüleme sistemi (Bio-Rad ChemicDoc XRS+ Image Lab Software) kullanılarak okutuldu.

3.7. Kullanılan Antifungal Duyarlılık Yöntemleri

3.7.1. Broth(sıvı) mikrodilüsyon yöntemi

İzole edilen *Candida* suşlarının vorikonazol, flukonazol, mikafungin ve amfoterisin B'ye karşı in vitro duyarlılıkları EUCAST E.DEF versiyon 7.3.2 Mayalar İçin Antifungal İlaçların Sıvı Dilüsyonla Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarını Belirleme Yöntemi önerilerine göre belirlenmiştir.

3.7.1.1. İnokulumun hazırlanması

-80°C'de boncuklu tüplerde saklanan *Candida* suşları SDA besiyerine ekilmiştir. 35± 2° C'de, 24-48 inkübasyonu yapılan suşlar SDA besiyerine ikinci kez ekilmiş; 35 ± 2° C'de, 24-48 saat inkübe edilmiştir. 2. pasajdan sonra inkübasyonu tamamlanan saf kültürden çapı en az 1 mm olan 5 ayrı koloni alınmış, steril distile suda süspansiyonu yapılmıştır. Süspansiyon bir vorteks karıştırıcıda 15 sn süreyle karıştırılmıştır. Hücre yoğunluğu 530 nm dalga boyundaki bir spektrometrede 0,5 McFarland standardına ayarlanmıştır. Sonuç olarak 1-5 x 10⁶ KOB/mL'lik süspansiyon elde edilmiştir. Bu süspansiyon steril distile suda 1/10'luk sulandırımı yapılarak 1-5 x 10⁵ KOB/mL'lik bir son çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

3.7.1.2. Stok solüsyonlarının hazırlanması

Çalışmada kullanılan mikafungin, flukonazol, vorikonazol ve amfoterisin B toz şekli tedavinin edilmiştir. Amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve mikafungin için çözücü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır. Antifungal tozların temin edildiği üretici firmanın bildirdiği ilaç potensi göz önüne alınarak ve $Ağırlık\ (g) = Hacim\ (L) \times Konsantrasyon\ (mg/L) / Etki\ gücü\ (mg/g)$ formülü kullanılarak istenen konsantrasyonda antifungal stok solüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan antifungal solüsyonlar tek seferde kullanılacak hacimlerde steril polipropilen viyallere konulup -80°C’de saklanmıştır. Stok solüsyonlar 6 ay içinde kullanılmıştır ve çözünen stok solüsyonlar tekrar dondurulmamıştır.

Steril saklama tüplerine alınan stok solüsyon -80° C’de 6 ayı geçmemek şartıyla saklanmıştır. Antifungalın dondurulmadan önce tamamen çözünmesini sağlamak önemlidir. Bazı antifungallerin çözülmesi zor olabilir. Bu durum yapay olarak yüksek MIC’lere neden olur. Kullanılmak üzere çözdürülen tüp geri dondurulmamıştır.

Amfoterisin B’nin Hazırlanması: Amfoterisin B’nin temin edildiği firmanın bildirimine göre potensi (etki gücü) %100’dür, yani 1 gram Amfoterisin B antifungal toz preparatında 1000 miligram Amfoterisin B mevcuttur. Firmanın Amfoterisin B için bildirdiği çözücü ise DMSO (dimetilsülfoksit)’dur. Amfoterisin B için test aralığı 0,008-4 mg/l’dir. 3200mg/l konsantrasyonda 0,01 litre (10 ml) hacminde stok solüsyon hazırlamak için;

“Çözücü Hacmi (mL): $Ağırlık\ (g) \times Potens\ (mg/g) / stok\ antifungal\ konsantrasyonu\ (mg/L)$ ” formülüne göre:

$$10ml = Ağırlık(g) \times 1000(mg/g) / 3200(mg/g)$$

$$Ağırlık(g) = 0,032\ gram = 32\ mg$$

Potensi %100(1gramda 1000 mg) olan Amfoterisin B’den 3200mg/l konsantrasyonunda 10 ml hacminde stok solüsyon hazırlamak için 32 mg Amfoterisin B antifungal toz kullanılmıştır.

10 ml hacmindeki stok solüsyon 250µl’lik hacimlere bölünerek saklandı.

Flukonazol'un Hazırlanması:Flukonazol'ün temin edildiği firmanın bildirimine göre potensi (etki gücü) %98'dir, yani 1 gram flukonazol antifungal toz preparatında 980 miligram Flukonazol mevcuttur. Firmanın Flukonazol için bildirdiği çözücü DMSO (dimetilsülfoksit)'dur. Flukonazol için test aralığı 0,125-64 mg/l'dir. 5120mg/l konsantrasyonda 0,01 litre (10 ml) hacminde stok solüsyon hazırlamak için;

“Çözücü Hacmi (mL): Ağırlık (g) x Potens (mg/g) / stok antifungal konsantrasyonu (mg/L)” formülüne göre:

$$10 \text{ ml} = \text{Ağırlık(g)} \times 980(\text{mg/g}) / 5120(\text{mg/g})$$

$$\text{Ağırlık(g)} = 52,24 \text{ mg}$$

Potensi %98(1 gramda 980 mg) olan Flukonazol'den 5120mg/l konsantrasyonunda 10 ml hacminde stok solüsyon hazırlamak için 52,24 mg Flukonazol antifungal toz kullanılmıştır.

10 ml hacmindeki stok solüsyon 250µl'lik hacimlere bölünerek saklanır.

Vorikonazol'ün Hazırlanması: Vorikonazol 'ün temin edildiği firmanın bildirimine göre potensi (etki gücü) %99'dur, yani 1 gram Vorikonazol antifungal toz preparatında 990 miligram Vorikonazol mevcuttur. Firmanın Vorikonazol için bildirdiği çözücü ise DMSO (dimetilsülfoksit)'dur. Vorikonazol için test aralığı 0,016-8 mg/l'dir. 3200mg/l konsantrasyonda 0,01 litre (10 ml) hacminde stok solüsyon hazırlamak için;

“Çözücü Hacmi (mL): Ağırlık (g) x Potens (mg/g) / stok antifungal konsantrasyonu (mg/L)” formülüne göre:

$$10 \text{ ml} = \text{Ağırlık(g)} \times 990(\text{mg/g}) / 3200(\text{mg/g})$$

$$\text{Ağırlık(g)} = 32,32 \text{ mg}$$

Potensi %99(1 gramda 990 mg) olan Vorikonazol'den 3200mg/l konsantrasyonunda 10 ml hacminde stok solüsyon hazırlamak için 32,32 mg Vorikonazol antifungal toz kullanılmıştır.

Mikafungin'in Hazırlanması: Mikafungin'in temin edildiği firmanın bildirimine göre potensi (etki gücü) %97'dir, yani 1 gram Mikafungin antifungal toz preparatında 970 miligram Mikafungin mevcuttur. Firmanın Mikafungin için bildirdiği çözücü ise DMSO (dimetilsülfoksit)dur. Mikafungin için test aralığı 0,016-8 mg/l'dir. 3200mg/l konsantrasyonda 0,01 litre (10 ml) hacminde stok solüsyon hazırlamak için;

“Çözücü Hacmi (mL): Ağırlık (g) x Potens (mg/g) / stok antifungal konsantrasyonu (mg/L)” formülüne göre:

$$10\text{ml} = \text{Ağırlık(g)} \times 970(\text{mg/g}) / 3200(\text{mg/g})$$

$$\text{Ağırlık(g)} = 32,98 \text{ mg}$$

Potensi %97(1 gramda 970 mg) olan Mikafungin'den 3200mg/l konsantrasyonunda 10 ml hacminde stok solüsyon hazırlamak için 32,98 mg Mikafungin antifungal toz kullanılmıştır.

Amfoterisin B'nin Broth Mikrodilüsyonda Kullanılması: Öncelikle 1 adet stok solüsyon -80° C'den çözünmek üzere çıkarılmıştır. 1'den 10'a kadar numaralandırılmış 10 ayrı steril viyal (steril endorf tüpü) ve 10 ayrı steril falkon tüpü hazırlanmıştır. Falkon tüplerinin her birine 19,8 ml RPMI 1640 sıvı besiyeri konulmuştur. 3200 mg/l konsantrasyonda 250 µl hacmindeki stok solüsyon üzerine 250 µl distile su eklenerek yeni konsantrasyon 1600mg/l'ye düşürülmüştür. Bu işlem sona stok solüsyonun yeni hacmi (250+250) 500 µl olmuştur. Tablo 5'te EUCAST'ın amfoterisin B için önerdiği plak hazırlama aşamaları gösterilmiştir.

Tablo 5.EUCAST'e göre Amfoterisin-B için plak hazırlama

Basamak	Konsantrasyon (mg/L)	Kaynak	Antifungal hacmi (µL)	Çözücünün hacmi (µL)	İki kat güçteki RPMI%2G ile 1:100 sulandırım	İki kat güçteki RPMI %2 G ile 1:100 sulandırım sonrası konsantrasyon (mg/L) (Mikroorganizma eklendikten sonra)
1	1600	Stok	240	0	19,8 mL + 200 µL	8 µg/mL
2	1600	Stok	120	120	19,8 mL + 200 µL	4 µg/mL

3	1600	Stok	60	180	19,8 mL + 200 μ L	2 μ g/mL
4	1600	Stok	60	420	19,8 mL + 200 μ L	1 μ g/mL
5	200	Basamak 4	120	120	19,8 mL + 200 μ L	0,5 μ g/mL
6	200	Basamak 4	60	180	19,8 mL + 200 μ L	0,25 μ g/mL
7	200	Basamak 4	60	420	19,8 mL + 200 μ L	0,125 μ g/mL
8	25	Basamak 7	120	120	19,8 mL + 200 μ L	0,06 μ g/mL
9	25	Basamak 7	60	180	19,8 mL + 200 μ L	0,03 μ g/mL
10	25	Basamak 7	60	420	19,8 mL + 200 μ L	0,016 μ g/mL

1. Basamak: Yeni konsantrasyonu 1600 mg/l'ye düşürülen stok solüsyonundan 1. tüpe 240 μ l alınmıştır. (1. Antifungal Tüpü)
2. Basamak: Stok solüsyonundan 120 μ l alınmış, 120 μ l distile su ile 2. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (2. Antifungal Tüpü)
3. Basamak: Stok solüsyonundan 60 μ l alınmış, 180 μ l distile su ile 3. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (3. Antifungal Tüpü)
4. Basamak: Stok solüsyonundan 60 μ l alınmış, 420 μ l distile su ile 4. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (4. Antifungal Tüpü)
- 5., 6. Ve 7. basamaklar için stok solüsyonu olarak 4.tüp kullanılmıştır.
5. Basamak: 4. Tüpten (yeni stok solüsyonu) 120 μ l alınmış, 120 μ l distile su ile 5. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (5. Antifungal Tüpü)
6. Basamak: 4. tüpten 60 μ l alınmış, 180 μ l distile su ile 6. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (6. Antifungal Tüpü)
7. Basamak: 4. tüpten 60 μ l alınmış, 420 μ l distile su ile 7. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (7. Antifungal Tüpü)
- 8., 9. ve 10. basamaklarda stok solüsyonu olarak 7. tüp kullanılmıştır.
8. Basamak: 7. tüpten (yeni stok solüsyonu) 120 μ l alınmış, 120 μ l distile su ile 8. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (8. Antifungal Tüpü)
9. Basamak: 7. tüpten 60 μ l alınmış, 180 μ l distile su ile 9. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (9. Antifungal Tüpü)
10. Basamak: 7. tüpten 60 μ l alınmış, 420 μ l distile su ile 10. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (10. Antifungal Tüpü)

Bu işlemlerden sonra daha önce hazırlanmış, numaralandırılmış (1'den 10'a kadar) ve her birine 19,8 ml RPMI sıvı besiyeri konulmuş 10 falkon tüpünün her birine 200 µl antifungal solüsyonundan eklenmiştir. (1. Antifungal tüpünden 1. Falkon tüpüne...şeklinde). Böylece her bir antifungal çözelti 100 kat sulandırılmıştır. Elde edilen besiyeri ve antifungal karışımı (19,8 ml+200 µl=20 ml) 20 *Candida* suşu çalışmak için yeterli olmuştur.

Mikrodilüsyon Plaklarının Hazırlanması, İnokülasyonu ve İnkübasyonu:

EUCAST önerilerine göre doku kültürü için muamele edilmiş, steril plastikten üretilmiş, tek kullanımlık, düz tabanlı kuyucukları olan, 96 kuyucuklu (8x12;8 satır,12 sütun), kuyucukları en az 300 µl kapasiteli mikrodilüsyon plakları kullanılmıştır.

Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 10. sütununa kadar, hazırlanmış olduğumuz besiyeri ve antifungal karışımından 100 µl konulmuştur (1. falkon tüpünden 1. sütuna, 2. falkon tüpünden 2. sütuna...şeklinde). 11. ve 12. sütuna antifungal içermeyen RPMI 1640 besiyerinden 100'er µl konulmuştur. 12. sütuna 100 µl distile su konulmuştur (besiyeri sterilite kontrol kuyucuğu). Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 11. sütunundaki kuyucuğa kadar maya süspansiyonundan 100 µl dağıtılmıştır. Antifungalın konsantrasyonu yarıya inmiş oldu (200 kat sulandırım). 11. sütundaki kuyucuk üreme kontrol kuyucuğu, 12. sütundaki kuyucuk besiyeri kontrol kuyucuğu olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan mikrodilüsyon plakları $35 \pm 2^\circ \text{C}$ 'lik etüvde 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir.

Mikrodilüsyon Plaklarının Okunması: İnkübasyonu tamamlanan

mikrodilüsyon plakları spektrofotometrik mikropalak okuyucu ile 530 nm dalga boyundaki absorpsanları ölçülerek okunmuştur. Amfoterisin B için MİK değeri ilaç içermeyen kontrol kuyucuğuna göre üremede $\geq 90\%$ inhibisyona yol açan en düşük konsantrasyon olarak değerlendirilmiştir.

Flukonazol'un Broth Mikrodilüsyonda Kullanılması: Öncelikle 1 adet stok

solüsyon -80°C 'den çözünmek üzere çıkarılmıştır. 1'den 10'a kadar numaralandırılmış 10 ayrı steril viyal (steril ependorf tüpü) ve 10 ayrı steril falkon tüpü hazırlanmıştır. Falkon tüplerinin her birine 19 ml RPMI 1640 sıvı besiyeri konulmuştur. 5120 mg/l konsantrasyonda 1 ml (1000 µl) hacmindeki stok solüsyon üzerine 1 ml (1000 µl) distile

su eklenerek yeni konsantrasyon 2560mg/l'ye düşürülmüştür. Bu işlemden sonra stok solüsyonun yeni hacmi (1000+1000) 2000 µl olmuştur. Tablo 6'da EUCAST'ın flukonazol için önerdiği plak hazırlama aşamaları gösterilmiştir.

Tablo 6.EUCAST'e göre Flukonazol için plak hazırlama

Basamak	Konsantrasyon (mg/L)	Kaynak	Antifungal hacmi (µL)	Çözücünün hacmi (µL)	İki kat güçteki RPMI %2 G ile 1:100 sulandırım	İki kat güçteki RPMI %2 G ile 1:100 sulandırım sonrası konsantrasyon (mg/L) (Mikroorganizma eklendikten sonra)
1	2560	Stok	1000	0	19 mL + 1 mL	64 µg/mL
2	2560	Stok	500	500	19 mL + 1 mL	32 µg/mL
3	2560	Stok	250	750	19 mL + 1 mL	16 µg/mL
4	2560	Stok	250	1750	19 mL + 1 mL	8 µg/mL
5	320	Basamak 4	500	500	19 mL + 1 mL	4 µg/mL
6	320	Basamak 4	250	750	19 mL + 1 mL	2 µg/mL
7	320	Basamak 4	250	1750	19 mL + 1 mL	1 µg/mL
8	40	Basamak 7	500	500	19 mL + 1 mL	0,5 µg/mL
9	40	Basamak 7	250	750	19 mL + 1 mL	0,25µg/mL
10	40	Basamak 7	250	1750	19 mL + 1 mL	0,125 µg/mL

1. Basamak: Yeni konsantrasyonu 2560 mg/l'ye düşürülen stok solüsyonundan 1. tüpe 1000 µl alınmıştır. (1. Antifungal Tüpü)
2. Basamak: Stok solüsyonundan 500 µl alınmış, 500 µl DMSO ile 2. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (2. Antifungal Tüpü)
3. Basamak: Stok solüsyonundan 250 µl alınmış, 750 µl DMSO ile 3. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (3. Antifungal Tüpü)

4. Basamak: Stok solüsyonundan 250 µl alınmış, 1750 µl DMSO ile 4. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (4. Antifungal Tüpü)
- 5., 6. ve 7. basamaklar için stok solüsyonu olarak 4.tüp kullanılmıştır.
5. Basamak: 4. Tüpten (yeni stok solüsyonu) 500 µl alınmış, 500 µl DMSO ile 5. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (5. Antifungal Tüpü)
6. Basamak: 4. tüpten 250 µl alınmış, 750 µl DMSO ile 6. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (6. Antifungal Tüpü)
7. Basamak: 4. tüpten 250 µl alınmış, 1750 µl DMSO ile 7. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (7. Antifungal Tüpü)
- 8., 9. ve 10. basamaklarda stok solüsyonu olarak 7. tüp kullanılmıştır.
8. Basamak: 7. tüpten (yeni stok solüsyonu) 500 µl alınmış, 500 µl DMSO ile 8. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (8. Antifungal Tüpü)
9. Basamak: 7. tüpten 250 µl alınmış, 750 µl DMSO ile 9. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (9. Antifungal Tüpü)
10. Basamak: 7. tüpten 250 µl alınmış, 1750 µl DMSO ile 10. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (10. Antifungal Tüpü)

Bu işlemlerden sonra daha önce hazırlanmış, numaralandırılmış (1'den 10'a kadar) ve her birine 19 ml RPMI sıvı besiyeri konulmuş 10 falkon tüpünün her birine 1ml(1000 µl) antifungal solüsyonundan eklenmiştir. (1. Antifungal tüpünden 1. Falkon tüpüne...şeklinde). Böylelikle her bir antifungal çözelti 20 kat sulandırılmıştır. Elde edilen besiyeri ve antifungal karışımı (19 ml+1ml =20 ml) 20 *Candida* suşu çalışmak için yeterli olmuştur.

Mikrodilüsyon Plaklarının Hazırlanması, İnokülasyonu ve İnkübasyonu:

EUCAST önerilerine göre doku kültürü için muamele edilmiş, steril plastikten üretilmiş, tek kullanımlık, düz tabanlı kuyucukları olan, 96 kuyucuklu (8x12;8 satır,12 sütun), kuyucukları en az 300 µl kapasiteli mikrodilüsyon plakları kullanılmıştır.

Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 10. sütununa kadar, hazırlanmış oduğumuz besiyeri ve antifungal karışımından 100 µl konulmuştur (1. falkon tüpünden 1. sütuna, 2. falkon tüpünden 2. sütuna...şeklinde). 11. ve 12. sütuna antifungal içermeyen RPMI 1640 besiyerinden 100'er µl konulmuştur. 12. sütuna 100 µl DMSO konulmuştur (besiyeri sterilite kontrol kuyucuğu). Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 11.

sütündeki kuyucuğa kadar maya süspansiyonundan 100 µl dağıtılmıştır. Antifungalın konsantrasyonu yarıya inmiş oldu (40 kat sulandırım). 11. sütündeki kuyucuk üreme kontrol kuyucuğu, 12. sütündeki kuyucuk besiyeri kontrol kuyucuğu olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan mikrodilüsyon plakları $35 \pm 2^\circ \text{C}$ 'lik etüvde 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir.

Mikrodilüsyon Plaklarının Okunması: İnkübasyonu tamamlanan mikrodilüsyon plakları spektrofotometrik mikroplak okuyucu ile 530 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülerek okunmuştur. Flukonazol için MİK değeri ilaç içermeyen kontrol kuyucuğuna göre üremede $\geq 50\%$ inhibisyona yol açan en düşük konsantrasyon olarak değerlendirilmiştir.

Vorikonazol'un Broth Mikrodilüsyonda Kullanılması: Öncelikle 1 adet stok solüsyon -80°C 'den çözünmek üzere çıkarılmıştır. 1'den 10'a kadar numaralandırılmış 10 ayrı steril viyal (steril ependorf tüpü) ve 10 ayrı steril falkon tüpü hazırlanmıştır. Falkon tüplerinin her birine 19,8 ml RPMI 1640 sıvı besiyeri konulmuştur. 3200 mg/l konsantrasyonda 250µl hacmindeki stok solüsyon üzerine 250µl DMSO (dimetilsülfoksit) eklenerek yeni konsantrasyon 1600mg/l'ye düşürülmüştür. Bu işlemten sonra stok solüsyonun yeni hacmi 500(250+250) µl olmuştur. Tablo 7'de EUCAST'ın vorikonazol için önerdiği plak hazırlama aşamaları gösterilmiştir.

Tablo 7.EUCAST'e göre Vorikonazol için plak hazırlama

Basamak	Konsantrasyon (mg/L)	Kaynak	Antifungalın hacmi (µL)	Çözücünün hacmi (µL)	İki kat güçteki RPMI%2G ile 1:100 sulandırım	İki kat güçteki RPMI %2 G ile 1:100 sulandırım sonrası konsantrasyon (mg/L) (Mikroorganizma eklendikten sonra)
1	1600	Stok	240	0	19,8 mL + 200 µL	8 µg/mL
2	1600	Stok	120	120	19,8 mL + 200 µL	4 µg/mL
3	1600	Stok	60	180	19,8 mL + 200 µL	2 µg/mL
4	1600	Stok	60	420	19,8 mL + 200 µL	1 µg/mL
5	200	Basamak 4	120	120	19,8 mL + 200 µL	0,5 µg/mL

6	200	Basamak 4	60	180	19,8 mL + 200 µL	0,25 µg/mL
7	200	Basamak 4	60	420	19,8 mL + 200 µL	0,125 µg/mL
8	25	Basamak 7	120	120	19,8 mL + 200 µL	0,06 µg/mL
9	25	Basamak 7	60	180	19,8 mL + 200 µL	0,03 µg/mL
10	25	Basamak 7	60	420	19,8 mL + 200 µL	0,016 µg/mL

1. Basamak: Yeni konsantrasyonu 1600 mg/l'ye düşürülen stok solüsyonundan 1 tüpe 240 µl alınmıştır. (1. Antifungal Tüpü)
2. Basamak: Stok solüsyonundan 120 µl alınmış, 120 µl DMSO ile 2. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (2. Antifungal Tüpü)
3. Basamak: Stok solüsyonundan 60 µl alınmış, 180 µl DMSO ile 3. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (3. Antifungal Tüpü)
4. Basamak: Stok solüsyonundan 60µl alınmış, 420 µl DMSO ile 4. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (4. Antifungal Tüpü)
- 5., 6. Ve 7. basamaklar için stok solüsyonu olarak 4.tüp kullanılmıştır.
5. Basamak: 4. Tüpten (yeni stok solüsyonu) 120 µl alınmış, 120 µl DMSO ile 5. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (5. Antifungal Tüpü)
6. Basamak: 4. tüpten 60 µl alınmış, 180 µl DMSO ile 6. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (6. Antifungal Tüpü)
7. Basamak: 4. tüpten 60 µl alınmış, 420 µl DMSO ile 7. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (7. Antifungal Tüpü)
- 8., 9. ve 10. basamaklarda stok solüsyonu olarak 7. tüp kullanılmıştır.
8. Basamak: 7. tüpten (yeni stok solüsyonu) 120 µl alınmış, 120 µl DMSO ile 8. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (8. Antifungal Tüpü)
9. Basamak: 7. tüpten 60 µl alınmış, 180 µl DMSO ile 9. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (9. Antifungal Tüpü)
10. Basamak: 7. tüpten 60 µl alınmış, 420 µl DMSO ile 10. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (10. Antifungal Tüpü)

Bu işlemlerden sonra daha önce hazırlanmış, numaralandırılmış (1'den 10'a kadar) ve her birine 19,8 ml RPMI sıvı besiyeri konulmuş 10 falkon tüpünün her birine 200 µl antifungal solüsyonundan eklenmiştir. (1. Antifungal tüpünden 1. Falkon tüpüne...şeklinde). Böylece her bir antifungal çözelti 100 kat sulandırılmıştır. Elde edilen besiyeri ve antifungal karışımı (19,8 ml+200 µl=20 ml) 20 *Candida* suşu çalışmak için yeterli olmuştur.

Mikrodilüsyon Plaklarının Hazırlanması, İnokülasyonu ve İnkübasyonu:

EUCAST önerilerine göre doku kültürü için muamele edilmiş, steril plastikten üretilmiş, tek kullanımlık, düz tabanlı kuyucukları olan, 96 kuyucuklu (8x12;8 satır,12 sütun), kuyucukları en az 300 µl kapasiteli mikrodilüsyon plakları kullanılmıştır.

Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 10. sütununa kadar, hazırlanmış oduğumuz besiyeri ve antifungal karışımından 100 µl konulmuştur (1. falkon tüpünden 1. sütuna, 2. falkon tüpünden 2. sütuna...şeklinde). 11. ve 12. sütuna antifungal içermeyen RPMI 1640 besiyerinden 100'er µl konulmuştur. 12. sütuna 100 µl DMSO konulmuştur (besiyeri sterilit kontrol kuyucuğu). Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 11. sütunundaki kuyucuğa kadar maya süspansiyonundan 100 µl dağıtılmıştır. Antifungal konsantrasyonu yarıya inmiş oldu (200 kat sulandırım). 11. sütundaki kuyucuk üreme kontrol kuyucuğu, 12. sütundaki kuyucuk besiyeri kontrol kuyucuğu olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan mikrodilüsyon plakları $35 \pm 2^\circ \text{C}$ 'lik etüvde 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir.

Mikrodilüsyon Plaklarının Okunması: İnkübasyonu tamamlanan

mikrodilüsyon plakları spektrofotometrik mikropak okuyucu ile 530 nm dalga boyundaki absorpsanları ölçülerek okunmuştur. Vorikonazol için MİK değeri ilaç içermeyen kontrol kuyucuğuna göre üremede $\geq 50\%$ inhibisyona yol açan en düşük konsantrasyon olarak değerlendirilmiştir.

Mikafungin'in Broth Mikrodilüsyonda Kullanılması: Öncelikle 1 adet stok

solüsyon -80°C 'den çözünmek üzere çıkarılmıştır. 1'den 10'a kadar numaralandırılmış 10 ayrı steril viyal (steril ependorf tüpü) ve 10 ayrı steril falkon tüpü hazırlanmıştır. Falkon tüplerinin her birine 19,8 ml RPMI 1640 sıvı besiyeri konulmuştur. 3200 mg/l konsantrasyonda 250 µl hacmindeki stok solüsyon üzerine 250 µl DMSO

(dimetilsülfoksit) eklenerek yeni konsantrasyon 1600mg/l'ye düşürülmüştür. Bu işlemten sonra stok solüsyonun yeni hacmi 500(250+250) µl olmuştur. Tablo 8'de EUCAST'ın mikafungin için önerdiği plak hazırlama aşamaları gösterilmiştir.

Tablo 8.EUCAST'e göre Mikafungin için plak hazırlama

Basamak	Konsantrasyon (mg/L)	Kaynak	Antifungal hacmi (µL)	Çözücünün hacmi (µL)	İki kat güçteki RPMI %2 G ile 1:100 sulandırım	İki kat güçteki RPMI %2 G ile 1:100 sulandırım sonrası konsantrasyon (mg/L) (Mikroorganizma eklendikten sonra)
1	1600	Stok	240	0	19,8 mL + 200 µL	8 µg/mL
2	1600	Stok	120	120	19,8 mL + 200 µL	4 µg/mL
3	1600	Stok	60	180	19,8 mL + 200 µL	2 µg/mL
4	1600	Stok	60	420	19,8 mL + 200 µL	1 µg/mL
5	200	Basamak 1	120	120	19,8 mL + 200 µL	0,5 µg/mL
6	200	Basamak 1	60	180	19,8 mL + 200 µL	0,25 µg/mL
7	200	Basamak 1	60	420	19,8 mL + 200 µL	0,125 µg/mL
8	25	Basamak 4	120	120	19,8 mL + 200 µL	0,06 µg/mL
9	25	Basamak 4	60	180	19,8 mL + 200 µL	0,03 µg/mL
10	25	Basamak 4	60	420	19,8 mL + 200 µL	0,016 µg/mL

1. Basamak: Yeni konsantrasyonu 1600 mg/l'ye düşürülen stok solüsyonundan 1. tüpe 240 µl alınmıştır. (1. Antifungal Tüpü)
2. Basamak: Stok solüsyonundan 120 µl alınmış, 120 µl DMSO ile 2. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (2. Antifungal Tüpü)
3. Basamak: Stok solüsyonundan 60 µl alınmış, 180 µl DMSO ile 3. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (3. Antifungal Tüpü)

4. Basamak: Stok solüsyonundan 60 µl alınmış, 420 µl DMSO ile 4. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır.(4. Antifungal Tüpü)
- 5., 6. ve 7. basamaklar için stok solüsyonu olarak 4.tüp kullanılmıştır
5. Basamak: 4. Tüpten (yeni stok solüsyonu) 120 µl alınmış, 120 µl DMSO ile 5. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (5. Antifungal Tüpü)
6. Basamak:4. tüpten 60 µl alınmış, 180 µl DMSO ile 6. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (6. Antifungal Tüpü)
7. Basamak: 4. tüpten 60 µl alınmış, 420 µl DMSO ile 7. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (7. Antifungal Tüpü)
- 8., 9. ve 10. basamaklarda stok solüsyonu olarak 7. tüp kullanılmıştır.
8. Basamak: 7. tüpten (yeni stok solüsyonu) 120 µl alınmış, 120 µl DMSO ile 8. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (8. Antifungal Tüpü)
9. Basamak: 7. tüpten 60 µl alınmış, 180 µl DMSO ile 9. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (9.Antifungal Tüpü)
10. Basamak: 7. tüpten 60 µl alınmış, 420 µl DMSO ile 10. tüpe aktarılıp karıştırılmıştır. (10.Antifungal Tüpü)

Bu işlemlerden sonra daha önce hazırlanmış, numaralandırılmış (1'den 10'a kadar) ve her birine 19,8 ml RPMI sıvı besiyeri konulmuş 10 falkon tüpünün her birine 200 µl antifungal solüsyonundan eklenmiştir. (1. Antifungal tüpünden 1. Falkon tüpüne...şeklinde). Böylelikle her bir antifungal çözelti 100 kat sulandırılmıştır. Elde edilen besiyeri ve antifungal karışımı (19,8 ml+200 µl=20 ml) 20 *Candida* suşu çalışmak için yeterli olmuştur.

Mikrodilüsyon Plaklarının Hazırlanması, İnokülasyonu ve İnkübasyonu: EUCAST önerilerine göre doku kültürü için muamele edilmiş, steril plastikten üretilmiş, tek kullanımlık, düz tabanlı kuyucukları olan, 96 kuyucuklu (8x12;8 satır,12 sütun), kuyucukları en az 300 µl kapasiteli mikrodilüsyon plakları kullanılmıştır.

Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 10. sütununa kadar, hazırlanmış oduğumuz besiyeri ve antifungal karışımından 100 µl konulmuştur (1. falkon tüpünden 1. sütuna,

2. falkon tüpünden 2. sütuna...şeklinde). 11. ve 12. sütuna antifungal içermeyen RPMI 1640 besiyerinden 100'er  l konulmuştur. 12. sütuna 100  l DMSO konulmuştur (besiyeri sterilite kontrol kuyucu u). Mikrodilüsyon plağının 1. sütunundan 11. sütunundaki kuyucuğa kadar maya süspansiyonundan 100  l da ıtılmı tır. Antifungalin konsantrasyonu yarıya inmiş oldu (200 kat sulandırım). 11. sütundaki kuyucuk üreme kontrol kuyucu u, 12. sütundaki kuyucuk besiyeri kontrol kuyucu u olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan mikrodilüsyon plakları $35 \pm 2^\circ \text{C}$ 'lik etüvde 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir.

Mikrodilüsyon Plaklarının Okunması

 nk basyonu tamamlanan mikrodilüsyon plakları spektrofotometrik mikroplak okuyucu ile 530 nm dalga boyundaki absorpsanları ölçülerek okunmuştur. Vorikonazol için M K değeri ilaç içermeyen kontrol kuyucu una göre üremede $\geq 50\%$ inhibisyona yol açan en düşük konsantrasyon olarak değerlendirilmiştir.

3.7.1.3. EUCAST ve CLSI'ya göre M K değerleri ve zon çapları

Tablo 9.EUCAST'e göre Antifungal M K Değerleri

	Amf B	Flukonazol	Vorikonazol	Mikafungin
<i>C. albicans</i>	$\leq 1 \text{ S}$	$\leq 2 \text{ S}$	$\leq 0,06 \text{ S}$	$\leq 0,016 \text{ S}$
	$> 1 \text{ R}$	4 R	$> 0,25 \text{ R}$	$> 0,016 \text{ R}$
	—	—	—	0,03 ATU
<i>C. parapsilosis</i>	$\leq 1 \text{ S}$	$\leq 2 \text{ S}$	$\leq 0,125 \text{ S}$	$\leq 2 \text{ S}$
	$> 1 \text{ R}$	4 R	$> 0,25 \text{ R}$	$> 2 \text{ R}$
	—	—	—	—
<i>C. krusei</i>	$\leq 1 \text{ S}$	—	IE	IE
	$> 1 \text{ R}$	—	IE	IE
	—	—	—	—
<i>C. glabrata</i>	$\leq 1 \text{ S}$	$\leq 0,001 \text{ S}$	IE	$\leq 0,03 \text{ S}$
	$> 1 \text{ R}$	$> 16 \text{ R}$	IE	$> 0,03 \text{ R}$
	—	—	—	—
<i>C. tropicalis</i>	$\leq 1 \text{ S}$	$\leq 2 \text{ S}$	$\leq 0,125 \text{ S}$	IE
	$> 1 \text{ R}$	4 R	$> 0,25 \text{ R}$	IE
	—	—	—	—

M K: Minimum inhibitör konsantrasyon, IE: Yetersiz kanıt, ATU: Teknik belirsizlik alanı R: Dirençli, S: Duyarlı

Tablo 10.CLSI'ye Göre Antifungal MİK Değerleri

	Amfoterisin B	Flukonazol	Vorikonazol	Mikafungin
<i>C. albicans</i>	≤ 2 (WT)	≤ 2 S	≤ 0,125 S	≤ 0,25 S
	> 2 (Non WT)	4 SDD	0,25-0,5 I	0,5 I
	—	≥ 8 R	≥ 1 R	≥ 1 R
<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2 (WT)	≤ 2 S	≤ 0,125 S	≤ 2 S
	> 2 (Non WT)	4 SDD	0,25-0,5I	4 I
	—	≥ 8 R	≥ 1 R	≥ 8 R
<i>C. krusei</i>	—	—	≤ 0,5 S	≤ 0,25 S
	—	—	1 I	0,5 I
	—	—	≥ 2 R	≥ 1 R
<i>C. glabrata</i>	≤ 2 (WT)	≤ 32 SDD	—	≤ 0,06 S
	> 2 (Non WT)	>64 R	—	0,12 I
	—	—	—	≥ 0,25 R
<i>C. tropicalis</i>	≤ 2 (WT)	≤ 2 S	S ≤ 0,125	≤ 0,25 S
	> 2 (Non WT)	4 SDD	0,25-0,5I	0,5 I
	—	≥ 8 R	≥ 1 R	≥ 1 R

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon, SDD: Doza bağlı duyarlı, R: Dirençli, S: Duyarlı, WT: Wild type

Tablo 11.CLSI'ye Göre Antifungal Zon Çapları

	Amfoterisin B	Flukonazol	Vorikonazol	Mikafungin
<i>C. albicans</i>	—	≥ 17 S	≥ 17 S	≥22 S
	—	14-16 SDD	15-16 I	20-21 I
	—	≤ 13 R	≤ 14 R	≤19 R
<i>C. parapsilosis</i>	—	≥ 17 S	≥ 17 S	≥16 S
	—	14-16 SDD	15-16 I	14-15 I
	—	≤ 13 R	≤ 14 R	≤13 R
<i>C. krusei</i>	—	—	≥ 15 S	≥22 S
	—	—	13-14 I	20-21 I
	—	—	≤ 12 R	≤19 R
<i>C. glabrata</i>	—	—	—	≥30 S
	—	≥ 15 SDD	—	28-29 I
	—	≤ 14 R	—	≤27 R

<i>C. tropicalis</i>	—	≥ 17 S	≥ 17 S	≥22 S
	—	14-16 SDD	15-16 I	20-21 I
	—	≤ 13 R	≤ 14 R	≤19 R

SDD: Doza bağılı duyarlı, R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı

3.7.1.4. Çalışmada kullanılan standart suşlar ve MİK değerleri

Tablo 12.*Candida parapsilosis* ATCC 22019

Antimicrobial agent	MIC (mg/L)		Kaynak
	Target	Range	
Amphotericin B	0.25-0.5	0.125-1.0	EUCAST E.Def 7.3.2 for MIC methodology Version 6.0, valid from 2022-05-04
Fluconazole	1	0.5-2	
Micafungin	1	0.5-2	
Voriconazole	0.03	0.016-0.06	

Tablo 13.*Candida albicans* ATCC 90028

Antimicrobial Agent	MIC (mg/L)		Kaynak
	Target	Result	
Amphotericin B	0.5-2	1	Abaci ve Haliki-Uztan, 2011
Fluconazole	0,25-1	1	
Micafungin			
Voriconazole			

Kalite Kontrol: Çalışmamızda kalite kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 kullanılmıştır. Her 7 suş çalışıldığında bu referans suşlar test edilmiştir.

3.7.2.Gradient test yöntemi

Gradient test yöntemi için Amfoterisin B, Flukonazol, Vorikonazol ve Mikafungin gradient test şeritleri kullanılmıştır.

Candida suşlarının SDA besiyerindeki 24 saatlik taze kültürlerinden 1 mm çapında 5 maya kolonisi alınıp steril 5 ml %0,85 NaCl içerisine konup 15 sn vortekslenmiş ve 0.5 McFarland'a ayarlanmıştır. Hazırlanan maya süspansiyonu 15 dk içerisinde kullanılmıştır.

Hazırlanan maya süspansiyonu steril bir eküvyon yardımı ile metilen mavili müller hinton agar besiyerinin yüzeyinin tamamına 3 kez çizerek tamamen yayılmıştır. Birkaç dk beklendikten sonra Flukonazol, Vorikonazol, Mikafungin ve Amfoterisin B gradient test şeritleri steril pens yardımı ile 90 mm'lik petrilere iki tane olacak şekilde yerleştirilmiştir. Plaklar $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir.

Elipitik inhibisyon zonunun gradient test şeridiyle kesiştiği nokta MİK($\mu\text{g/ml}$) değeri olarak belirlenmiştir. Plaklar 24 ve 48 saat sonra iki kez değerlendirilerek MİK değerleri kaydedilmiştir. İnhibisyon zonları değerlendirilirken, üretici firma ve CLSI önerileri doğrultusunda AMB için üremenin tam inhibe olduğu (%100 inhibisyon) değer, azoller ve ekinokandinler için ise üremenin %80 inhibe olduğu değer, o antifungal için MİK değeri kabul edilmiştir. Gradient test yönteminde kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 kullanılmıştır.

3.7.3.Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yöntemi CLSI tarafından *Candida* türlerinin bazı antifungallere duyarlılığını belirlemek için standardize edilmiştir.

Disk difüzyon yöntemi için Amfoterisin B 10 mg disk, Flukonazol 100 mg disk ve Vorikonazol 1 mg disk kullanılmıştır.

Candida suşlarının SDA besiyerindeki 24 saatlik taze kültürlerinden 1 mm çapında 5 maya kolonisi alınıp steril 5 ml %0,85 NaCl içerisine konup 15 sn vortekslenmiş ve 0.5 McFarland'a ayarlanmıştır. Hazırlanan maya süspansiyonu 15 dk içerisinde kullanılmıştır.

Hazırlanan maya süspansiyonu steril bir eküvyon yardımı ile metilen mavili müller hinton agar besiyerinin yüzeyinin tamamına 3 kez çizerek tamamen yayılmıştır. Birkaç dk beklendikten sonra Flukonazol, Vorikonazol ve Amfoterisin B diskleri birbirlerine uzaklıkları 24 mm olacak şekilde yerleştirilmiştir. Plaklar $35\pm2^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra antifungallerin zon çapları cetvelle ölçülerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Disk difüzyon sonuçları CLSI M44'e göre yorumlanmıştır. Disk difüzyon yönteminde kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 kullanılmıştır.

3.8. İstatistik Analiz

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler, sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler için oran karşılaştırmasında Z testi kullanılmıştır. İstatistik anlamlılık (önemlilik) düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için MINITAB (ver: 14) istatistik paket programı kullanılmıştır.

3.9. Etik Kurul Onayı

Çalışmamız için, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 14.04.2023 tarih ve 2023/04-13 sayısı ile etik kurul onayı alınmıştır.



4.BULGULAR

Çalışmamızda kan kültürlerinden izole ettiğimiz 63 *Candida* suşu germ tüp, CHROMagar *Candida* besiyeri, MALDI-TOF MS ve BD Phoenix M50 otomatize cihazları ve PCR yöntemiyle tür düzeyinde tanımlanmış ve EUCAST'e göre broth mikrodilüsyon, CLSI'ya göre disk difüzyon ve gradient test yöntemleriyle in vitro antifungal duyarlılıkları belirlenmiştir. Broth mikrodilüsyon ve gradient test yöntemlerinde Amfoterisin B, Vorikonazol, Flukonazol ve Mikafungin; disk difüzyon yönteminde Amfoterisin B, Vorikonazol ve Flukonazol test edilmiştir.

4.1.İzolatların Klinik ve Hasta Gruplarına Göre Dağılımı

Van Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi'ne başvuran hastalardan çeşitli nedenlerle alınan kan kültür örneklerinden izole edilen toplam 63 *Candida* spp suşu çalışma için toplandı.

Çalışmaya alınan suşların 35'i erkek, 28' i kadın hasta; 11'i pediatrik yaş grubunda iken 52'si yetişkin hasta şeklindeydi. İzolatların %52,37'si yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edildi. Tablo 14, 15 ve 16'da izolatların cinsiyete, yaş gruplarına ve geldiği klinik birimlere göre dağılımı verilmiştir.

Tablo 14. İzolatların cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Sayı	Yüzde
Erkek	35	55,56%
Kadın	28	44,44%
Genel Toplam	63	100%

Tablo 15.İzolatların yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Sayı	Yüzde
Çocuk	11	17,40%
Yetişkin	52	82,60%
Genel Toplam	63	100%

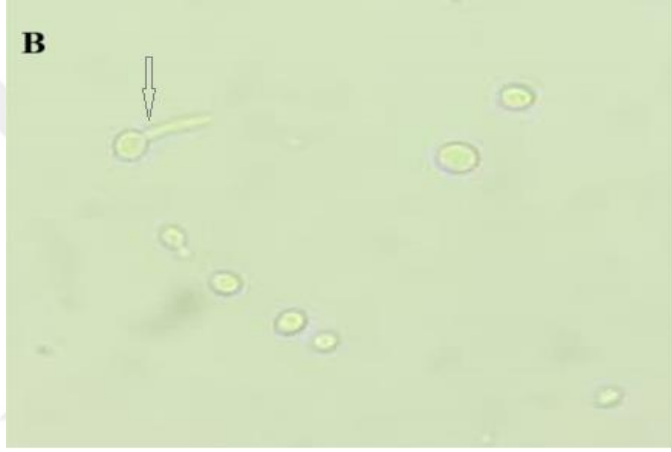
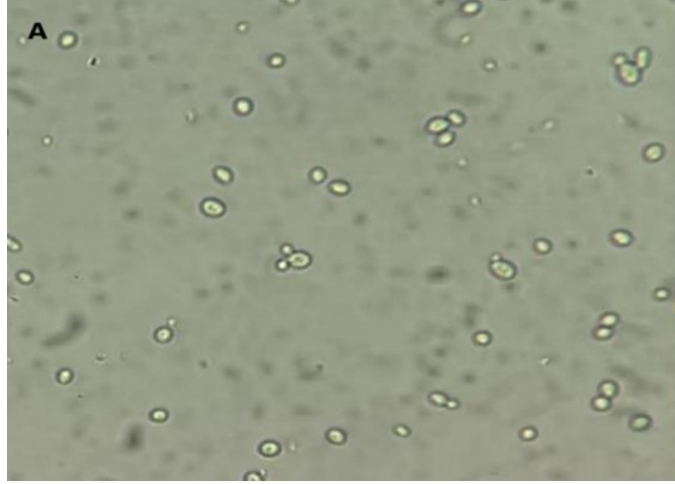
Tablo 16. İzolatların kliniklere göre dağılımı

Klinik	Yüzde	Sayı
Tıbbi Onkoloji Servisi	23,81%	15
Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım	20,63%	13
İç Hatalıkları Yoğun Bakım	14,29%	9
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Yoğun Bakım	9,52%	6
Çocuk Hemeatoloji Servisi	7,94%	5
Genel Cerrahi Yoğun Bakım	7,94%	5
Beyin ve Sinir Cerrahisi Yoğun Bakım	3,17%	2
Göğüs Hastalıkları Yoğun Bakım	3,17%	2
Hematoloji Servisi	3,17%	2
Kardiyoloji Servisi	1,59%	1
Nöroloji Yoğun Bakım	1,59%	1
Plastik Cerrahi Servisi	1,59%	1
Üroloji Servisi	1,59%	1
Genel Toplam	100%	63

4.2.İdentifikasyona Ait Bulgular

4.2.1.Germ tüp testi sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 63 *Candida* suşunun tamamı için germ tüp testi yapılmıştır. Germ tüp yapısı gözlenenler *C. albicans*, yalancı germ tüp yapısı gözlenenler *C. tropicalis* ve germ tüp yapısı gözlenmeyenler non-*albicans Candida* olarak tanımlandı. Buna göre 32 örnek *C. albicans*, 8 örnek *C. tropicalis* ve 23 örnek non-*albicans Candida* olarak tanımlandı. Şekil 7’de germ tüp negatif ve pozitif örnekler ve yalancı germ tüp yapısı gösterilmiştir.



Şekil 8.Germ tüp çalışma sonuçları. A: Germ tüp pozitif, B: Germ tüp negatif, C: Yalancı germ tüp (ok işareti boyun kısımlndaki bo umlanmayı göstermektedir).

4.2.2. CHROMagar *Candida* sonuçları

CHROMagar*Candida* besiyerinde açık yeşil koloniler *C. albicans*, koyu-metalik mavi koloniler *C. tropicalis*, beyaz sınırları olan, pürüzlü yüzeyli açık pembe renkli koloniler *C. krusei*, düzgün yüzeyli açık pembe koloniler *C. parapsilosis*, lila/kahverengi koloniler *C. glabrata* olarak değerlendirildi. *C. kefir* ve *C. lusitaniae* kolonileri düzgün yüzeyli krem rengi olarak görüldü. Dolayısıyla CHROMagar *Candida* besiyeri ile *C. kefir*/*C. lusitaniae* ayrımı yapılamadı. PCR ile *C. albicans* olarak tespit edilen bir izolat da CHROMagar besiyeri ile *C. tropicalis* olarak değerlendirildi. Şekil 5'te CHROMagar *Candida* besiyeri ile tespit edilen *Candida* türlerine örnekler verilmiştir.





Şekil 9.CHROMagar *Candida* sonuçları (1,2 ve 6 *C.parapsilosis*; 4 *C.tropicalis*; 3 ve 5 *C.albicans*,21*Candida* spp; 22 *C. parapsilosis*; 23 *C. glabrata*; 19,20 ve 24*C. albicans*,63 *C. krusei*)

4.2.3. Phoenix Otomatize Sistemine Ait Bulgular

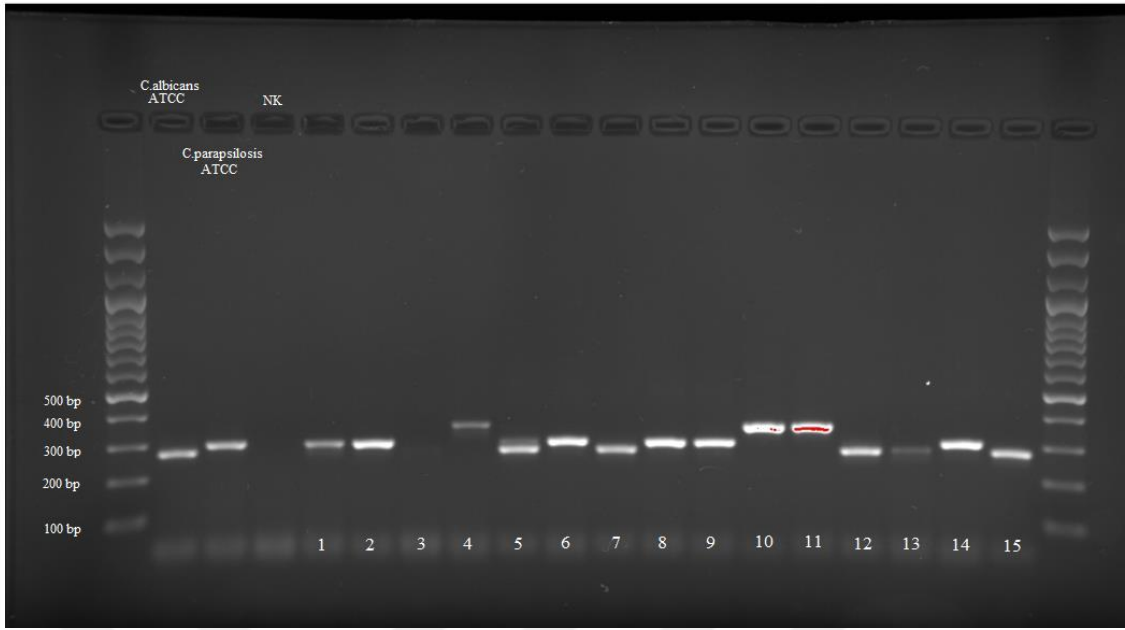
Çalışmamızda *Candida*’ları tür düzeyinde tanımlamak için BD Phoenix M50 ve MALDI-TOF MS otomatize cihazları kullanıldı. BD Phoenix M50 ile yapılan tanımlamada örneklerin 31’i *C. albicans*, 12’si *C. parapsilosis*, yedisi *C. glabrata*, yedisi *C. tropicalis*, üçü *C. kefyr* ve birer tanesi *S. cerevisiae*, *C. lusitaniae* ve *C. krusei* olarak tanımlandı.

4.2.4. MALDI-TOF Otomatize Sistemine Ait Bulgular

Çalışmamızda *Candida*’ları tür düzeyinde tanımlamak için MALDI-TOF MS cihazı ile yapılan çalışmada örneklerin 30’u *C. albicans*, 11’i *C. parapsilosis*, yedisi *C. glabrata*, sekizi *C. tropicalis*, dördü *C. kefyr*, ikisi *C. lusitaniae* ve biri *C. krusei* olarak tanımlandı.

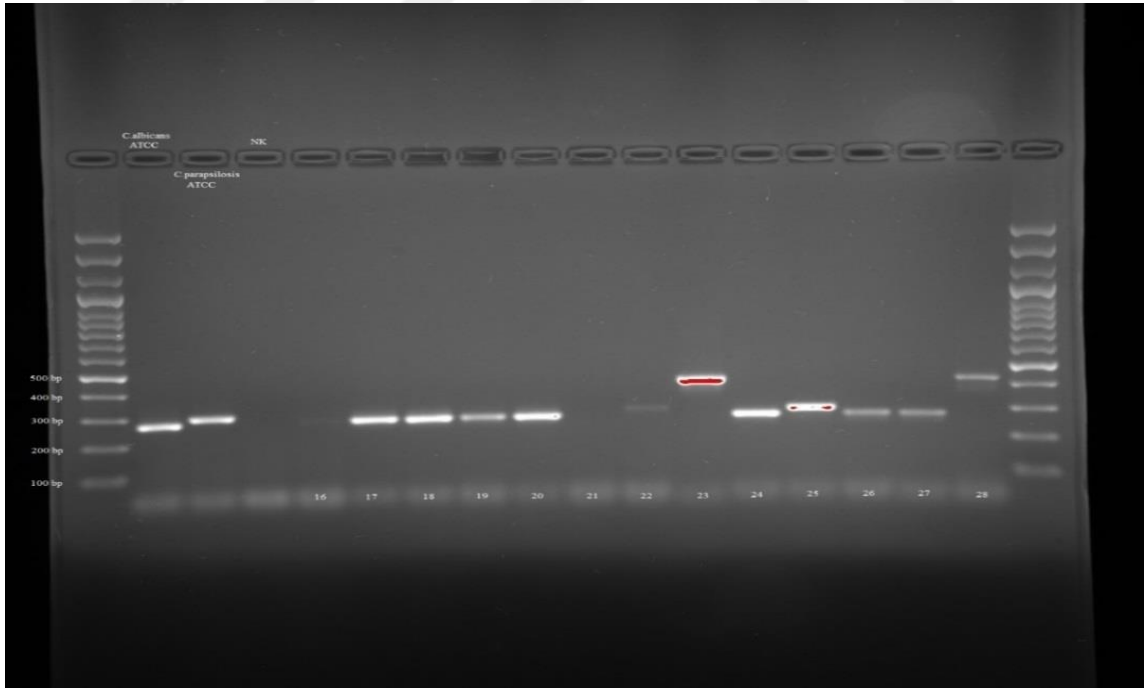
4.2.5. PCR Sonuçları

Geleneksel ve otomatize sistemlerle *Candida* spp. olarak belirlenen izolatlar *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. dublinensis* ve *C. krusei* türlerine spesifik primerler kullanılarak multipleks PCR ile tanımlanmıştır. Pozitif kontrol olarak *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşları, negatif kontrol olarak *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşu kullanılmıştır. 63 *Candida* izolatı multipleks PCR ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Şekil 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 ve 17’de *Candida* izolatlarının PCR ile tanımlanmasına ait elektroforez görüntüleri gösterilmiştir.



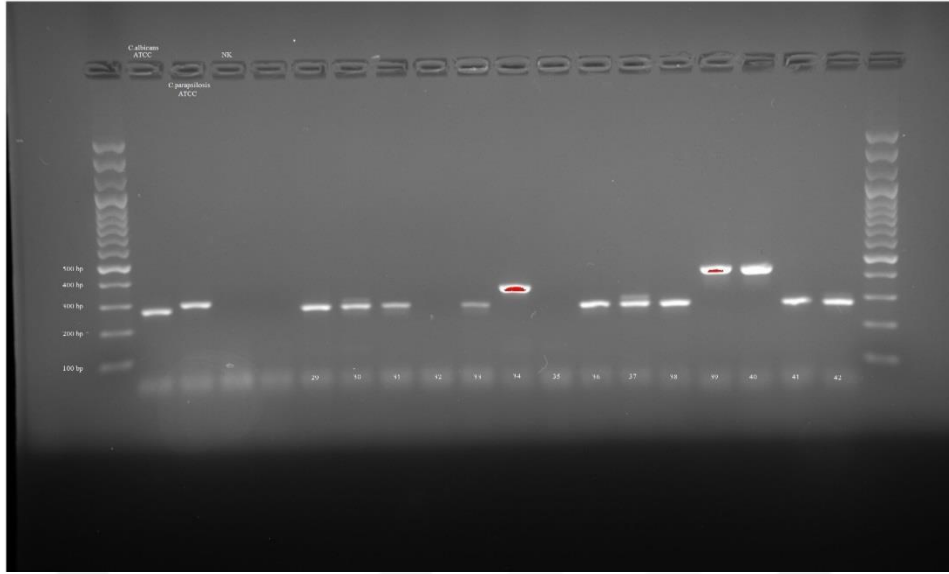
Şekil 10. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü(1-15. suşlar)

(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu, 3. kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4.kuyucuk *K.pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bantlar 1-15. suşlara aittir.)

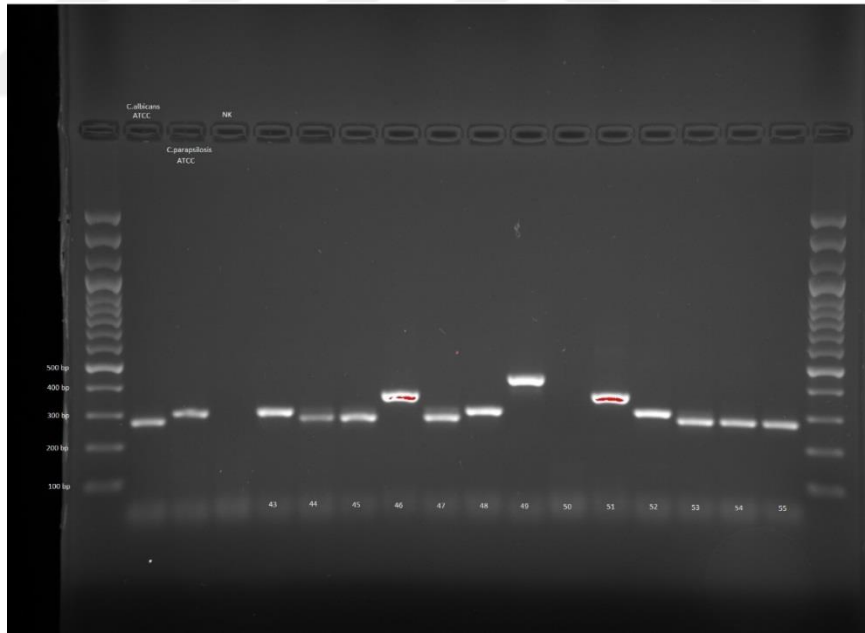


Şekil 11. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (16-28. Suşlar)

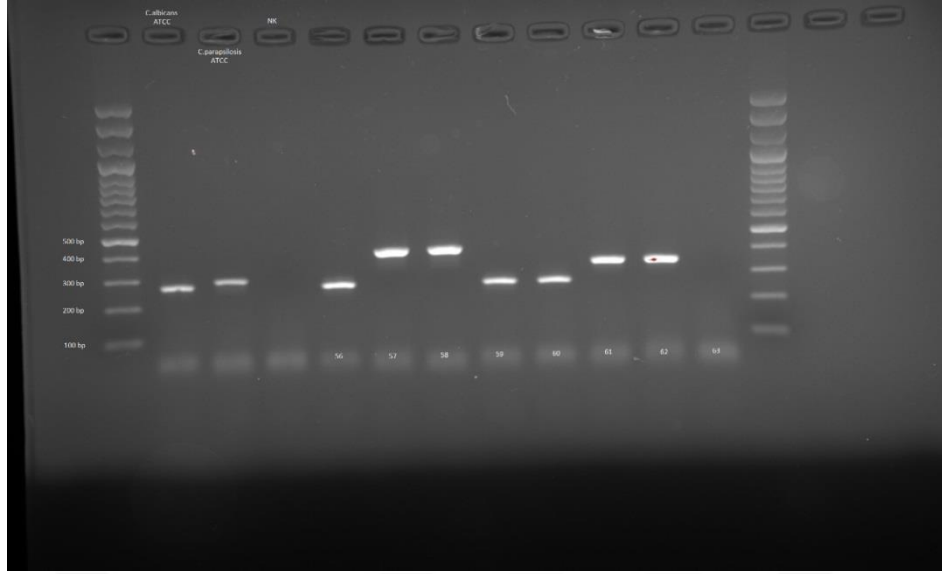
(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu, 3. kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4.kuyucuk *K.pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bantlar 16-28. suşlara aittir.)



Şekil 12. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (29-42. suşlar)(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu, 3. kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4. kuyucuk *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bantlar 29-42. suşlara aittir.)

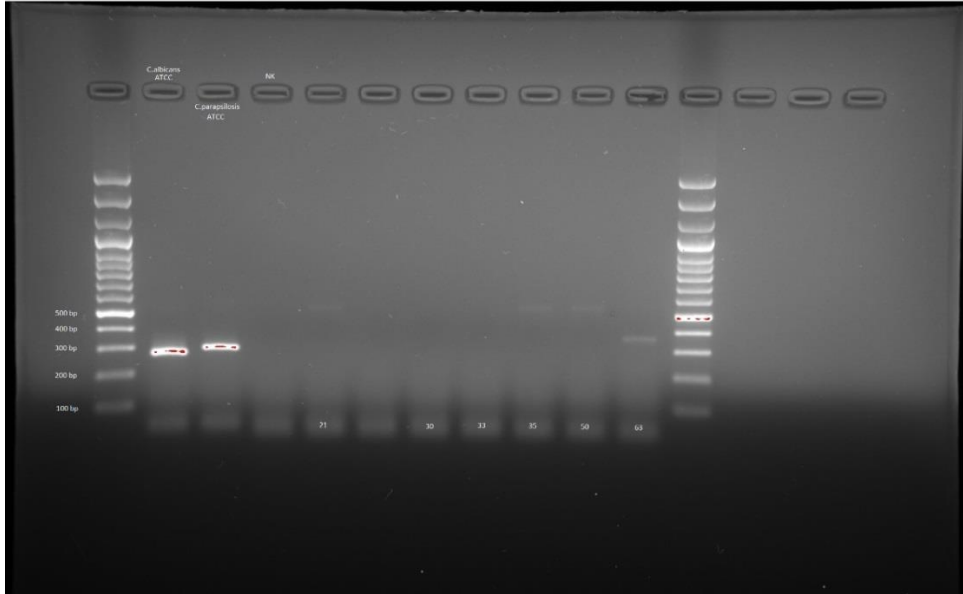


Şekil 13. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (43-55. suşlar)(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu , 3. kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4. kuyucuk *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bantlar 43-55. suşlara aittir.)



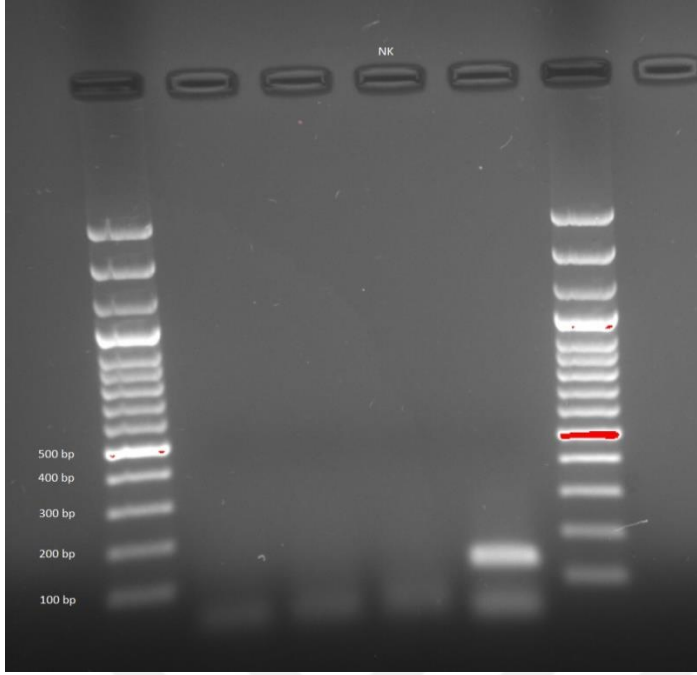
Şekil 14. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (56-62. suşlar)

(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu, 3.kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4.kuyucuk *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bantlar 56-62. suşlara aittir.)

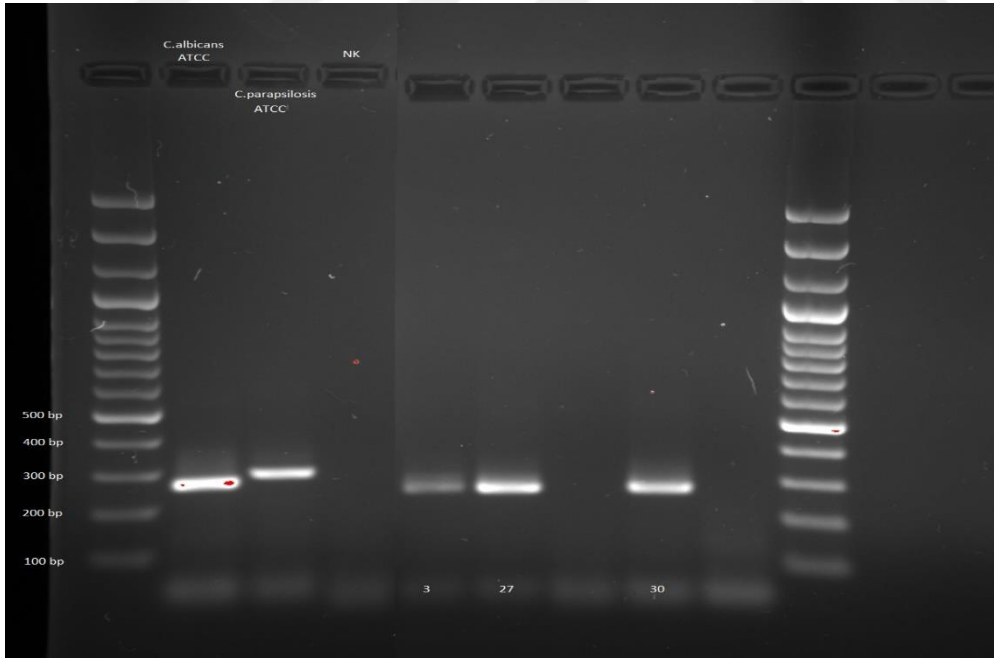


Şekil 15. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (21, 35, 50 ve 63. suşlar)

(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu, 3.kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4.kuyucuk *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bantlar 21,35,50 ve 63. suşlara aittir.)



Şekil 16. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (32. suş)(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu, 3. kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4.kuyucuk *K.pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bant 32.suşa aittir.)



Şekil 17. *Candida* izolatlarının PCR elektroforez görüntüsü (3, 27 ve 30. suşlar)

(Soldan 1. kuyucuk ve son kuyucuk DNA ladder (100-3000 bp), 2. kuyucuk *C. albicans* ATCC 90028 suşu, 3.kuyucuk *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşu, 4.kuyucuk *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşu. Görülen diğer bantlar 3,27 ve 30.suşlara aittir.)



Tablo 17.Tanı testlerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Germ Tüp	CHROMagar <i>Candida</i>	BD- PHOENIX	MALDI-TOF MS	PCR
C3	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C5	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C7	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C12	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C13	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C15	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C16	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C17	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C18	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C19	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C20	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C24	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C26	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C27	Pozitif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i>
C29	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C30	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.lusitaniae</i>	<i>C.albicans</i>
C31	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C33	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.albicans</i>
C36	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C37	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C38	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C41	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C42	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C44	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C45	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C47	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C53	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C54	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C55	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C56	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C59	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
C60	Pozitif	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>

Tablo 17'nin devamı arka sayfadadır.

Tablo 17'nin (Devamı). Tanı testlerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Germ Tüp	CHROMagar <i>Candida</i>	BD- PHOENIX	MALDI-TOF MS	PCR
C1	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C2	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C6	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C8	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C9	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C14	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C22	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C25	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C43	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C48	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C52	Negatif	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
C4	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>S.cerevisiae</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C10	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C11	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C34	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C46	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C51	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C61	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C62	Negatif	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
C23	Negatif	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
C28	Negatif	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
C39	Negatif	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
C40	Negatif	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
C49	Negatif	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
C57	Negatif	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
C58	Negatif	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
C21	Negatif	<i>Candida spp</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>
C35	Negatif	<i>Candida spp</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>
C50	Negatif	<i>Candida spp</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>
C63	Negatif	<i>C.krusei</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.krusei</i>
C32	Negatif	<i>Candida spp</i>	<i>C.lusitaniae</i>	<i>C.lusitaniae</i>	<i>C.lusitaniae</i>

4.3. Antifungal Duyarlılık Sonuçları

4.3.1. Broth mikrodilüsyon sonuçları

Broth mikrodilüsyon yöntemi EUCAST önerilerine göre çalışıldı. 63 *Candida* izolatının amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve mikafungin antifungallerine karşı MİK değerleri belirlendi. Çalışmamızda EUCAST'e göre sınır değerleri belli olan tüm izolatlar(n=59) amfoterisin B'ye duyarlı bulundu. Bir *C. albicans*, iki *C. parapsilosis* ve tüm *C. glabrata* izolatı flukonazole orta duyarlı, diğerleri duyarlı bulundu. Vorikonazole dirençli bir *C. albicans* izolatı hariç tüm izolatlar vorikonazole duyarlı bulundu. 15 *C. albicans* ve altı *C. parapsilosis* izolatı mikafungine dirençli, diğer *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve tüm *C. glabrata* izolatları mikafungine duyarlı bulunmuştur. Tablo 18'de izolatların broth mikrodilüsyon yöntemiyle bulunan MİK değerleri, Tablo 19'da ise izolatların tür düzeyinde broth mikrodilüsyonla bulunan MİK değerlerine göre dağılımı, Tablo 20'de broth mikrodilüsyon yöntemiyle bulunan antifungal değerlerinin kategorilendirilmesi, Tablo 21'de broth mikrodilüsyon yöntemiyle bulunan antifungal değerlerinin tür düzeyinde kategorilendirilmesi gösterilmiştir.

4.3.2. Disk difüzyon sonuçları

Disk difüzyon yöntemi CLSI önerilerine göre çalışıldı. 63 *Candida* izolatının amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazol antifungallerine karşı zon çapları ölçüldü. Amfoterisin B için ölçülen zon çapları 10 ve 20 mm arasındaydı. Bir *C. albicans*, bir *C. parapsilosis*, dört *C. glabrata* ve bir *C. krusei* izolatı flukonazole dirençli, bir *C. glabrata* orta duyarlı, değerlendirilebilen diğer izolatlar(n=51) duyarlı bulundu. Bir *C. albicans*, bir *C. parapsilosis* ve bir *C. krusei* izolatı vorikonazole dirençli, değerlendirilebilen diğer izolatlar(n=49) duyarlı bulundu. Tablo 18'de izolatların disk difüzyon yöntemiyle bulunan zon çapları, Tablo 20'de disk difüzyon yöntemiyle bulunan antifungal değerlerinin kategorilendirilmesi, Tablo 21'de disk difüzyon yöntemiyle bulunan antifungal değerlerinin tür düzeyinde kategorilendirilmesi gösterilmiştir.

4.3.3. Gradiyent test sonuçları

Gradient test yöntemi CLSI'nı önerdiği MİK değerlerine göre yorumlandı. 63 *Candida* izolatının gradient test yöntemiyle amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve mikafungin antifungallerine karşı MİK değerleri ölçüldü. Değerlendirilebilen tüm izolatlar (n=59) amfoterisin B ve mikafungine duyarlı bulundu. *C. albicans* izolatlarından 18'i flukonazole duyarlı, beşi doza bağlı duyarlı, altısı dirençli; *C. parapsilosis* izolatlarından üçü duyarlı, beşi orta duyarlı, üçü dirençli; *C. tropicalis* izolatlarından altısı duyarlı, biri orta duyarlı, biri dirençli; tüm *C. glabrata* suşları orta duyarlı ve flukonazole intrinsek dirençli olan *C. krusei* izolatı dirençli bulundu. *C. albicans* izolatlarından yedisi vorikonazole duyarlı, 13'ü orta duyarlı, 12'si dirençli; *C. parapsilosis* izolatlarından sekizi duyarlı, ikisi orta duyarlı ve biri dirençli; *C. tropicalis* izolatlarından beşi duyarlı, ikisi orta duyarlı ve biri dirençli; *C. krusei* izolatı orta duyarlı bulundu. Tablo 18'de izolatların gradient test yöntemiyle bulunan MİK değerleri, Tablo 20'de gradient test yöntemiyle bulunan antifungal değerlerinin kategorilendirilmesi, Tablo 21'de gradient test yöntemiyle bulunan antifungal değerlerinin tür düzeyinde kategorilendirilmesi gösterilmiştir.

Tablo 18. İzolatların mikrodilüsyon yöntemi, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan MİK değerleri

Suş No	PCR	Amfoterisin B			Flukonazol			Vorikonazol			Mikafungin	
		MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT
C3	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	14	0,125	2	26	0,016	0,75	28	0,06	0,012
C5	<i>C.albicans</i>	0,03	0,012	15	0,125	4	32	0,016	1	32	0,016	0,012
C7	<i>C.albicans</i>	0,03	0,19	16	0,125	4	26	0,016	0,75	28	0,03	0,023
C12	<i>C.albicans</i>	0,125	0,125	18	0,125	8	26	0,016	1	28	0,016	0,012
C13	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	14	0,125	6	26	0,016	1	28	0,016	0,012
C15	<i>C.albicans</i>	0,03	0,094	14	0,125	4	26	0,016	1	32	0,03	0,016
C16	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	18	0,125	8	26	0,016	1	30	0,03	0,023
C17	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	14	0,125	8	26	0,016	1	28	0,016	0,006
C18	<i>C.albicans</i>	0,06	0,047	16	0,125	1	26	0,016	0,047	28	0,03	0,008
C19	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	15	0,125	1	28	0,016	0,75	30	0,016	0,012
C20	<i>C.albicans</i>	0,125	0,032	20	0,125	0,25	36	0,016	0,016	38	0,016	0,008
C24	<i>C.albicans</i>	0,125	0,047	14	0,125	2	26	0,016	0,25	28	0,03	0,006
C26	<i>C.albicans</i>	0,03	0,064	18	0,125	8	26	0,016	0,25	28	0,03	0,008
C27	<i>C.albicans</i>	0,25	0,5	11	4	8	12	8	16	12	0,06	0,016
C29	<i>C.albicans</i>	0,03	0,5	11	0,125	0,5	30	0,016	0,5	26	0,016	0,012
C30	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	16	0,125	2	30	0,016	0,5	28	0,016	0,004
C31	<i>C.albicans</i>	0,03	0,12	16	0,125	2	28	0,016	0,75	30	0,016	0,012
C33	<i>C.albicans</i>	0,016	0,125	18	0,125	4	28	0,016	0,5	32	0,016	0,012
C36	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	17	0,125	2	26	0,016	2	30	0,016	0,012
C37	<i>C.albicans</i>	0,06	0,064	18	0,125	4	28	0,016	1	30	0,016	0,012
C38	<i>C.albicans</i>	0,03	0,094	18	0,125	2	26	0,016	1	28	0,016	0,008
C41	<i>C.albicans</i>	0,03	0,25	15	0,125	6	26	0,016	0,064	28	0,03	0,006
C42	<i>C.albicans</i>	0,03	0,25	17	0,125	8	24	0,016	0,75	30	0,03	0,006
C44	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	16	0,125	6	26	0,016	1	28	0,03	0,012
C45	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	18	0,125	2	28	0,016	1	30	0,016	0,006
C47	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	14	0,125	0,5	34	0,016	0,5	34	0,03	0,016
C53	<i>C.albicans</i>	0,03	0,19	14	0,125	0,75	34	0,016	0,047	34	2	0,012
C54	<i>C.albicans</i>	0,03	0,5	16	0,125	2	30	0,016	0,5	32	0,03	0,016
C55	<i>C.albicans</i>	0,03	0,125	14	0,125	1	34	0,016	0,047	34	0,03	0,008
C56	<i>C.albicans</i>	0,03	0,094	16	0,125	2	28	0,016	0,5	30	0,03	0,012
C59	<i>C.albicans</i>	0,03	0,064	13	0,125	0,5	28	0,016	0,032	30	0,016	0,023
C60	<i>C.albicans</i>	0,06	0,125	16	0,125	2	26	0,016	0,047	28	0,016	0,012

Tablo 18'nin devamı arka sayfadadır.

Tablo 18 (devamı).İzolatların mikrodilüsyon yöntemi, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan MİK değerleri

Suş No	PCR	Amfoterisin B			Flukonazol			Vorikonazol			Mikafungin	
		MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT
C1	<i>C.parapsilosis</i>	0,06	0,38	12	0,125	8	24	0,016	0,064	30	4	0,75
C2	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,38	11	0,125	8	24	0,016	0,38	32	4	1
C6	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,19	11	0,125	3	26	0,016	0,047	34	4	0,75
C8	<i>C.parapsilosis</i>	0,06	0,5	10	0,125	3	32	0,016	0,032	34	2	0,5
C9	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,38	10	0,125	2	34	0,016	0,032	34	2	0,75
C14	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,75	10	0,125	2	30	0,016	0,023	34	2	0,5
C22	<i>C.parapsilosis</i>	0,25	0,75	11	4	8	13	0,06	0,25	11	2	0,5
C25	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,38	10	0,25	2	22	0,016	0,064	30	4	0,75
C43	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,5	19	0,125	3	30	0,016	0,023	34	4	0,75
C48	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,38	11	0,125	3	30	0,016	0,094	34	4	0,5
C52	<i>C.parapsilosis</i>	0,125	0,5	12	4	6	28	0,125	4	26	0,125	0,25
C4	<i>C.tropicalis</i>	0,03	0,38	11	0,125	32	26	0,03	0,75	28	0,125	0,012
C10	<i>C.tropicalis</i>	0,03	0,5	10	0,125	1	26	0,016	0,064	26	0,06	0,032
C11	<i>C.tropicalis</i>	0,03	0,5	10	0,125	6	22	0,016	0,19	30	0,06	0,016
C34	<i>C.tropicalis</i>	0,125	0,19	11	0,125	1	28	0,016	0,047	30	0,016	0,016
C46	<i>C.tropicalis</i>	0,06	0,38	11	0,125	2	22	0,016	0,047	22	0,03	0,008
C51	<i>C.tropicalis</i>	0,06	0,38	13	0,125	1,5	28	0,016	0,125	26	0,125	0,016
C61	<i>C.tropicalis</i>	0,06	0,19	11	0,125	2	22	0,016	1	22	0,06	0,016
C62	<i>C.tropicalis</i>	0,125	0,064	15	0,125	2	26	0,03	0,064	20	0,06	0,008
C23	<i>C.glabrata</i>	0,125	0,19	12	16	32	15	1	4	12	0,03	0,006
C28	<i>C.glabrata</i>	0,25	0,19	13	8	16	10	0,25	0,25	12	0,03	0,012
C39	<i>C.glabrata</i>	0,06	0,064	18	4	8	12	0,125	0,5	28	0,03	0,006
C40	<i>C.glabrata</i>	0,06	0,19	13	0,25	1,5	28	0,016	0,094	34	0,03	0,006
C49	<i>C.glabrata</i>	0,06	0,25	12	1	2	22	0,03	0,5	22	0,03	0,004
C57	<i>C.glabrata</i>	0,06	0,25	11	2	4	12	0,06	1	14	0,03	0,006
C58	<i>C.glabrata</i>	0,125	0,25	12	2	4	10	0,06	1	12	0,03	0,023
C21	<i>C.kefyr</i>	0,125	0,125	14	0,125	0,75	40	0,016	0,023	38	0,125	0,032
C35	<i>C.kefyr</i>	0,25	0,19	13	0,125	8	15	0,016	2	20	0,25	0,064
C50	<i>C.kefyr</i>	0,25	0,19	11	0,125	0,25	34	0,016	0,047	34	0,25	0,032
C63	<i>C.krusei</i>	0,03	0,75	11	4	24	10	0,06	1	10	0,06	0,094
C32	<i>C.lusitaniae</i>	0,03	0,125	16	0,125	2	30	0,016	0,023	36	0,25	0,023

MDY: Mikrodilüsyon yöntemi, GT: Gradyent test, DD: Disk difüzyon.

Tablo 19. İzolatların tür düzeyinde broth mikrodilüsyonla bulunan MİK değerlerine göre dağılımı

İzolat	Antifungal	0,016	0,03	0,06	0,13	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
<i>C. albicans</i> n(32)	Amfoterisin B	1	24	3	3	1								
	Vorikonazol	31									1			
	Mikafungin	16	13	2					1					
	Flukonazol				31					1				
<i>C. parapsilosis</i> n(11)	Amfoterisin B			2	8	1								
	Vorikonazol	9		1	1									
	Mikafungin				1				4	6				
	Flukonazol				8	1				2				
<i>C. tropicalis</i> n(8)	Amfoterisin B		3	3	2									
	Vorikonazol	6	2											
	Mikafungin	1	1	4	2									
	Flukonazol				8									
<i>C. glabrata</i> n(7)	Amfoterisin B			4	2	1								
	Vorikonazol	1	1	2	1	1		1						
	Mikafungin		7											
	Flukonazol					1		1	2	1	1	1		
<i>C. kefyr</i> n(3)	Amfoterisin B				1	2								
	Vorikonazol	3												
	Mikafungin				1	2								
	Flukonazol				3									
<i>C. krusei</i> n(1)	Amfoterisin B		1											
	Vorikonazol			1										
	Mikafungin			1										
	Flukonazol									1				
<i>C. lusitanae</i> n(1)	Amfoterisin B		1											
	Vorikonazol	1												
	Mikafungin					1								
	Flukonazol				1									

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon

Tablo 20. Mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan antifungal değerlerinin kategorilendirilmesi

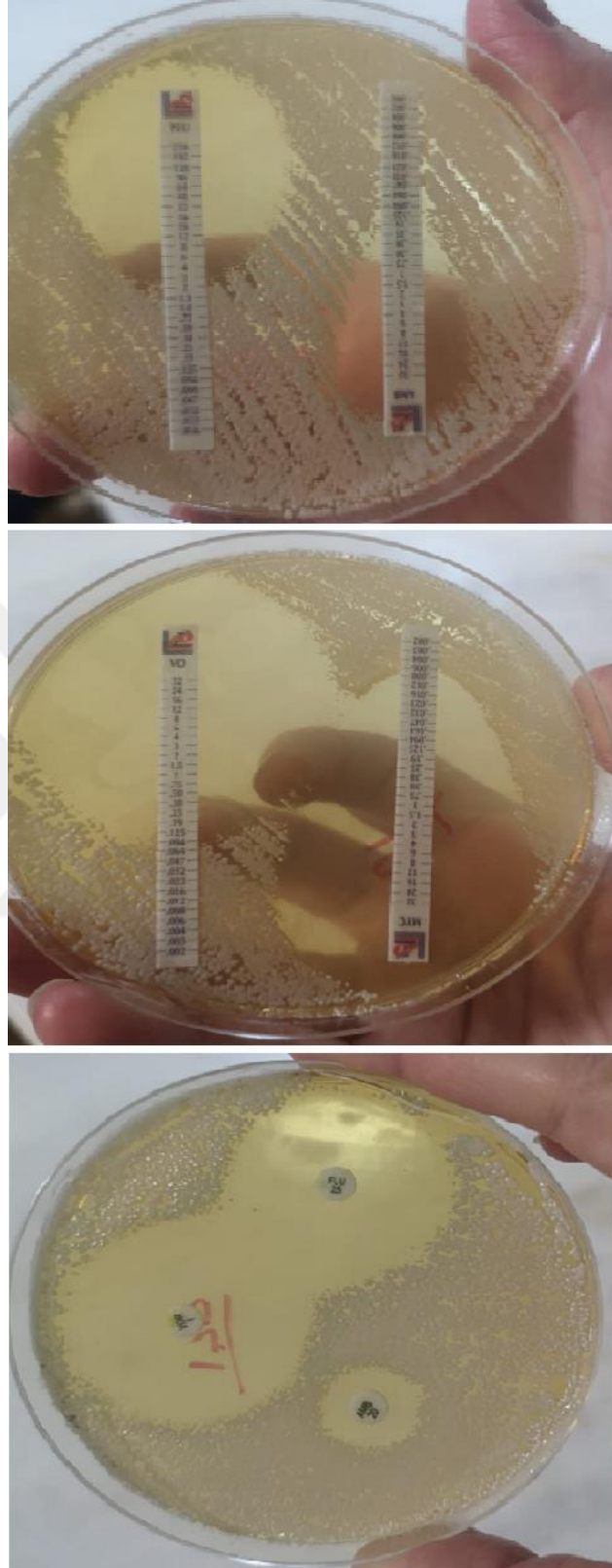
Suş No	Suş Adı	Amfoterisin B			Flukonazol			Vorikonazol			Mikafungin	
		MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT
C3	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	R	S
C5	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	SDD	S	S	R	S	S	S
C7	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	SDD	S	S	I	S	R	S
C12	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	R	S	S	R	S	S	S
C13	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	I	S	S	R	S	S	S
C15	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	SDD	S	S	R	S	R	S
C16	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	R	S	S	R	S	R	S
C17	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	R	S	S	R	S	S	S
C18	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	R	S
C19	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	S	S
C20	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	S	S
C24	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	R	S
C26	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	R	S	S	I	S	R	S
C27	<i>C.albicans</i>	S	S	-	I	R	R	R	R	R	R	S
C29	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	S	S
C30	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	S	S
C31	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	S	S
C33	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	I	S	S	I	S	S	S
C36	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	R	S	S	S
C37	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	I	S	S	R	S	S	S
C38	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	R	S	S	S
C41	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	I	S	S	S	S	R	S
C42	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	R	S	S	I	S	R	S
C44	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	I	S	S	R	S	R	S
C45	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	R	S	S	S
C47	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	-	S
C53	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	R	S
C54	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	R	S
C55	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	R	S
C56	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	I	S	R	S
C59	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	S	S
C60	<i>C.albicans</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	S	S

Tablo 20'nin devamı arka sayfadadır.

Tablo 20 (devamı).Mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan antifungal değerlerinin kategorilendirilmesi

Suş No	Suş Adı	Amfoterisin B			Flukonazol			Vorikonazol			Mikafungin	
		MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT	DD	MDY	GT
C1	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	R	S	S	S	S	R	S
C2	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	R	S	S	I	S	R	S
C6	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	I	S	S	S	S	R	S
C8	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	I	S	S	S	S	S	S
C9	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	S	S
C14	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	S	S
C22	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	I	R	R	S	I	R	S	S
C25	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	R	S
C43	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	I	S	S	S	S	R	S
C48	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	S	I	S	S	S	S	R	S
C52	<i>C.parapsilosis</i>	S	S	-	I	I	S	S	R	S	S	S
C4	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	R	S	S	I	S	-	S
C10	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	-	S
C11	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	I	S	S	I	S	-	S
C34	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	-	S
C46	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	R	S
C51	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	-	S
C61	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	S	S	S	R	S	-	S
C62	<i>C.tropicalis</i>	S	S	-	S	S	S	S	S	S	-	S
C23	<i>C.glabrata</i>	S	S	-	I	SDD	SDD	-	-	-	S	S
C28	<i>C.glabrata</i>	S	S	-	I	SDD	R	-	-	-	S	S
C39	<i>C.glabrata</i>	S	S	-	I	SDD	R	-	-	-	S	S
C40	<i>C.glabrata</i>	S	S	-	I	SDD	S	-	-	-	S	S
C49	<i>C.glabrata</i>	S	S	-	I	SDD	S	-	-	-	S	S
C57	<i>C.glabrata</i>	S	S	-	I	SDD	R	-	-	-	S	S
C58	<i>C.glabrata</i>	S	S	-	I	SDD	R	-	-	-	S	S
C21	<i>C.kefyr</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C35	<i>C.kefyr</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C50	<i>C.kefyr</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C63	<i>C.krusei</i>	S	S	-	R	R	R	-	I	R	-	S
C32	<i>C.lusitaniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

SDD: Doza bağlı duyarlı, R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı.



Şekil 18. Gradient ve disk difüzyon yöntemleriyle antifungal duyarlılığın belirlenmesi

Tablo 21. Mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan antifungal değerlerinin tür düzeyinde kategorilendirilmesi

Yöntem		Broth Mikrodilüsyon				Gradient Test				Disk Difüzyon			
<i>Candida</i> Türleri	Antifungaller	S	I	ATU	R	S	I	SDD	R	S	I	SDD	R
<i>C. albicans</i> n(32)	Amfoterisin B	32				32				-	-	-	-
	Vorikonazol	31			1	7	13		12	31			1
	Mikafungin	16		13	3	32				-	-	-	-
	Flukonazol	31	1			18	3	5	6	31			1
<i>C. parapsilosis</i> n(11)	Amfoterisin B	11				11				11			
	Vorikonazol	11				8	2		1	10			1
	Mikafungin	5			6	11				-	-	-	-
	Flukonazol	9	2			3	5		3	10			1
<i>C. tropicalis</i> n(8)	Amfoterisin B	8				8				-	-	-	-
	Vorikonazol	8				5	2		1	8			
	Mikafungin	IE	IE	IE	IE	8				-	-	-	-
	Flukonazol	8				6	1		1	8			
<i>C. glabrata</i> n(7)	Amfoterisin B	7				7				-	-	-	-
	Vorikonazol	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	7			
	Mikafungin	7				7				-	-	-	-
	Flukonazol		7					7		7			
<i>C. kefyr</i> n(3)	Amfoterisin B	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
	Vorikonazol	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mikafungin	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
	Flukonazol	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. krusei</i> n(1)	Amfoterisin B	1				1				-	-	-	-
	Vorikonazol		IE				1						1
	Mikafungin	IE				1				-	-	-	-
	Flukonazol				1				1(ID)				1(ID)
<i>C. lusitanae</i> n(1)	Amfoterisin B	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
	Vorikonazol	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mikafungin	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
	Flukonazol	IE	IE	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-

SDD: Doza bağlı duyarlı, R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı, ATU: Teknik belirsizlik alanı, IE: Yetersiz kanıt, ID: İntrensek direnç.

Tablo 22. Mikrodilüsyon, gradient test ve disk difüzyon yöntemleriyle bulunan antifungal değerlerinin karşılaştırması

Yöntem		S	I	ATU	R	S	R
<i>Candida</i> Türleri	Antifungaller	BM-GT P	BM-GT P	BM-GT P	BM-GT P	BM-DD P	BM-DD P
<i>C. albicans</i> n(32)	Amfoterisin B	0,999	-	-	-	-	-
	Vorikonazol	0,001	0,001	-	0,002	0,999	0,999
	Mikafungin	0,002	-	0,001	0,244	-	-
	Flukonazol	0,999	0,619	0,058	0,028	0,999	0,999
<i>C. parapsilosis</i> n(11)	Amfoterisin B	0,999	-	-	-	0,999	-
	Vorikonazol	0,454	0,496	-	-	0,811	0,999
	Mikafungin	0,105	-	-	0,028	-	-
	Flukonazol	0,126	0,440	-	0,244	0,803	0,999
<i>C. tropicalis</i> n(8)	Amfoterisin B	0,999	-	-	-	-	-
	Vorikonazol	0,378	0,496	-	0,999	0,999	-
	Mikafungin	-	-	-	-	-	-
	Flukonazol	0,570	0,999	-	0,999	0,999	-

R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı, ATU: Teknik belirsizlik alanı, BM: Broth mikrodilüsyon, GT: Gradyent test, DD: Disk difüzyon

5.TARTIŞMA

Candida türleri mantar enfeksiyonlarının önde gelen etiyolojik ajanlarıdır (Evren ve ark.,2022). Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, nötrofil sayı ve işlev bozukluğu gibi bağışıklık sistemine bağlı sorunlar, ileri yaş, kemoterapi ve transplantasyon gibi nedenlerle *Candida* enfeksiyonlarının görülme sıklığı artmıştır(Pfaller ve Diekema,2007). Yakın zamana kadar *C. albicans*en patojenik maya olarak kabul ediliyordu. Ancak, albicans dışı *Candida* suşları artık mantar enfeksiyonunun etken ajanları olarak giderek daha fazla bildirilmekte ve bu da türlere özgü tanımlamayı hem epidemiyolojik amaçlar hem de uygun antifungal tedavinin uygulanması açısından klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının önemli bir rolü haline getirmektedir. Yaygın olarak bilinen etiyolojik ajan *C. albicans*, fırsatçı insan patojeninin başlıca örneğidir; ancak *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*de ön plana çıkmıştır. Albicans dışı *Candida* suşlarının neden olduğu enfeksiyonlar *C. albicans*enfeksiyonlarına oldukça benzese de virülans faktörleri ve antimikrobiyal duyarlılık kalıpları birbirinden farklıdır. (Evren ve ark., 2022)

Candida 'ların neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları hastanede yatan hastalarda oldukça yaygındır. Kandidemi hastalarında ölüm oranı %20 ila %40 arasında değişmektedir(Lorenzo-Villegas ve ark.,2023).

Candidaalbicans, *Candida* türlerinin neden olduğu sistemik enfeksiyonların yaklaşık %50'sinden sorumludur ve bu da onu en yaygın bulaşıcı *Candida* etkeni yapar.*Candida* türlerinin dağılımındaki değişiklikler gözlemlenmiş ve *C.glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* gibi albicans dışı türlerin oranları giderek daha fazla bildirilmiştir.*C. albicans*, oranı yakın zamanda Asya-Pasifik'te %64'ten %45'e ve Avrupa'da %68'den %50'ye önemli ölçüde düşmesine rağmen birçok çalışmada hala en yaygın etkindir (Türk Dağı ve ark.,2016).

Çin'de patojenik mayaların yaygınlığı ve antifungal duyarlılığını belirlemek için bir eğitim hastanesinde yapılan 10 yıllık bir retrospektif çalışmada invaziv örneklerden izole edilen 527 *Candida* izolatı incelenmiştir. Çalışma 10 yıl içinde *C. albicans*izolasyonunda bir azalma ve *C. albicans*dışı türlerin yaygınlığının arttığını göstermiştir. Çalışmada *C. albicans*,izole edilen en sık tür olmasına rağmen izolatların

yarısından azını oluşturmuş(%49,2), bunu sırasıyla *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* izlemiştir(Song ve ark.,2020).

Erdem ve arkadaşlarının 2012 yılında 114 *Candida* izolatıyla yaptığı bir çalışmada en sık izole edilen tür *C. albicans*(%54,4), ikinci sıklıkta *C. glabrata* olmuştur (Erdem ve ark., 2012). 2016 yılında Konya Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 200 *Candida* spp suşuyla yapılan bir çalışmada en sık izole edilen tür *C. albicans*(%46,5), ikinci sıklıkta *C. glabrata*(%18) olmuştur. (Türk Dağı ve ark., 2016). Otağ ve arkadaşlarının 2003-2006 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen 287 maya izolatıyla yaptığı çalışmada en sık izole edilen tür *C. parapsilosis* olmuştur (%54). Bunu ikinci sıklıkta *C. albicans* takip etmiştir (%21) (Otağ ve ark., 2006).

Ergon ve arkadaşlarının 2011-2016 yılları arasında altı farklı merkezle yaptığı çalışmada kan kültürlerinden 2547 maya izolatu elde edilmiştir. *C. albicans* en sık (%43,1) izole edilen tür olmuştur. *C. albicans*'ı sırasıyla *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. kefyr* takip etmiştir(Ergon ve ark.,2020).

İsviçre'de yedi üniversite hastanesi ve 10 ayrı 3. basamak hastanenin ortak yaptığı, 2004-2009 yılları arasında prospektif olarak yapılan bir çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 1090 *Candida* izolatu tür düzeyinde tanımlanmıştır. En sık izole edilen tür 675(%61,9) izolatla *C. albicans* olmuştur. *C. albicans*'ı *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* izlemiştir. Bu türler izolatların %90,7'sini oluştururken geri kalan türler *C. dublinensis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. pelliculosa*, *C. famata*, *C. norvegensis*, *C. inconspicua* ve *C. rugosa* olarak tespit edilmiştir(Orasch ve ark.,2014).

Bizim çalışmamızda 32 izolatla en sık(%50,7) izole edilen tür *C. albicans* olurken bunu sırasıyla *C. parapsilosis*(11), *C. tropicalis*(8), *C. glabrata*(7), *C. kefyr*(3), *C. krusei*(1) ve *C. lusitaniae*(1) izlemiştir.

Uygun tedavinin zamanında uygulanması ihtiyacı nedeniyle, nükleik asit amplifikasyon yöntemleri ve matris destekli lazer desorpsiyon-iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) gibi hızlı tanı araçları tür tanımlaması için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Öte yandan, yüksek maliyetleri ve her tanı

laboratuvarının bu teknikleri kurmasının mümkün olmaması nedeniyle, geleneksel yöntemler hala tanı yaklaşımının temel direkleri olmaya devam etmektedir(Evren ve ark.,2022).

Mayaların geleneksel tanımlanması zaman alıcıdır ve mikroskopi, germ tüp testi ve mısır unu Tween-80 agarında veya kromojenik besiyerinde alt kültürlerle ve ardından biyokimyasal testlere dayanır (Evren ve ark., 2022).

Mattei ve arkadaşlarının 2014 yılında 135 *C. albicans*, 24 *C. tropicalis* ve 1 *C. dublinensis* izolatıyla serum örneklerinde germ tüp testi yaptığı çalışmada *C. tropicalis* suşları germ tüp negatif bulunurken, *C. albicans*ve *C. dublinensis* suşları bakımından germ tüp testi incelendiğinde suşların %96'sında (130/136) germ tüp testi pozitif sonuç vermiştir. Bu çalışmada *C. dublinensis* suşu germ tüp oluştururken 6 tane *C. albicans*suşu germ tüp oluşturmamıştır (Mattei ve ark., 2014).

Chaabaawi ve arkadaşlarının 2021 yılında 59 *C. albicans*, 1 *C. dublinensis* ve 35 *C. glabrata*izolatı kullanarak yaptığı çalışmada 59 *C. albicans*'ın 52si ve *C. dublinensis* izolatu iki saatin sonunda incelendiğinde germ tüp oluşumu gözlenirken, *C. glabrata*suşlarında germ tüp oluşumu gözlenmemiştir(Chaabaawi ve ark.,2022).

Cardanes ve arkadaşlarının 2002 yılında 423 *Candida* izolatu kullanarak yaptığı çalışmada *C. albicans*olduğu bilinen 163 izolatu germ tüp testi sonucu 160 örnekte pozitif, 3 örnekte negatif bulunmuştur. Ayrıca non-albicans *Candida* olduğu bilinen 8 *Candida* izolatu da yanlış pozitif sonuç vermiştir (Cardanes ve ark., 2002).Bizim çalışmamızda 63*Candida* izolatına germ tüp testi yapılmış, 32*C. albicans*izolatında germ tüp ve 9*C. tropicalis* suşunda yalancı germ tüp oluşumu gözlenmiştir.

Şahiner ve arkadaşlarının 2011 yılında 77 *Candida* izolatu kullanarak yaptığı çalışmada mısır unu Tween-80 agarda klamidospore oluşturan 35 izolat *C. albicans*veya *C. dublinensis*; yalancı hif yapısı ve klamidospore oluşturmeyen 10 izolat ise *C. glabrata*olarak değerlendirilmiştir. Diğer izolatların tanısı için mısır unu Tween-80 agar yol gösterici olmamıştır. Aynı çalışmada *Candida* izolatları CHROMagar *Candida* besiyerine ekilmiş ve bunların 35'i *C. albicans*, 14'ü *C. tropicalis*, 10'u *C. glabrata*olarak tanımlanmış, kalan 18 suş tür düzeyinde tanımlanamamıştır. *C.*

dublinensis standart suşu CHROMagar *Candida* besiyerinde 24 ve 36. saatlerde *C. albicans* izolatları gibi parlak, açık yeşil renkli koloniler oluşturmuştur. İnkübasyon süresi uzatıldıkça koloni rengi koyu yeşil ve mat bir görünüme kavuşmuştur (Şahiner ve ark., 2011).

Otağ ve arkadaşlarının 2002-2003 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 35 stok *Candida* suşu ve 2003-2006 yıllarında kan kültürlerinden izole edilen 287 maya suşuyla yaptığı çalışmada CHROMagar *Candida* besiyeri ile 35 stok *Candida* suşunun 33'ü doğru tanımlanmış, 2 *Candida* suşu, *C. lusitaniae* ve *C. guilliermondii* diğer türlerden ayırt edilememiştir. Fakat *C. guilliermondii* 48 saat sonra diğerlerinden farklı bir görünümle ayırt edilmiştir. Kan kültürlerinden izole edilen 287 *Candida* izolatının 265'i (%92,5) CHROMagar *Candida* besiyeri ile tanımlanmıştır. Aynı çalışmada germ tüp ve mısır unu Tween-80 agarda klamidospore oluşturan tüm izolatlar CHROMagar *Candida* besiyerinde yeşil renkli koloniler oluşturarak *C. albicans* olarak tanımlanmıştır (Otağ ve ark., 2006). Bizim çalışmamızda CHROMagar *Candida* besiyeri kullanılarak 31 *C. albicans*, 11 *C. parapsilosis*, dokuz *C. tropicalis*, yedi *C. glabrata* bir *C. krusei* tanımlanmış; bir *C. lusitaniae* suşu ve üç *C. kefyr* suşu tür düzeyinde tanımlanamamıştır.

Geleneksel metodoloji zahmetli ve yavaştır, bu nedenle daha hızlı tanımlamaya izin veren ticari yöntemler geliştirilmiştir. Son yıllarda, mikrobiyoloji laboratuvarları için uygun otomatik yöntemler geliştirilmiştir. Bunlara örnek olarak 4-48 saat içinde mayaları tanımlayabilen BD Phoenix™ Yeast ID verilebilir (Marucco ve ark., 2017).

Kal Çakmaklıoğulları ve arkadaşlarının 2016-2017 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 91 maya izolatıyla yaptığı çalışmada DNA dizi analizi, Phoenix ve MALDI-TOF tanı yöntemleri kullanılmıştır. Bu çalışmada DNA dizi analizi referans olarak ele alınmıştır. Buna göre Phoenix ve MALDI-TOF MS karşılaştırıldığında Phoenix için %92,3, MALDI-TOF MS için ise %97,8 doğruluk oranlarına ulaşılmıştır (Kal Çakmaklıoğulları ve ark., 2018).

Er ve arkadaşlarının 2016-2017 yılları arasında yaptığı bir çalışmada, yatan hastalardan alınan, BD BACTEC FX kan kültür cihazında pozitif sinyal veren 92 farklı kan kültür örneği gram boyamayla maya hücresi saptandıktan sonra çalışmaya dahil

edilmiştir. Bu 92 örnek germ tüp, CHROMagar *Candida* ve mısır unu tween-80 agar besiyerlerindeki özelliklerine göre değerlendirilmiştir. Aynı zamanda bu izolatlar BD-Phoenix ID panel ve MALDI-TOF MS otomatize sistemleri ve fungal ID MT-PCR yöntemiyle tür düzeyinde tanımlanmıştır. Çalışmada MALDI-TOF MS otomatize sistemi referans yöntem olarak kabul edilmiştir. Geleneksel yöntemlerle 92 izolatın 87'si(%94,6) tanımlanmıştır. BD Phoenix otomatize sistemiyle 92 izolatın tümü tür düzeyinde tanımlanmış ve MALDI-TOF MS ile aynı sonuçlar elde edilmiştir. Fungal ID MT-PCR ile örneklerin 81'i tür düzeyinde tanımlanmıştır. Referans yöntem olan MALDI-TOF MS yönteminde *C.inconspicua* ve *S.capitata* olarak tanımlanan örnekler için hedef olmadığından iki *C.inconspicua*, *Candida* spp olarak belirlenirken bir *S.capitata* izolatı tanımlanamamıştır. Buna göre Fungal ID MT-PCR ve referans yöntem olan MALDI-TOF MS arasındaki uyum tür düzeyinde %88, cins düzeyinde %98,9 olarak tespit edilmiştir. Tür özelinde çalışmaya bakıldığında Fungal ID MT-PCR *C. glabrata* için %88,2 duyarlılığa sahipken *C. dublinensis* için bu oran %50 olarak bulunmuştur. Aynı zamanda bu çalışmada en sık izole edilen tür *C. albicans* olurken onu ikinci sırada *C. glabrata* izlemiştir(Er ve ark.,2020).

2009-2014 yılları arasında Arjantin'in Buenos Aires şehrinde Mikoloji Ağı üye hastanelerinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen 192 *Candida* suşunun incelendiği bir çalışmada *Candida* izolatları geleneksel yöntemler ve MALDI-TOF MS otomatize sistemiyle tanımlanmıştır. Daha sonra bu izolatlar BD Phoenix™ Yeast ID panelleri kullanılarak tekrar tanımlanmıştır. MALDI-TOF MS ile tespit edilen 39 *C. tropicalis*'in 38'i, 34 *C. guilliermondii*'nin 32'si, 31 *C. albicans*'ın tamamı, 29 *C. parapsilosis*'in 28'i, 28 *C. glabrata*'nın 27'si, 23 *C. krusei*'nin 22'si, 4 *C. dublinensis*'in 2'si, 3 *C. lusitaniae*'nin 2'si aynı şekilde tanımlanmıştır. BD Phoenix™ Yeast ID panelleriyle 192 izolatın 182'si MALDI-TOF MS ile aynı şekilde tanımlanmış, iki sistem arasındaki uyum oranı %95 olarak bulunmuştur(Marucco ve ark., 2017).

Hindistan'ın Uttarakhand eyaletinde, 3. basamak bir hastanede, Mikrobiyoloji Bölümü, Mikoloji Laboratuvarı tarafından yürütülen kesitsel bir çalışmada, 2019 yılında, kan kültürlerinden izole edilen 114 *Candida* türü geleneksel yöntemler ve MALDI-TOF MS otomatize sistemiyle tanımlanmıştır. Geleneksel yöntemlerden germ tüpü, mısır unu Tween-80 agar ve CHROMagar besiyerleri kullanılmıştır. Uyuşmayan

sonuçlar ITS bölgelerinin dizilenmesiyle doğrulanmıştır. Geleneksel yöntemlerle 114 izolatan 96'sı(%84,2), MALDI-TOF MS ile 106'sı(%92,9) doğru sonuç vermiştir. Her iki yöntemle yaygın türler doğru olarak tanımlanmıştır. Çalışmada dizi analizi referans alındığında MALDI-TOF MS ve geleneksel yöntemlerin doğru tanımlama oranları sırasıyla %98,3 ve %96,5 olarak tespit edilmiştir (Meena ve ark.,2021).

Bizim alışmamızda 63 *Candida* izolatu BD Phoenix M50 ve MALDI-TOF MS otomatize sistemleri ile incelenmiş, tre özgü primerler ile yapılan multipleks PCR yöntemi referans alındığında BD Phoenix M50 63 rneğin 61'ini, MALDI-TOF MS 63 rneğin 60'ını doğru tanımlamıştır. Multipleks PCR yöntemiyle *C. tropicalis* olarak saptanan bir suş BD Phoenix M50 ile *S.cereviseae* ve *C. albicans* olarak tanımlanan bir suş da *C. parapsilosis* olarak tanımlanmıştır. MALDI-TOF MS otomatize sistemiyle multipleks PCR sonuçları karşılaştırıldığında PCR ile *C.albicans* olarak saptanan üç ayrı suş MALDI-TOF MS ile *C. kefyri*; *C. tropicalis* ve *C. lusitaniae* olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda BD Phoenix otomatize sistemiyle multipleks PCR yöntemi arasındaki uyum %96,8 olarak bulunurken MALDI-TOF MS ile multipleks PCR yöntemi arasındaki uyum %95,2 olmuştur.

Konvansiyonel tanı testlerinin sınırlamalarının üstesinden gelmek amacıyla, *Candida* türlerinin tespiti için DNA tabanlı yöntemler geliştirilmiştir. Bu testler sistemik kandidiyazis teşhisi için potansiyel olarak daha hassas bir yol sunmaktadır. Evrensel mantar primerleri ile DNA amplifikasyonu ve ardından tre özgü problemler kullanılarak tespit edilmesi, *Candida* tespitinin hassasiyetini büyük ölçüde geliştirmiştir (Ahmed ve ark.,2002).

İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji bölümünde 2010 yılında immün süprese 200 hastadan alınan çeşitli klinik örneklerin (kan, BAL, BOS, perikard-plevra-periton diyalizi sıvısı, biyopsi-apse) incelendiği bir çalışmada geleneksel ve moleküler yöntemler karşılaştırılmıştır. 200 klinik örnek öncelikle kültür yöntemiyle incelenmiştir. 200 örneğin 30'u kültür olumlu bulunmuşken 170 örnekte üreme saptanmamıştır. Genel primerler ile yapılan PCR'da kültür olumlu tespit edilen 30 örneğin tamamında mantar DNA'sı saptanmıştır. Mantar DNA'sı saptanan 30 örneğe *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. dublinensis* ve *C. krusei* türlerine özgü primerler kullanılarak mltipleks PCR çalışılmıştır. 20 rnek *C. albicans*, beş rnek *C.*

parapsilosis ve diğer beş örnek *C. tropicalis* olarak bulunmuş ve kültür pozitif, PCR negatif sonuca rastlanmamıştır. Bu çalışmada PCR testinin duyarlılığı %100 olarak tespit edilmiştir (Susever ve Yeğenoğlu, 2012).

Mısır'da 2021 yılında iki ayrı üniversite hastanesinde kan(21), idrar(45) ve balgam(56) örneklerinden izole edilen 122 *Candida* izolatu ile yapılan bir çalışmada tüm örnekler türe özgü primerler ile PCR yöntemiyle tanımlanmıştır. Çalışmada *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. dublinensis*, *C. guilliermondii* ve *C. lusitaniae*'ye özgü primerler kullanılmıştır. PCR çalışmasında 70 izolat(%57,4) *C. albicans*, 25 izolat *C. krusei*, sekiz izolat *C. tropicalis*, yedi izolat *C. parapsilosis*, altı izolat *C. dublinensis* ve diğer altı izolat da *C. glabrata* olarak tespit edilmiştir (M El-Ganiny ve ark., 2021).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada, yoğun bakım ünitelerinde yatan, kandidemi şüpheli, pediatrik yaş grubunda bulunan 54 hastadan alınan kan kültür örnekleri, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. krusei* ve *C. pelliculosa* türlerini tanımlamak üzere tasarlanmış spesifik primerler ile multipleks PCR çalışılmış ve sonuçlar kan kültür örneklerinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Kan kültürleri hastaların %14,8'inde pozitif olarak saptanırken multipleks PCR, tüm kültür pozitif hastalar dahil olmak üzere hastaların %24'ünde pozitif olarak bulunmuştur. Çalışmada multipleks PCR, *Candida* türlerini kan kültürleriyle %100 uyumla tespit etmiştir. Çalışmada kan kültürlerinde en sık izole edilen tür *C. albicans* iken, multipleks PCR'da *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* aynı sıklıkta bulunmuştur (Taira ve ark., 2014).

Bizim çalışmamızda *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. dublinensis* ve *C. krusei* türlerine spesifik primerlerle yapılan multipleks PCR'da 32 suş *C. albicans*, 11 suş *C. parapsilosis*, sekiz suş *C. tropicalis*, yedi suş *C. glabrata*, üç suş *C. kefyr*, bir suş *C. lusitaniae* ve bir suş *C. krusei* olarak tanımlanmıştır.

Mantar enfeksiyonunun sıklığının ve buna bağlı mortalite ve morbidite oranlarının yükselmesi, ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşmasına, dirençli mantar suşlarının ortaya çıkmasına ve direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır. Bu

nedenle uygun ve etkin antifungal tedavinin seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine gereksinim artmaktadır (Erdem ve ark.,2012).

Türkiye Konya’da 2016 yılında yapılan bir çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 200 *Candida* izolatının flukonazol, vorikonazol, posakonazol, amfoterisin B, anidulafungin ve kaspofungin antifungal duyarlılıkları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü(CLSI) M27-A3 dokümanına göre broth mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmada üç (%1,5) *Candida* kefir suşu hariç tüm *Candida* türleri amfoterisin B’ye duyarlı olarak tespit edilmiştir. Sadece bir (%2,8) *C. glabrata*flukonazole dirençli(MİK ≥ 64 µg/ml) ikenve diğerleri (%97,2) doza bağlı duyarlı olarak bulunmuştur. *C. glabrata*suşları hariç tüm türler flukonazole duyarlı bulunmuş, diğer suşlarda vorikonazol, posakonazol, kaspofungin ve anidulafungin direnci saptanmamıştır(Türk Dağı ve ark., 2016).

İran’da yapılan bir çalışmada yoğun bakımda yatan pediatrik hastaların invaziv örneklerinden izole edilen 235 *Candida* izolatının amfoterisin B, vorikonazol, flukonazol, mikafungin ve anidulafungin duyarlılığı Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi(EUCAST)’ne göre, broth mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışmada tüm izolatların amfoterisin B MİK değerleri ≤ 1 mg/l olarak bulunmuştur. Tüm *C. albicans*izolatları test edilen beş antifungal ajana duyarlı olarak tespit edilmiştir. *C. parapsilosis*izolatları, MİK değerleri >2 olarak bulunan iki izolat hariç mikafungine orta duyarlı olarak bulunmuştur. Vorikonazol ve flukonazol en yaygın *Candida* türlerine karşı %100 etki göstermiştir(Mirhendi ve ark.,2020).

İran’da yapılan başka bir çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 30 *C. glabrata*suşunun amfoterisin B, vorikonazol, flukonazol, posakonazol, kaspofungin ve terbinafin antifungal ajanlarına karşı duyarlılıkları Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi(EUCAST)’ne göre, broth mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışmada izolatların %20’si amfoterisin B’ye dirençli, tamamı flukonazole doza bağlı duyarlı, vorikonazol ve kaspofungine duyarlı olarak tespit edilmiştir(Fatahinia ve ark.,2020).

Bizim çalışmamızda, EUCAST önerilerine göre çalışılan broth mikrodilüsyon yöntemiyle 63 *Candida* izolatının amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve mikafungin

antifungallerine karşı duyarlılık profili incelenmiştir. Çalışmamızda EUCAST'e göre sınır değerleri belli olan tüm izolatlar(n=59) amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Bir *C. albicans*, iki *C. parapsilosis* ve tüm *C. glabrata* izolatları flukonazole orta duyarlı; kalan izolatlar duyarlı bulunmuştur. Dirençli bir *C. albicans* suşu hariç tüm izolatlar vorikonazole duyarlı bulunmuştur. *C. albicans* izolatlarının 15'inde ve *C. parapsilosis* izolatlarının altısında mikafungin dirençli, tüm *C. glabrata* suşları mikafungine duyarlı bulunmuştur. Mikafunginde saptanan yüksek MİK değerleri muhtemelen antifungal tozun yeterince çözünmemesinden kaynaklanmıştır(EUCAST E.Def 7.3.2, 2020). Tekrar edilen çalışma, aynı sonuçları vermiştir. Dirençli olarak saptanan 14 suşun MİK değeri 0,03 olarak bulunmuştur. Bu değer, duyarlı sonuç vermek için gerekli olan 0,016 değerinden bir dilüsyon eksiktir.

Disk difüzyon yöntemi teknik olarak basit ve ucuz olması ve az ekipman gerektirmesi nedeniyle *Candida*'lar için ideal bir test yöntemidir. CLSI, mayalarda disk difüzyon duyarlılık testi için standartlaştırılmış bir protokol geliştirmiştir. Disk difüzyon sonuçları ile broth mikrodilüsyon ile elde edilen MİK sonuçları arasında büyük oranda uyum belirlenmiştir. Broth mikrodilüsyonla disk difüzyonu arasındaki kategorik uyum >%90 ve çoğu durumda >%95 olma eğilimindedir(Berkow ve ark., 2020).

Mısır'da 2021 yılında iki üniversite hastanesinde kan, idrar ve balgam örneklerinden izole edilen 122 *Candida* suşu ile yapılan çalışmada, tüm *Candida* suşlarının CLSI önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile vorikonazol, flukonazol, kaspofungin ve Amfoterisin B'ye karşı antifungal duyarlılıkları araştırılmıştır. Çalışmada 122 *Candida* suşu flukonazol, vorikonazol ve kaspofungine karşı direnç göstermiştir. Direnç yüzdeleri flukonazol için %13,1(16 suş), vorikonazol için %9,8(12 suş) ve kaspofungin için %4,1(beş suş) olarak tespit edilmiş; amfoterisin B'ye karşı direnç saptanmamıştır(M. El-Ganiny ve ark.,2021).

Hindistan'da çeşitli klinik örneklerden (idrar, balgam, kan vs) izole edilen 157 maya izolatının incelendiği bir çalışmada, izolatların flukonazol, itrakonazol, klotrimazol, ketokonazol ve nistatin antifungal duyarlılıkları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü(CLSI) M44-A2 yönergesine göre disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışmada 157 izolatın 98'i flukonazole dirençli bulunmuştur. Çalışmada *C. glabrata* tüm antifungallere yüksek dirençli olarak bulunmuş, onu *C.*

tropicalis izlemiştir. *C. albicans* ve *C. parapsilosis* test edilen antifungal ajanlara karşı genel olarak daha duyarlı bulunmuştur. *C. glabrata* suşlarının %80'i flukonazol direnci göstermiştir (Pote ve ark., 2020).

Güney Brezilya'da 2018 -2019 yılları arasında 3. Basamak bir hastanede yapılan bir çalışmada, yatan hastaların kan kültür örneklerinden izole edilen 62 *Candida* izolatının flukonazol duyarlılığı Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) M44-A2 ve M27-A3 dökümanlarına göre disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri ile çalışılmıştır. Çalışmada *Candida* spp. izolatlarının yaklaşık %87'si flukonazole duyarlı, disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemlerinin uyumu %92'inin üzerinde bulunmuştur (Celestino ve ark., 2021).

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2002-2005 yılları arasında yapılan bir çalışmada çeşitli bölümlerde yatan hastalardan alınan kan, idrar, alt solunum yolu ve yumuşak doku örneklerinden izole edilen 50 *C. glabrata* suşunun vorikonazol, flukonazol, itrakonazol, amfoterisin B ve kaspofungine karşı duyarlılıkları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) M44-A2 ve M27-A3 dökümanlarına göre disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri ile çalışılmıştır. Çalışmada disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon arasındaki uyum amfoterisin B için %92, kaspofungin için %100, vorikonazol için %78 ve flukonazol için %8 olarak bulunmuştur (Kiraz ve ark., 2010).

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada, yatan hastalardan alınan çeşitli örneklerden soyutlanan 70 *C. glabrata* türünün flukonazol ve vorikonazol duyarlılıkları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) M44-A2 ve M27-A3 dökümanlarına göre disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri ile çalışılmıştır. Çalışmada broth mikrodilüsyon sonuçları değerlendirildiğinde 24 saatlik inkübasyondan sonra *C. glabrata* suşlarının %94,3'ü flukonazole duyarlı bulunurken bu oran vorikonazol için %100 olarak tespit edilmiştir. 48 saatlik inkübasyondan sonra ise bu oranlar %80 ve %98,6 olarak kaydedilmiştir. Disk difüzyon sonuçları değerlendirildiğinde 24 saatlik inkübasyondan sonra *C. glabrata* suşlarının %80'i flukonazole duyarlı iken, bu oran vorikonazol için %92,8 olarak tespit edilmiştir. 48 saatlik inkübasyondan sonra ise bu oranlar %68,6 ve %81,4 olarak tespit edilmiştir. Broth mikrodilüsyon ve disk difüzyon arasındaki uyum oranı 24 saatlik inkübasyondan

sonraflukonazol ve vorikonazol için sırasıyla %80 ve %92,8 iken, 48 saatlik inkübasyondan sonra bu oranlar %60 ve %81,4 olarak bulunmuştur(Hazırolanve ark., 2016).

Bizim çalışmamızda vorikonazol, flukonazol ve amfoterisin B antifungalleriyle disk difüzyon çalışılmıştır. Amfoterisin B için CLSI bir sınır değeri belirtmediğinden sonuçlar duyarlı/dirençli olarak kategorilendirilmemiştir. Çalışmamızda Amfoterisin B için bulunan zon çapları 10-20 mm arasında değişmekteydi. Vorikonazol için disk difüzyon ve standart yöntem olan broth mikrodilüsyon yöntemleri arasındaki uyum *C. parapsilosis* için %90,9 iken *C. albicans* ve *C. tropicalis* için %100 olarak bulunmuştur. Flukonazol için iki yöntem arasındaki uyum *C. parapsilosis* için %81,8 iken *C. albicans* için %96,8 *C. tropicalis* için ise %100 olarak bulunmuştur. *C. glabrata* izolatlarında flukonazol için iki yöntem arasındaki uyum %42,8 olarak bulunmuştur. Broth mikrodilüsyon yöntemiyle orta duyarlı ve gradient test yöntemiyle doza bağlı duyarlı bulunan dört izolat disk difüzyon yöntemiyle dirençli bulunmuştur. Disk difüzyon yöntemi doza bağlı duyarlı suşları belirlemede yetersiz kalmıştır.

Broth mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemlerine bir alternatif, gradient difüzyon şeritlerinin kullanılmasıdır. Kullanım kolaylığının yanı sıra, gradient difüzyon şeritlerinin disk difüzyona göre sahip olduğu en önemli avantaj MİK değeri üreterek antifungal duyarlılığı ölçme yeteneğidir. Gradient difüzyonla üretilen MİK değerleri, broth mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen değerlerle karşılaştırıldığında uyumludur (Berkow ve ark.,2020; Durand ve ark.,2021).

Norveç'te 2020 yılında yapılan bir çalışmada, ileri evre kanser hastalarının oral florasından izole edilen 55 *Candida* izolatı RPMI agar besiyeri ve flukonazol,anidulafungin, amfoterisin B ve nistatin antifungal ajanları kullanılarak gradient test yöntemiyle değerlendirilmiştir. Çalışmada tespit edilen 40 *C. albicans*'ın 39'u flukonazole duyarlı iken (MİK ≤ 4 µg/ml) 1 suş dirençli.(MİK 6 µg/ml) olarak bulunmuştur. Ayrıca, *C. albicans*40 izolatın hepsinde hem amfoterisin B'ye hem de anidulafungine duyarlı olarak tespit edilmiştir.Beş *C. glabrata*'dan dördü 0,5, 1,5, 2 ve 16 µg/ml MİK değerleriyle flukonazole duyarlı olarak belirlenmiş, flukonazole dirençli bir *C. glabrata*'nın MİK değeri 24 µg/ml olarak bulunmuştur. Test edilen tüm izolatlar, bir *C. tropicalis* izolatı (1,5 µg/ml MİK) hariç, amfoterisin B'ye duyarlı, iki *C.*

parapsilosis (6 ve > 32 µg/ml MİK) ve bir *C. tropicalis* (0,125 µg/ml MİK) anidulafungine dirençli olarak tespit edilmiştir (Monsen ve ark., 2023).

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji bölümünde kan kültürlerinden izole edilen 46 *Candida* suşunun vorikonazol, flukonazol, kaspofungin ve amfoterisin B duyarlılıklarının Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) broth mikrodilüsyon ve gradient test yöntemleri ile araştırıldığı çalışmada iki testin uyumluluk oranı flukonazol için %80,4, vorikonazol için %95,6, amfoterisin B için %84,7 ve kaspofungin için %93,4 şeklinde tespit edilmiştir. Çalışmada bir *C. albicans* ve bir *C. glabrata* suşu Gradient test ile flukonazole dirençli fakat broth mikrodilüsyon yöntemiyle duyarlı bulunmuştur. Bir *C. albicans* suşu Gradient test ile vorikonazole dirençli bulunurken broth mikrodilüsyonla duyarlı olarak tespit edilmiştir. Gradient test yöntemiyle kaspofunginin MİK değerleri *C. parapsilosis* suşlarında diğer antifungal ajanlara göre yüksek bulunmuştur (Ozcan ve ark., 2010).

Tayland'da yapılan bir çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 84 *Candida* izolatının flukonazol ve amfoterisin B antifungallerine karşı duyarlılığı gradient test şeritleri kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada *C. albicans* ve *C. glabrata* suşlarının tamamı, *C. tropicalis* suşlarının %94'ü, *C. parapsilosis* suşlarının %50'si flukonazole duyarlı; *C. tropicalis* suşlarının %6'sı ve *C. parapsilosis* suşlarının %25'i flukonazole doza bağlı duyarlı bulunmuştur. Tüm *Candida* izolatları amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur (Sriphannam ve ark., 2019).

Bizim çalışmamızda 63 izolat amfoterisin B, vorikonazol, flukonazol ve mikafungin antifungal gradient test şeritleriyle incelenmiştir. Gradient test amfoterisin B için, değerlendirilebilen tüm izolatlarda (n=59) duyarlı ve broth mikrodilüsyon yöntemiyle %100 uyumlu bulunmuştur. Flukonazol için iki yöntem arasındaki uyum *C. albicans* için %56, *C. parapsilosis* için %36, *C. tropicalis* için %75 ve *C. glabrata* için %100 olarak bulunmuştur. Vorikonazol için iki yöntem arasındaki uyum *C. albicans* için %25, *C. parapsilosis* için %73, *C. tropicalis* için %62 olarak bulunmuştur. Gradient test Mikafungin için, değerlendirilebilen tüm izolatlarda (n=59) duyarlı bulunmuştur. Mikafungin için iki yöntem arasındaki uyum *C. albicans* için %50, *C. parapsilosis* için %45 ve *C. glabrata* için %100 olarak bulunmuştur. Tür düzeyinde değerlendirildiğinde gradient test ve broth mikrodilüsyon yöntemleri arasındaki en yüksek uyum *C.*

glabrata izolatlarında görülmüştür. *C. glabrata* izolatlarında amfoterisin B, flukonazol ve mikafungin için iki yöntem arasındaki uyum %100 olarak tespit edilmiştir.



6.SONUÇLAR

C. albicans kan kültür örneklerinden en sık izole edilen tür olmuştur. Bunu sırasıyla *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* takip etmiştir.

Germ tüp testi, *C. albicans* ve *non-albicans* ayrımında %100 doğru sonuç vermiştir.

BD Phoenix M50 ve MALDI-TOF MS otomatize sistemleri *Candida*'ları tür düzeyinde tanımlamak için yüksek güvenilirliğe sahiptir.

CHROMagar *Candida* besiyeri sık rastlanan *Candida* türlerini tanımlamada başvurulabilecek bir tanı yöntemidir.

Broth mikrodilüsyon yönteminde izolatlarda amfoterisin B, vorikonazol ve flukonazol genel olarak duyarlı bulunurken, mikafungin direnci yüksek saptanmıştır.

Disk difüzyon yöntemi *Candida*'larda azol direncini saptamada broth mikrodilüsyona alternatif, güvenilir bir yöntemdir.

Disk difüzyon yöntemi doza bağlı duyarlı suşları tespit edememiştir.

Candida'larda antifungal direnç profilini belirlemede gradient test yöntemi amfoterisin B için kullanımı güvenli bir yöntemdir.

7. KAYNAKÇA

- Ahmad S, Khan Z, Mustafa AS, Khan ZU. Seminested PCR for Diagnosis of Candidemia: Comparison with Culture, Antigen Detection, and Biochemical Methods for Species Identification. J Clin Microbiol. 2002 Jul;40(7):2483-9. doi:<https://doi.org/10.1128/jcm.40.7.2483-2489.2002>
- Akinosoglou K, Rigopoulos EA, Papageorgiou D, Schinas G, Polyzou E, Dimopoulou E, et al. Amphotericin B in the Era of New Antifungals: Where Will It Stand?. JoF. 2024 Apr 10;10(4):278. doi: <https://doi.org/10.3390/jof10040278>
- Alam MZ, Alam Q, Jiman-Fatani A, Kamal MA, Abuzenadah AM, Chaudhary AG, et al. Candida identification: a journey from conventional to molecular methods in medical mycology. World J Microbiol Biotechnol. 2014 May;30(5):1437-51. doi: 10.1007/s11274-013-1574-z
- Alıcı A, Yenişehirli G, Yenişehirli A. Investigation of Azole Susceptibility Profile and Virulence Factors of *Candida* Strains Isolated From Blood Culture. FLORA. 2023 Sep 22;28(3):411-20. doi: <http://dx.doi.org/10.5578/flora.20239711>
- Altıntaş SN, Şahiner F. Antifungal Agents in the Treatment of Candidosis and Susceptibility Tests. jmv. 2021 May 30;2(2):56-66. doi: <http://dx.doi.org/10.46683/jmvi.2021.32>
- Arastehfar A, Boekhout T, Butler G, De Cesare GB, Dolk E, Gabaldón T, et al. Recent trends in molecular diagnostics of yeast infections: from PCR to NGS. FEMS Microbiology Reviews. 2019 Sep 1;43(5):517-47. doi: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz015>
- Argersinger DP, Natkha VP, Shepard MJ, Thomas AA, Oler AJ, Williamson PR, et al. Intradural cauda equina *Candida* abscess presenting with hydrocephalus: case report. Journal of Neurosurgery: Spine. 2019 Dec;31(6):890-3. doi: <https://doi.org/10.3171/2019.6.spine19271>
- Atalay MA, Demir G, Sav H, Koç AN. Kan Kültürlerinden Direkt Olarak Çimlenme Borusu (Germ tüp) Testinin Değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 42(3):106-109, 2012 doi:10.5222/TMCD.2012.106
- Ayadi R, Sitterlé E, d'Enfert C, Dannaoui E, Bougnoux M. *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* Show Different Trailing Effect Patterns When Exposed to Echinocandins and Azoles. Front Microbiol. 2020 Jun 16;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01286>
- Barantsevich N, Barantsevich E. Diagnosis and Treatment of Invasive Candidiasis. Antibiotics. 2022 May 26;11(6):718. doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060718>
- Berkow EL, Lockhart SR, Ostrosky-Zeichner L. Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches. Clin Microbiol Rev. 2020 Jun 17;33(3). doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.00069-19>
- Bilal H, Shafiq M, Hou B, Islam R, Khan MN, Khan RU, et al. Distribution and antifungal susceptibility pattern of *Candida* species from mainland China: A systematic analysis. Virulence. 2022 Dec 31;13(1):1573-89. doi: <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2123325>
- Branco J, Miranda IM, Rodrigues AG. *Candida parapsilosis* Virulence and Antifungal Resistance Mechanisms: A Comprehensive Review of Key Determinants. JoF. 2023 Jan 5;9(1):80. doi: <https://doi.org/10.3390/jof9010080>

Brito Monteiro M, Sismeiro R, Negrão C, Jonet M, Simoa G. Fungal Endocarditis: A Case Report. *Cureus*. 2021 Dec 4. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.20156>

Cai S, Xu J, Shao Y, Gong J, Zhao F, He L, et al. Rapid identification of the *Candida glabrata* species complex by high-resolution melting curve analysis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2020 Feb 11;34(6). doi: <https://doi.org/10.1002/jcla.23226>

Cai S, Xu J, Shao Y, Gong J, Zhao F, He L, et al. Rapid identification of the *Candida glabrata* species complex by high-resolution melting curve analysis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2020 Feb 11;34(6). doi: <https://doi.org/10.1002/jcla.23226>

Camp I, Spettel K, Willinger B. Molecular Methods for the Diagnosis of Invasive Candidiasis. *JoF*. 2020 Jul 6;6(3):101. doi: <https://doi.org/10.3390/jof6030101>

Cárdenes C, Carrillo A, Arias A, Rodríguez-Alvarez C, Torres-Lana A, Sierra A, et al. Comparison of Albicans ID2® agar plate with the germ tube for presumptive identification of *Candida albicans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2002 Mar;42(3):181-5. doi: [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(01\)00346-7](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(01)00346-7)

Carmo A, Rocha M, Pereirinha P, Tomé R, Costa E. Antifungals: From Pharmacokinetics to Clinical Practice. *Antibiotics*. 2023 May 9;12(5):884. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules29122855>

Carolus H, Pierson S, Lagrou K, Van Dijck P. Amphotericin B and Other Polyenes—Discovery, Clinical Use, Mode of Action and Drug Resistance. *JoF*. 2020. Nov 27;6(4):321 doi: <https://doi.org/10.3390/jof6040321>

Casey B, Bahekar A, Patel D, Walker E, Ilaiwy A. Fungal Endocarditis Secondary to Transdermal Fentanyl Patch. *Cureus*. 2023 May 8. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.38706>

Celestino de Souza Â, Goldani LZ, Roesch EW, Lutz L, Barth PO, André de Souza Sampaio P, et al. Evaluation of Identification and Susceptibility for *Candida* Spp. Isolated Directly from Positive Blood Culture Bottles. *International Journal of Microbiology*. 2021 Nov 16;2021:1-5. doi: <https://doi.org/10.1155/2021/9364231>

Chaabaawi A, Sucu M, Karakoyun AS, Ünal N, Kara E, İlkit M. Gebelerde *Candida* Vajinitinin Epidemiyolojisi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2022;52(2):109-18. doi: <https://doi.org/10.54453/TMCD.2022.82621>

Chaabaawi A, Sucu M, Karakoyun AS, Ünal N, Kara E, İlkit M. Gebelerde *Candida* Vajinitinin Epidemiyolojisi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2022;52(2):109-18. doi: <https://dx.doi.org/10.54453/TMCD.2022.82621>

Chen H, Zhou X, Ren B, Cheng L. The regulation of hyphae growth in *Candida albicans*. *Virulence*. 2020;11(1):337-48. doi:10.1080/21505594.2020.1748930

Chen J, Hu N, Xu H, Liu Q, Yu X, Zhang Y, et al. Molecular Epidemiology, Antifungal Susceptibility, and Virulence Evaluation of *Candida* Isolates Causing Invasive Infection in a Tertiary Care Teaching Hospital. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Sep 15;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.721439>

Cinicola BL, Uva A, Duse M, Zicari AM, Buonsenso D. Mucocutaneous Candidiasis: Insights Into the Diagnosis and Treatment. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2024 Jul;43(7):694-703. doi: <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000004321>

Clinical and Laboratory Standards Institute . Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2nd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, PA, USA: 2020. CLSI Supplement M60. 2020.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2009). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline, second edition. 147 CLSI Document M44-A2. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Copur Cicek A, Koc AN, Erturk A, Demir G, Bahceci I. The Evaluation of Chromogenic Medium in Identification of *Candida* Species Isolated from Various Clinical Samples. *Turk J Bioch*. 2014;3(3):248-52. doi: <http://dx.doi.org/10.5505/abantmedj.2014.74046>

Cortés JA, Ruiz JF, Melgarejo-Moreno LN, Lemos EV. Candidemia en Colombia. *biomedica*. 2020 Mar 1;40(1):195-207 doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4400>

Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev*. 2012 Mar;36(2):380-407. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>

Czajka KM, Venkataraman K, Brabant-Kirwan D, Santi SA, Verschoor C, Appanna VD, et al. Molecular Mechanisms Associated with Antifungal Resistance in Pathogenic *Candida* Species. *Cells*. 2023 Nov 19;12(22):2655. doi: <https://doi.org/10.3390/cells12222655>

Czechowicz P, Nowicka J, Gościński G. Virulence Factors of *Candida* spp. and Host Immune Response Important in the Pathogenesis of Vulvovaginal Candidiasis. *IJMS*. 2022 May 24;23(11):5895. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23115895>

Çuhadar T, Kalkancı A. Emerging Pathogen: *Candida kefyr* (*Kluyveromyces marxianus*). *Mikrobiyol Bul*. 2017 Oct 10;51(4):387-95. doi: <https://doi.org/10.5578/mb.61813>

Çürük P, Karakoyun AS, Ünal N, Yılmaz Ş, Benlidayı ME, Kara E, et al. Diagnostic Value of The Real-Time PCR Test for The Identification of *Candida* Species in Oral Rinse Solutions. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2023;53(4):245-57. doi: <https://dx.doi.org/10.54453/TMCD.2023.75768>

Dagi HT, Findik D, Senkeles C, Arslan U. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from bloodstream infections in Konya, Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2016 Dec;15(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12941-016-0153-1>

Daneshnia F, de Almeida Júnior JN, Ilkit M, Lombardi L, Perry AM, Gao M, et al. Worldwide emergence of fluconazole-resistant *Candida* parapsilosis: current framework and future research roadmap. *The Lancet Microbe*. 2023 Jun;4(6): e470-e480. doi: [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(23\)00067-8](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(23)00067-8)

Delma FZ, Al-Hatmi AMS, Brüggemann RJM, Melchers WJG, de Hoog S, Verweij PE, et al. Molecular Mechanisms of 5-Fluorocytosine Resistance in Yeasts and Filamentous Fungi. *JoF*. 2021 Oct 27;7(11):909. doi: <https://doi.org/10.3390/jof7110909>. PMID: 34829198; PMCID: PMC8623157

Deng R, Meng X, Li R, Wang A, Song Y. Asymptomatic *Candida glabrata* urinary tract infection in an immunocompetent young female: A case report. *Medicine*. 2023 May 19;102(20): e33798 doi: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000033798>

doi: <https://doi.org/10.1186/s41182-020-00268-x>

Dufresne SF, Marr KA, Sydnor E, Staab JF, Karp JE, Lu K, et al. Epidemiology of *Candida kefyr* in Patients with Hematologic Malignancies. *J Clin Microbiol*. 2014 Jun;52(6):1830-7. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.00131-14>

Durand C, Maubon D, Cornet M, Wang Y, Aldebert D, Garnaud C. Can We Improve Antifungal Susceptibility Testing?. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Sep 10;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.720609>

Eggimann P, Bille J, Marchetti O. Diagnosis of invasive candidiasis in the ICU. *Ann Intensive Care*. 2011. Dec;1(1) doi: <https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-37>

Eghtedar Nejad E, Ghasemi Nejad Almani P, Mohammadi MA, Salari S. Molecular identification of *Candida* isolates by Real-time PCR-high-resolution melting analysis and investigation of the genetic diversity of *Candida* species. *Clinical Laboratory Analysis*. 2020 Oct;34(10). doi: <https://doi.org/10.1002/jcla.23444>

El Hajj E, Glaser A, Yancey D, Byl A, Rahman M. Fungal Endocarditis: A Rare Cause of Left Ventricular Outflow Obstruction. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal*. 2023 Aug 25;19(1):64-8. doi: <https://doi.org/10.14797/mdcvj.1241>

Er H, Koyuncu Özyurt Ö, Özhak B, Yazısız H, Öngüt G, Eres Sarıtaş Z, et al. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Mayaların Tanımlanmasında Ticari Bir Multipleks Tandem Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yönteminin Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2020 Oct 15;54(4):596-605. doi: <https://doi.org/10.5578/mb.69832>

Erbaş G, Parın U, Kırkan Ş, Savaşan S, Özavcı Mv, Yüksel Ht. Identification of *Candida* strains with nested PCR in bovinemastitis and determination of antifungal susceptibilities. *Turk J Vet Anim Sci*. 2017;41:757-63. doi:<https://doi.org/10.3906/vet-1704-39>

Erdem F, Tuncer Ertem G, Oral B, Karakoç E, Demiröz AP, Tülek N. [Epidemiological and microbiological evaluation of nosocomial infections caused by *Candida* species]. *Mikrobiyol Bul*. 2012 Oct;46(4):637-48.

Ergon MC, Doluca Dereli M, Ener B, Atalay MA, Koç AN, Çerikçioğlu N, et al. Türkiye’de Altı Yıllık Zaman Dilimi İçerisinde Kan Kültürlerinden Soyutlanan Maya Mantarlarının Tür Dağılımı: Çok Merkezli Bir Çalışma. *Mikrobiyol Bul*. 2020 Oct 15;54(4):638-46. doi: <http://dx.doi.org/10.5578/mb.69837>

EUCAST Antifungal MIC Method for Yeasts. Method for the Determination of Broth Dilution Minimum Inhibitory Concentrations of Antifungal Agents for Yeasts. EUCAST Development Laboratory for Fungi; Copenhagen, Denmark: 2020. (E.DEF 7.3.2) Erişim Adresi: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_E.Def_7.4_Yeast_definitive_revised_2023.pdf.

Evren E, Göçmen Js, İstar Eh, Yavuzdemir Ş, Tekeli Fa, Yavuz Y, et al. Medically important *Candida* spp. identification: an era beyond traditional methods. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2022 Jan 1;52(3):834-40. doi: <https://doi.org/10.55730/1300-0144.5380>

- Fadilah F, Adawiyah R, Wahyuningsih R, Rozaliyani A, Fatril AE, Paramita RI, et al. Whole genome sequencing data of *Candida* krusei, the pathogen causing *Candidaemia*, from Department of Parasitology Culture Collection, Faculty of Medicine Universitas Indonesia. F1000Res. 2023 Mar 29;11:593-3. doi: <https://doi.org/10.12688/f1000research.121402.2>
- Fang W, Wu J, Cheng M, Zhu X, Du M, Chen C, et al. Diagnosis of invasive fungal infections: challenges and recent developments. J Biomed Sci. 2023 Jun 19;30(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00926-2>
- Farr A, Effendy I, Frey Tirri B, Hof H, Mayser P, Petricevic L, et al. Guideline: Vulvovaginal candidosis (AWMF 015/072, level S2k). Mycoses. 2021 Jun;64(6):583-602. doi: <https://doi.org/10.1111/myc.13248>
- Fatahinia M, Halvaeizadeh M, Zarei Mahmoudabadi A, AboualiGalehdari E, Kiasat N. In vitro antifungal susceptibilities of six antifungal drugs against clinical *Candida glabrata* isolates according to EUCAST. Curr Med Mycol. 2020 Jun;6(2):1-6. doi: <https://doi.org/10.18502/CMM.6.2.2692>
- Fisher MC, Alastruey-Izquierdo A, Berman J, Bicanic T, Bignell EM, Bowyer P, et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. Nat Rev Microbiol. 2022 Sep;20(9):557-71. doi: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00720-1>
- Fraga-Silva TFdC, Munhoz-Alves N, Mimura LAN, Oliveira LRCd, Figueiredo-Godoi LMA, Garcia MT, et al. Systemic Infection by Non-albicans *Candida* Species Affects the Development of a Murine Model of Multiple Sclerosis. JoF. 2022 Apr 10;8(4):386. doi: <https://doi.org/10.3390/jof8040386>
- Fraga-Silva TFdC, Munhoz-Alves N, Mimura LAN, Oliveira LRCd, Figueiredo-Godoi LMA, Garcia MT, et al. Systemic Infection by Non-albicans *Candida* Species Affects the Development of a Murine Model of Multiple Sclerosis. JoF. 2022 Apr 10;8(4):386. doi: <https://doi.org/10.3390/jof8040386>
- Gabaldón T, Fairhead C. Genomes shed light on the secret life of *Candida glabrata*: not so asexual, not so commensal. Curr Genet. 2019 Feb;65(1):93-8. doi: <https://doi.org/10.1007/s00294-018-0867-z>
- Garoussi MT, Sharifzadeh A, Khodabakhsh M, Malmasi AA. Isolation and investigation of external reproduction tract mycoflora in healthy male cats. Veterinary Medicine & Sci. 2024 Jan;10(1). doi: <https://doi.org/10.1002/vms3.1351>
- Gheorghe DC, Niculescu A, Bîrcă AC, Grumezescu AM. Biomaterials for the Prevention of Oral Candidiasis Development. Pharmaceutics. 2021 May 27;13(6):803. doi: <https://doi.org/10.3390%2Fpharmaceutics13060803>
- Gómez-Gaviria M, Mora-Montes HM. Current Aspects in the Biology, Pathogeny, and Treatment of *Candida* krusei, a Neglected Fungal Pathogen. Infection and Drug Resistance. 2020 Jun;Volume 13:1673–89. doi: <https://doi.org/10.2147/idr.s247944>
- Guarascio AJ, Bhanot N, Min Z. Voriconazole-associated periostitis: Pathophysiology, risk factors, clinical manifestations, diagnosis, and management. WJT. 2021 Sep 18;11(9):356-71. doi: <https://doi.org/10.5500/wjt.v11.i9.356>

Gulati M, Nobile CJ. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection*. 2016;18(5):310-2. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>

Hazirolan G, Saribaş Z, Arıkan Akdağlı S. Comparison of microdilution and disk diffusion methods for the detection of fluconazole and voriconazole susceptibility against clinical *Candida glabrata* isolates and determination of changing susceptibility with new CLSI breakpoints. *Mikrobiyol Bul*. 2016 Jul;50(3):428-37. doi: <https://doi.org/10.5578/mb.26544>

Hohmann FB, Chaves RCdF, Olivato GB, Souza GMd, Galindo VB, Silva Jr M, et al. Characteristics, risk factors, and outcomes of bloodstream *Candida* infections in the intensive care unit: a retrospective cohort study. *J Int Med Res*. 2023 Jan;51(1):030006052211311. doi: <https://doi.org/10.1177/03000605221131122>

Janowski M, Demchuk OM, Wujec M. Fluconazole Analogs and Derivatives: An Overview of Synthesis, Chemical Transformations, and Biological Activity. *Molecules*. 2024 Jun 15;29(12):2855. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules29122855>

Jeffery-Smith A, Taori SK, Schelenz S, Jeffery K, Johnson EM, Borman A, et al. *Candida auris*: a Review of the Literature. *Clin Microbiol Rev*. 2018 Jan;31(1). doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.00029-17>

Jing D, Liang G, Li X, Liu W. Progress in molecular diagnosis and treatment of chronic mucocutaneous candidiasis. *Front Immunol*. 2024 Jan 24;15. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1343138>

Jyothi L, Reddy NP, Naaz S. An Unusual Case of *Candida kefyr* Fungemia in an Immunocompromised Patient. *Cureus*. 2021 Mar 27. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.14138>

Takehi A, Hagiya H, Iio K, Nakano Y, Ihoriya H, Taira Y, et al. *Candida dubliniensis* fungemia in a patient with severe COVID-19: A case report. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2022 Oct;28(10):1433-5. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2022.07.007>

Kal Çakmaklıoğulları E, Aşgın N, Değerli K. *Candida* Tür Tayininde Rutinde Yaygın Olarak Kullanılan Yöntemlerle Yeni Kullanılmaya Başlayan MALDI TOF-MS ve Moleküler Yöntemlerin Sonuç Verme Süreleri, Maliyetleri ve Güvenilirliklerinin Karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2019 Apr 15;53(2):204-12. doi: <https://doi.org/10.5578/mb.67952>

Karakoc ZC. Epidemiology of Invasive Fungal Infections. *Klinik Dergisi*. 2020 Jan 9;32(Sup2):118-23. Doi: <https://doi.org/10.5152/kd.2019.53>

Khaba MC, Ngale TC, Makhado NA. Fungal infection of the central nervous system: Autopsy analysis of six cases. *SAGE Open Medical Case Reports*. 2022 Jan; 10:2050313X2211224. doi: <https://doi.org/10.1177/2050313X221122419>

Khan Z, Ahmad S, Al-Sweih N, Khan S, Joseph L. *Candida lusitanae* in Kuwait: Prevalence, antifungal susceptibility and role in neonatal fungemia. *PLoS ONE*. 2019 Mar 7;14(3): e0213532. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213532>

Kınıklı S, Kaya Kılıç E, Arslan K, Cesur S, Ataman Hatipoğlu Ç, Yağcı S, et al. *Candida* suşlarının tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyerinin performansının değerlendirilmesi. *Journal of Health Sciences and Medicine*. 2018 Sep 30;1(3):50-3. doi: <https://doi.org/10.32322/jhsm.440907>

- Kiraz N, Dag I, Oz Y, Yamac M, Kiremitci A, Kasifoglu N. Correlation between broth microdilution and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of caspofungin, voriconazole, amphotericin B, itraconazole and fluconazole against *Candida glabrata*. *Journal of Microbiological Methods*. 2010 Aug;82(2):136-40. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.05.002>
- KonjeET, Kizenga O, Charco NJ, Kibwana UO, Shango N, Tarimo F, et al. Five-year cross-sectional study to determine the burden of *Candida*spp. infections of the urinary tract system among patients attending tertiary hospital in Northwestern Tanzania. *BMJ Open*. 2023 Dec;13(12):e074833. doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2023-074833>
- Konje ET, Kizenga O, Charco NJ, Kibwana UO, Shango N, Tarimo F, et al. Five-year cross-sectional study to determine the burden of *Candida*spp. infections of the urinary tract system among patients attending tertiary hospital in Northwestern Tanzania. *BMJ Open*. 2023 Dec;13(12):e074833. doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2023-074833>
- Korkmaz P, Mistanoglu Ozatag D, Yalin Ş, Gulcan A, Aslan H. Evaluation of epidemiological features, risk factors and clinical course in candidemia. *Turk Hij Den Biyol Derg*. 2021;78(4):517-24. doi:<http://dx.doi.org/10.5505/TurkHijyen.2021.05926>
- Kornitzer D. Regulation of *Candida albicans* Hyphal Morphogenesis by Endogenous Signals. *JoF*. 2019 Feb 28;5(1):21. doi: <https://doi.org/10.3390/jof5010021>
- Kumar S, Kumar A, Roudbary M, Mohammadi R, Černáková L, Rodrigues CF. Overview on the Infections Related to Rare *Candida* Species. *Pathogens*. 2022 Aug 24;11(9):963. doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens11090963>
- Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and Beyond. *Chem Rev*. 2021 Mar 24;121(6):3390-411. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00199>. Epub 2020 May 22
- Leung AK, Barankin B, Lam JM, Leong KF, Hon KL. Tinea versicolor: an updated review. *DIC*. 2022 Nov 14; 11:1-20. doi: <https://doi.org/10.7573/dic.2022-9-2>
- Li G, Li Q, Zhang C, Yu Q, Li Q, Zhou X, et al. The impact of gene polymorphism and hepatic insufficiency on voriconazole dose adjustment in invasive fungal infection individuals. *Front Genet*. 2023 Aug 24;14:doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1242711>
- Li Y, Gu C, Yang Y, Ding Y, Ye C, Tang M, et al. Epidemiology, antifungal susceptibility, risk factors, and mortality of persistent candidemia in adult patients in China: a 6-year multicenter retrospective study. *BMC Infect Dis*. 2023 Jun 1;23(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08241-9>
- Lima R, Ribeiro FC, Colombo AL, de Almeida JN. The emerging threat antifungal-resistant *Candida tropicalis* in humans, animals, and environment. *Front Fungal Biol*. 2022 Aug 15;3. doi: <https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.957021>
- Logan A, Wolfe A, Williamson JC. Antifungal Resistance and the Role of New Therapeutic Agents. *Curr Infect Dis Rep*. 2022 Sep;24(9):105-16. doi: <https://doi.org/10.1007/s11908-022-00782-5> Epub 2022 Jul 5
- Lorenz A. *Candida auris*. *Methods in molecular biology*. Springer Science+Business Media; 2022

Lorenzo-Villegas DL, Gohil NV, Lamo P, Gurajala S, Bagiu IC, Vulcanescu DD, et al. Innovative Biosensing Approaches for Swift Identification of *Candida* Species, Intrusive Pathogenic Organisms. Life. 2023 Oct 22;13(10):2099. doi: <https://doi.org/10.3390/life13102099>

Jain N, Mathur P, Misra MC, Behera B, Xess I, Sharma SP. Rapid Identification of Yeast Isolates from Clinical Specimens in Critically Ill Trauma ICU Patients. J Lab Physicians. 2012 Jan;4(01):030-4.doi: 10.4103/0974-2727.98667.

M. El-Ganiny A, E. Yossef N, A. Kamel H. Prevalence and antifungal drug resistance of nosocomial *Candida* species isolated from two university hospitals in Egypt. CMM. 2021 May 16. doi:<https://doi.org/10.18502/cmm.7.1.6181>

Marucco AP, Minervini P, Snitman GV, Sorge A, Guelfand LI, Moral LL. Comparison of the identification results of *Candida* species obtained by BD Phoenix™ and Maldi-TOF (Bruker Microflex LT Biotyper 3.1). Revista Argentina de Microbiología. 2018 Oct;50(4):337-40. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.003>

Mattei AS, Alves SH, Severo CB, Guazzelli LdS, Oliveira FdM, Severo LC. Use Of Mueller-Hinton Broth And Agar In The Germ Tubgradient test. Rev Inst Med trop S Paulo. 2014 Dec;56(6):483-5. doi: <https://doi.org/10.1590/s0036-46652014000600005>

Mba IE, Nweze EI. Mechanism of *Candida* pathogenesis: revisiting the vital drivers. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020 Oct;39(10):1797-819. doi: <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03912-w>

McCullough M, Ross B, Reade P. *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 1996 Apr;25(2):136-44. doi: [https://doi.org/10.1016/s0901-5027\(96\)80060-9](https://doi.org/10.1016/s0901-5027(96)80060-9)

Meena S, Mohanty A, Kaistha N, Sasirekha U, Meena J. Comparative Assessment of Matrix-assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS) and Conventional Methods in the Identification of Clinically Relevant Yeasts. Cureus. 2021 Jun 11. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.15607>

Mendoza-Reyes DF, Gómez-Gaviria M, Mora-Montes HM. *Candida lusitanae*: Biology, Pathogenicity, Virulence Factors, Diagnosis, and Treatment. IDR. 2022 Aug;Volume 15:5121-35. doi: <https://doi.org/10.2147/idr.s383785>

Mirhendi H, Charsizadeh A, Eshaghi H, Nikmanesh B, Arendrup MC. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* isolates from blood and other normally sterile foci from pediatric ICU patients in Tehran, Iran. Medical Mycology. 2020 Feb 1;58(2):201-206. doi: <https://doi.org/10.1093/mmy/myz047>.

Mohamed AA, Lu X, Mounmin FA. Diagnosis and Treatment of Esophageal Candidiasis: Current Updates. Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2019 Oct 20; 2019:1-6. doi: <https://doi.org/10.1155/2019/3585136>

Monsen RE, Kristoffersen AK, Gay CL, Herlofson BB, Fjeld KG, Hove LH, Nordgarden H, Tollisen A, Lerdal A, Enersen M. Identification and susceptibility testing of oral candidiasis in advanced cancer patients. BMC Oral Health. 2023 Apr 18;23(1):223. doi: <https://doi.org/10.1186/s12903-023-02950-y>

Murray PR, Pfaller MA, Landry ML, Jorgensen JH, Baron EJ. Klinik Mikrobiyoloji. Atlas Kitapçılık; 2009

Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. Annu Rev Microbiol. 2015 15;69(1):71-92. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>

Odabasi Z, Mert A. *Candida* urinary tract infections in adults. World J Urol. 2020 Nov;38(11):2699-707. doi: <https://doi.org/10.1007/s00345-019-02991-5>

Olum R, Baluku JB, Okidi R, Andia-Biraro I, Bongomin F. Prevalence of HIV-associated esophageal candidiasis in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. Trop Med Health. 2020 Dec;48(1)

Orasch C, Marchetti O, Garbino J, Schrenzel J, Zimmerli S, Mühlethaler K, et al. *Candida* species distribution and antifungal susceptibility testing according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and new vs. old Clinical and Laboratory Standards Institute clinical breakpoints: a 6-year prospective *Candidaemia* survey from the fungal infection network of Switzerland. Clinical Microbiology and Infection. 2014 Jul;20(7):698-705. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24188136/>

Otağ F, Aslan G, Şen S, Emekdaş G. Use of CHROMagar *Candida* for rapid identification of *Candida* species isolated from bloodstream infections. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2006;36(4):204–200. Erişim Adresi: https://tmc.dergisi.org/pdf/pdf_TMC_29.pdf

Ozcan SK, Mutlu B, Dünder D, Willke A. Comparison of broth microdilution and E-test methods for the antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. strains isolated from blood cultures. Mikrobiyol Bul. 2010 Apr;44(2):263-71. Erişim adresi : https://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu_folder/2010-02/2010-44-02-263-271.pdf

Ozlem A, Alev HU. Investigation of the susceptibility of *Candida* species isolated from denture wearers to different antifungal antibiotics. Afr J Microbiol Res. 2011 Jun 18;5(12):1398-403. doi:<https://doi.org/10.5897/AJMR10.693>

Pallotta F, Viale P, Barchiesi F. *Candida auris*: the new fungal threat. Infez Med. 2023;31(3):323-8. doi: <https://doi.org/10.53854/liim-3103-6>

Peña DER, Innocentini LMAR, Saraiva MCP, Lourenço AG, Motta ACF. Oral candidiasis prevalence in human immunodeficiency virus-1 and pulmonary tuberculosis coinfection: A systematic review and meta-analysis. Microbial Pathogenesis. 2021 Jan; 150:104720. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104720>

Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. Clin Microbiol Rev. 2007 Jan;20(1):133-63. doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.00029-06>

Pote ST, Sonawane MS, Rahi P, Shah SR, Shouche YS, Patole MS, Thakar MR, Sharma R. Distribution of Pathogenic Yeasts in Different Clinical Samples: Their Identification, Antifungal Susceptibility Pattern, and Cell Invasion Assays. Infect Drug Resist. 2020 Apr 20;13:1133-1145. doi: <https://doi.org/10.2147/idr.s238002>

Pristov K, Ghannoum M. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. Clinical Microbiology and Infection. 2019 Jul;25(7):792-8. Doittps://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028

Procop G, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. Koneman's Color Atlas And Textbook of Diagnostic Microbiology Türkçe Baskısı. Ankara: Hipokrat Yayınevi; 2017

Procop GW, Koneman EW, Winn WC. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2017

Raja A, Park J. Disseminated *Candida lusitanae*: Nosocomial Acquisition Secondary to an Indwelling Urinary Catheter. Case Reports in Infectious Diseases. 2021 Jun 17;2021:1-3. doi: <https://doi.org/10.1155/2021/6632730>

Rakhshan A, Rahmati Kamel B, Saffaei A, Tavakoli-Ardakani M. Hepatotoxicity Induced by Azole Antifungal Agents: A Review Study. Iran J Pharm Res. 2023 Apr 9;22(1). doi: <https://doi.org/10.5812/ijpr-130336>

Ramos-Pardo A, Castro-Álvarez R, Quindós G, Eraso E, Sevillano E, Kaberdin VR. Assessing pH-dependent activities of virulence factors secreted by *Candida albicans*. MicrobiologyOpen. 2023 Feb;12(1) doi: <https://doi.org/10.1002/mbo3.1342>

Reda NM, Hassan RM, Salem ST, Yousef RHA. Prevalence and species distribution of *Candida* bloodstream infection in children and adults in two teaching university hospitals in Egypt: first report of *Candida kefyr*. Infection. 2022 Aug 26. doi: <https://doi.org/10.1007/s15010-022-01888-7>

Riera FO, Caeiro JP, Angiolini SC, Vigezzi C, Rodriguez E, Icely PA, et al. Invasive Candidiasis: Update and Current Challenges in the Management of This Mycosis in South America. Antibiotics. 2022 Jun 30;11(7):877. doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070877>

Sachivkina N, Lenchenko E, Blumenkrants D, Ibragimova A, Bazarkina O. Effects of farnesol and lyticase on the formation of *Candida albicans* biofilm. Vet World. 2020;13(6):1030-6. doi: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1030-1036>

Sahand IH, Moragues MD, Eraso E, Villar-Vidal M, Quindós G, Pontón J. Supplementation of CHROMagar Candida Medium with Pal's Medium for Rapid Identification of *Candida dubliniensis*. J Clin Microbiol. 2005 Nov;43(11):5768-70. DOI: [10.1128/JCM.43.11.5768-5770.2005](https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5768-5770.2005)

Sahiner F, Ergünay K, Ozyurt M, Ardiç N, Hoşbul T, Haznedaroğlu T. [Phenotypic and genotypic identification of *Candida* strains isolated as nosocomial pathogens]. Mikrobiyol Bul. 2011 Jul;45(3):478-88. Erişim Adresi: https://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu_folder/2011-03/html/2011-45-03-478-488.htm

Satora M, Grunwald A, Zaremba B, Frankowska K, Żak K, Tarkowski R, et al. Treatment of Vulvovaginal Candidiasis—An Overview of Guidelines and the Latest Treatment Methods. JCM. 2023 Aug 18;12(16):5376. doi: <https://doi.org/10.3390/jcm12165376>

Sewell DL, Pfaller MA, Barry AL. Comparison of broth macrodilution, broth microdilution, and Gradient test antifungal susceptibility tests for fluconazole. J Clin Microbiol. 1994 Sep;32(9):2099-102. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.32.9.2099-2102.1994>

Seyedmousavı1,2,3 S, İlkit M, Durdu M, Ergin Ç, Hilmioğlu-Polat S, Melchers W, et al. *Candida* ve Kandidoz: Epidemiyoloji, Tanı, Tedavi, Antifungal İlaç Direnci ve Konağın

Genetik Yatkınlığında Güncel Durum. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2015. doi: <https://dx.doi.org/10.5222/TMCD.2015.001>

Shamriz O, Tal Y, Talmon A, Nahum A. Chronic Mucocutaneous Candidiasis in Early Life: Insights Into Immune Mechanisms and Novel Targeted Therapies. *Front Immunol.* 2020 Oct 16;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.593289>

Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews.* 2012 Mar;36(2):288–305. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>

Song Y, Chen X, Yan Y, Wan Z, Liu W, Li R. Prevalence and Antifungal Susceptibility of Pathogenic Yeasts in China: A 10-Year Retrospective Study in a Teaching Hospital. *Front Microbiol.* 2020 Jul 3;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01401>

Soriano A, Honore PM, Puerta-Alcalde P, Garcia-Vidal C, Pagotto A, Gonçalves-Bradley DC, et al. Invasive candidiasis: current clinical challenges and unmet needs in adult populations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2023 Jul 5;78(7):1569–85. doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dkad139>

Sriphannam C, Nuanmuang N, Saengsawang K, Amornthipayawong D, Kummasook A. Anti-fungal susceptibility and virulence factors of *Candida* spp. isolated from blood cultures. *Journal de Mycologie Médicale.* 2019 Dec;29(4):325–30. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.08.001>

Susever S. The identification of *Candida* species isolated from clinical specimens of immunocompromised patients with PCR and determination of antifungal resistance genes with RFLP and sequencing analysis. *Dicle Med J.* 2012 Jun 10;39(2):242–50. doi: <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2012.02.0135>

Szymański M, Chmielewska S, Czyżewska U, Malinowska M, Tylicki A. Echinocandins – structure, mechanism of action and use in antifungal therapy. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* 2022 Dec 31;37(1):876–94. doi: <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2050224>

Tahir M, Peseski AM, Jordan SJ. Case Report: *Candida dubliniensis* as a Cause of Chronic Meningitis. *Front Neurol.* 2020 Dec 8;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.601242>

Taira CL, Okay TS, Delgado AF, Ceccon MEJR, de Almeida MTG, Del Negro GMB. A multiplex nested PCR for the detection and identification of *Candida* species in blood samples of critically ill paediatric patients. *BMC Infect Dis.* 2014 Dec;14(1). doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-406>

Takashima M, Sugita T. Taxonomy of Pathogenic Yeasts *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, and *Trichosporon*. *Medical mycology journal.* 2022. doi: <https://doi.org/10.3314/mmj.22.004>

Takashima M, Sugita T. Taxonomy of Pathogenic Yeasts *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, and *Trichosporon*. *Medical mycology journal.* 2022. doi: <https://doi.org/10.3314/mmj.22.004>

Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, et al. *Candida albicans*—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *JoF.* 2021 Jan 22;7(2):79. doi: <https://doi.org/10.3390/jof7020079>

Toprak Nü, Erdoğan S, Çelik C, Johansson C. Kandidemi Olgularında Etken Mayaların Hızlı Tanısında CHROMagar *Candida*'nın Yeri [Internet]. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2003. Erişim Adresi: https://tmc.dergisi.org/pdf/pdf_TMC_265.pdf

Tortorano AM, Prigitano A, Morroni G, Brescini L, Barchiesi F. Candidemia: Evolution of Drug Resistance and Novel Therapeutic Approaches. IDR. 2021 Dec;Volume 14:5543-53. doi: <https://doi.org/10.2147/idr.s274872>

Urinary Catheter Raja A, Park J. Disseminated *Candida lusitanae*: Nosocomial Acquisition Secondary to an Indwelling Urinary Catheter. Case Reports in Infectious Diseases. 2021 Jun 17; 2021:1-3. doi: <https://doi.org/10.1155/2021/6632730>

Us Ad. Temel İmmünoloji ve Seroloji. Ankara: Hipokrat Kitabevi; 2016

Van Eldere J, Joosten L, Verhaeghe V, Surmont I. Fluconazole and amphotericin B antifungal susceptibility testing by National Committee for Clinical Laboratory Standards broth microdilution method compared with E-test and semiautomated broth microdilution test. J Clin Microbiol. 1996 Apr;34(4):842-7. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.34.4.842-847.1996>

Van Haren MHI, de Groot T, Spruijtenburg B, Jain K, Chowdhary A, Meis JF. Development of a Multiplex PCR Short Tandem Repeat Typing Scheme for *Candida krusei*. J Clin Microbiol. 2022 Jan 19;60(1). doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.02032-21>

Vila T, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk MA. Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. JoF. 2020 Jan 16;6(1):15. doi: <https://doi.org/10.3390/jof6010015>

Walsh TJ, Hayden RT, Larone DH. Larone'un Tıbbi Önemi Olan Mantarlar. Ankara: Hipokrat Yayınevi; 2020

Wang B, He X, Lu F, Li Y, Wang Y, Zhang M, et al. *Candida* Isolates From Blood and Other Normally Sterile Foci From ICU Patients: Determination of Epidemiology, Antifungal Susceptibility Profile and Evaluation of Associated Risk Factors. Front Public Health. 2021 Nov 11;9. doi: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.779590>

Willems HME, Ahmed SS, Liu J, Xu Z, Peters BM. Vulvovaginal Candidiasis: A Current Understanding and Burning Questions. JoF. 2020 Feb 25;6(1):27. doi: <https://doi.org/10.3390/jof6010027>

Xu J. Is Natural Population of *Candida tropicalis* Sexual, Parasexual, and/or Asexual?. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Oct 25;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.751676>

Yılmaz Karadağ F, Ergen P, Aydın Ö, Doğru A, Tanıdır B, Vahaboğlu Mh. Evaluation of epidemiological characteristics and risk factors affecting mortality in patients with candidemia. Turk J Med Sci. 2016; 46:1724-8. doi: <https://doi.org/10.3906/sag-1505-70>

Yücel A, Kantarcıoğlu As. *Candida Albicans*'ın Taksonomisindeki Önemli Bazı Değişiklikler. Cerrahpaşa Tıp Dergisi. 2014;30(3). Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/iucerrahpasa/issue/675/6772>

Yücesoy M, Marol S. Performance of CHROMAGAR *Candida* and BIGGY agar for identification of yeast species. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2003 Oct 29;2(1). doi: <https://doi.org/10.1186/1476-0711-2-8>

Zeng Z, Ding Y, Tian G, Yang K, Deng J, Li G, et al. A seven-year surveillance study of the epidemiology, antifungal susceptibility, risk factors and mortality of *Candidaemia* among paediatric and adult inpatients in a tertiary teaching hospital in China. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2020;9(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00798-3>

Zhang W, Song X, Wu H, Zheng R. Epidemiology, risk factors and outcomes of *Candida albicans* vs. non-*albicans Candidaemia* in adult patients in Northeast China. *Epidemiol Infect*. 2019;147. doi: <https://doi.org/10.1017/s0950268819001638>

Zuza-Alves DL, Silva-Rocha WP, Chaves GM. An Update on *Candida tropicalis* Based on Basic and Clinical Approaches. *Front Microbiol*. 2017 Oct 13;8. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01927>



8. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Diyarbakır/ Bismil’de doğdu. İlk ve ortaokul eğitimini Bismil’de tamamladı. Liseyi Diyarbakır Cumhuriyet Fen Lisesi’nde okudu. 2009-2015 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde tıp eğitimini tamamladı. 2015-2018 yılları arasında Van Edremit Toplum Sağlığı Merkezi’nde pratisyen hekim olarak görev yaptı. 2018-2020 yılları arasında Van Ferit Melen Havalimanı’nda Hudut Sahiller ve Sağlık Genel Müdürlüğüne bağlı olarak pratisyen hekimlik yaptı. 2020 ilkbahar döneminde yapılan Tıpta Uzmanlık Sınavı’nda Van Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji bölümünü kazandı ve Haziran 2020’de araştırma görevlisi doktor olarak çalışmaya başladı. Halen bu bölümde uzmanlık eğitimine devam etmektedir. Evli ve bir çocuk annesidir.

9.2. Orjinallik Raporu

KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDİDALARIN TANIMLANMASI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARIN BELİRLENMESİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIGINALITY REPORT

13%	8%	11%	4%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Jawaharlal Nehru University (JNU) Student Paper	1%
2	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	1%
3	Korkmaz, Emine. "Sistemik klinik örneklerden üretilen Aspergillus türlerinin antifungal duyarlılıklarının farklı yöntemlerle araştırılması", Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey), 2024 Publication	1%
4	www.mdpi.com Internet Source	1%
5	dspace.gazi.edu.tr Internet Source	<1%
6	X. Zeng, F. Kong, C. Halliday, S. Chen, A. Lau, G. Playford, T. C. Sorrell. "Reverse Line Blot Hybridization Assay for Identification of	<1%