

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN *CANDIDA*
TÜRLERİNDE BİYOFİLM OLUŞUMU VE BAZI
ANTİFUNGALLERE DUYARLILIKLARININ İNCELENMESİ**

DİDEM ÖZPERÇİN

**DANIŞMAN
PROF. DR. YILDIZ YEĞENOĞLU**

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2011

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Didem Özperçin tarafından hazırlanan "Klinik Örneklerden Soyutlanan Candıa Türlerinde Biyofilm Oluşumu ve Bazı Antifungallere Duyarlılıkların İncelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

05 / 08 / 2011

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof Dr Bülent Gürler	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
2.Prof Dr Yıldız Yeğenoğlu (Danışmanı)	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
3.Prof Dr Gülten Ötük	Eczacılık Fak. Farmosötik Mikrobiyoloji A.D
4.Prof Dr Meltem Uzun	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
5.Prof Dr Zayre Erturan	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.

BEYAN

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

"Didem Özperçin"



İTHAF

Aileme, yeğenlerim olan Aras ve Arda
Atlı'ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Varlığıyla bana güven veren, hiçbir konuda yardımını esirgemeyen, bilgilerinden yararlanma imkanı bulduğum ve her seferinde danışmanım olduğu için minnettar olacağım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu'na,

Eğitimim boyunca engin bilgilerinden yararlandığım Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Bülent Gürler'e ve değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Emel Bozkaya, Sayın Prof. Dr. Selim Badur, Sayın Prof. Dr. Şengül Derbentli, Sayın Prof. Dr. Nezahat Gürler, Sayın Prof. Dr. O. Şadi Yenen, Sayın Prof. Dr. Ali Ağaçfıdan, Sayın Prof. Dr. Çiğdem Kayacan, Sayın Prof. Dr. Betigül Öngen, Sayın Prof. Dr. M. Derya Aydın, Sayın Prof. Dr. Y. Ali Öner, Sayın Prof. Dr. Meltem Uzun, Sayın Prof. Dr. Zayre Erturan, Sayın Doç. Dr. Özden Büyükbaba Boral ve Sayın Doç. Dr. Zerrin Aktaş'a,

En sıkışık anlarında bile bana vakit ayırıp, yardımlarını esirgemeyen Dr. Dilek Şatana ve Dr. Serdar Susever'e,

Mikoloji Bilim Dalı aile üyeleri Dr. Gonca Erköse Genç, Lab. Sercan Aslan, Bio. Bahriye Ören, Muazzez Uyar ve diğer çalışma arkadaşlarıma,

Özellikle son aylarda yediğimiz içtiğimiz ayrı gitmeyen, deneylerime yardım eden, her türlü sevincimi, üzüntümü paylaştığım, sıkıntıları beraber göğüslediğim arkadaşım MSc. Emel Erdoğan Yıldırım'a,

Aynı dönemin çoğunlukla sıkıntılarını paylaştığım, hep desteklerini hissettiğim dönem arkadaşlarım MSc. Aysun Özşen Sağlam ve MSc. Başak Er'e,

Her türlü kahrımızı çeken, eksiğimiz varsa tamamlayan, bilgileriyle destek olan laboratuvarlarının kapısını sonuna kadar açan Bio. Öner Kipritçi, Bio. Kenan Akbulut, MSc. Kutay Sarsar ve karşı komşumuz MSc. Mehmet İlkaç'a,

Devamlı yollarını aşındırdığımız, her gittiğimizde de işlerinin başından aşkın olmasına rağmen yardımlarıyla destek olan besiyeri laboratuvarımızın emektarları Mukaddes Ünsal, Sevgi Gültekin Dağdemir'e,

Aynı çatı altında bulunduğumuz, beraber vakit geçirdiğimiz tüm doktora ve yüksek lisans öğrencilerine,

Kadim dostum, sırdaşım, kardeşim, her şeyim, literatüre girmiş arkadaşım Merve Baymak ve beni koşulsuz aralarına kabul eden Baymak ailesine,

Son zamanlarda benimle birlikte tezimin sıkıntısını paylaşan, bir kopyasını bana yedirtceklerinden emin olduğum canlarım, Merve Öncel, Ecem Cömert, Özge Aksoy, Miray Akın, Batuhan Çor, Ali Gökhan Yazıcı, Recep Fatih Yağız ve Samet Akkaya'ya,

Hayatımda bulunduğum noktaya gelirken desteklerini hiç üstümden eksik etmeyen babam Sefa Özperçin, annem Saadet Özperçin, ablam Sinem Özperçin ve hiçbir şeyden haberleri olmadığı halde hayatıma renk katan yeğenlerim Ethem Aras Atlı ve Sefa Arda Atlı'ya teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 13483

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET.....	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe	4
2.2. <i>Candida</i> Türlerinin Genel Özellikleri.....	5
2.2.1. <i>Candida</i> Türlerinin Sınıflandırılması.....	5
2.2.2. <i>Candida</i> Türlerinin Morfolojisi ve Boyanma Özellikleri.....	5
2.2.3. <i>Candida</i> Türlerinde Üreme ve Biyokimyasal Özellikler	7
2.3. <i>Candida</i> ’ların Hücre İnce Yapısı.....	10
2.3.1. Hücre İskeleti.....	10
2.3.2. Hücre Membranı	10
2.3.3. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı	11
2.4. <i>Candida</i> ’ların Virülans Faktörleri	12
2.4.1. Konak Hücre Yüzeyine Tutunma	12
2.4.2. Maya-Hif Dimorfizmi	13
2.4.3. Fenotipik Değişim.....	13
2.4.4. Salgısal Aspartil Proteinazlar	14
2.4.5. Fosfolipazlar	14
2.4.6. Biyofilm Oluşumu.....	14
2.5. <i>Candida</i> İnfeksiyonları	18
2.5.1. Yüzeyel <i>Candida</i> İnfeksiyonları.....	18

2.5.2. İnvazif <i>Candida</i> İnfeksiyonları.....	21
2.6. Tıbbi Önemi Olan Bazı <i>Candida</i> Türleri	25
2.7. Epidemiyoloji	27
2.8. Laboratuvar Tanısı.....	29
2.8.1. Doğrudan Mikroskopi	30
2.8.2. İzolasyon Yöntemleri	30
2.8.3. İdentifikasyon Yöntemleri.....	31
2.8.4. Serolojik Yöntemler	33
2.8.5. Moleküler Yöntemler	34
2.8.6. Metabolitlerin Taranması	35
2.9. Tedavide Kullanılan Antifungaller	35
2.9.1. Grizeofulvin	36
2.9.2. Polyen Grubu Antifungaller	36
2.9.2.1. Amfoterisin-B (Amp-B)	36
2.9.2.2. Nistatin.....	36
2.9.2.3. Lipozomal Nistatin.....	36
2.9.3. Primidin Sentezi İnhibitörleri	37
2.9.3.1. 5-Fluorositozin	37
2.9.4. Azoller	37
2.9.4.1. İmidazoller	37
2.9.4.2. Triazoller.....	38
2.9.5. Alilaminler.....	39
2.9.5.1. Terbinafin.....	39
2.9.6. Ekinokandinler	39
2.10. Antifungal Duyarlılık Testleri	39
2.10.1. Antifungal Duyarlılık Test Yöntemleri	40
2.10.1.1. Dilüsyon Temeline Dayalı Yöntemler.....	40
2.10.1.2. Difüzyon Temeline Dayalı Yöntemler	41
2.10.1.3. Akımsitometri (Flowcytometry) Temeline Dayanan Yöntemler	42
2.10.1.4. Spektrofotometrik Yöntemler	42
2.10.1.5. Kolorimetrik Yöntemler	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
3.1. Örneklerin Seçimi	43

3.2. İdentifiye Edilmiş Suşların Kontrolü	43
3.3. Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi.....	43
3.3.1. Modifiye Tüp Adherans Testi.....	43
3.3.1.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları	43
3.3.1.2. Deneyin Yapılışı.....	44
3.3.2. Modifiye Mikroplak Testi	45
3.3.2.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları	45
3.3.2.2. Deneyin Yapılışı.....	46
3.3.3. Kongo Kırmızılı Beyin Kalp İnfüzyon Agar Testi	47
3.3.3.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları	47
3.3.3.2. Deneyin Yapılışı.....	47
3.4. Antifungal Duyarlılık Testi.....	48
3.4.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları	48
3.4.2. Deneyin Yapılışı	48
3.4.2.1. Test ve kontrol kültürleri ile inokulum hazırlanması	48
3.4.2.2. İnokülasyon.....	48
4. BULGULAR.....	51
4.1. Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Candida</i> Türleri.....	51
4.2. Biyofilm Oluşumunun Sonuçları.....	53
4.2.1. Modifiye Tüp Adherans Testinin Sonuçları	53
4.2.2. Modifiye Mikroplak Testinin Sonuçları.....	54
4.2.3. Kongo Kırmızılı Beyin Kalp İnfüzyon Agar Testinin Sonuçları.....	55
4.2.4. Antifungal Duyarlılık Deneyi (CLSI M 44-A2) Sonuçları	56
5. TARTIŞMA	64
KAYNAKLAR	73
ETİK KURUL KARARI	83
ÖZGEÇMİŞ	85

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>Candida cinsi</i> 'nden mayaların biyokimyasal özellikleri (2)	9
Tablo 3-1: <i>Candida</i> türleri için zon çapı yorumlama standartları (79).	49
Tablo 4-1: <i>Candida</i> 'ların tür dağılımı.....	51
Tablo 4-2: <i>Candida</i> türlerinin izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımı.....	52
Tablo 4-3: Modifiye Tüp Adherans Testi uygulanan <i>Candida</i> türlerinde biyofilm oluşumu. (+,++,+++).	53
Tablo 4-4:Modifiye Mikroplak Testi uygulanan <i>Candida</i> türlerinde biyofilm oluşumu (+,++,+++).	54
Tablo 4-5: Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi uygulanan <i>Candida</i> türlerinde biyofilm oluşumu.	55
Tablo 4-6: <i>Candida</i> türlerinin CLSI M 44-A2 disk difüzyon yöntemi ile antifungal duyarlılık sonuçları.....	56
Tablo 4-7: Modifiye tüp adherans testi, modifiye mikroplak testi, kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon testi, flukonazol ve vorikonazol duyarlılıkları sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi.	59

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: <i>Candida</i> 'ların morfolojisi (20).....	6
Şekil 2-2: <i>Candida</i> 'ların hif yapısı (21).....	7
Şekil 2-3: SDA besiyerinde <i>C. albicans</i> kolonileri (22).....	8
Şekil 2-4: MUJ besiyerinde <i>C. albicans</i> klamidosporeleri (X400) (23).....	8
Şekil 2-5: <i>Candida</i> hücrelerinin ince yapısı (27).....	12
Şekil 2-6: Biyofilm oluşumunun evreleri (37).....	16
Şekil 2-7: <i>Candida</i> 'larda biyofilm oluşumu (40).	16
Şekil 2-8: A: 0. saat, B: 30. dakika, C: 2. saat (yeşil: planktonik hücreler, kırmızı: monositler). D:2. saat, E:22. saat (monositler yoğun biyofilm altında sıkışmış) (41). ...	18
Şekil 2-9: Biyokimyasal identifikasyonda kullanılan API 20C Aux (BioMérieux,France) (56).	32
Şekil 2-10: Koloni rengine göre tanımlama temeline dayalı kromojenik besiyerlerinde <i>Candida</i> türlerinin görünümü (57).	32
Şekil 3-1: Modifiye tüp adherans yöntemi ile biyofilm oluşumu	45
Şekil 3-2: Mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşumu.....	46
Şekil 3-3: Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar besiyerinde biyofilm pozitif ve negatif kolonilerin görünümü. Pembe- kırmızı: Pozitif Renksiz-beyazımsı: Negatif.....	47
Şekil 3-4: CLSI M 44-A2 Disk difüzyon yöntemi ile Flukonazol, Vorikonazol ve Amfoterisin B duyarlılıkları-1 (AmB: Amfoterisin B, Flu: Flukonazol, Vor: Vorikonazol).	49
Şekil 3-5: CLSI M 44-A2 Disk difüzyon yöntemi ile Flukonazol, Vorikonazol ve Amfoterisin B duyarlılıkları-2 (AmB: Amfoterisin B, Flu: Flukonazol, Vor: Vorikonazol).	50

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AIDS: Acquired Immunodeficiency Syndrome (Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu)

BKIB: Beyin Kalp İnfüzyon Buyyonu

BOS: Beyin omurilik sıvısı

CFU: Colony forming unit (koloni oluşturan birim)

CMV: Cytomegalovirus

DNA: Deoksiribonükleik asit

EIA: Enzim immuno assay

HE: Haematoxylin-eosin

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HSV: Herpes Simplex Virüs

ID: İmmüdifüzyon

KKBKIA:Kongo Kırmızılı Beyin Kalp İnfüzyon Agar

KMK: Kronik Mukokutanöz Kandidoz

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

MUJ: Mısır unlu jeloz

OD: Optik Yoğunluk

PAS: Periodic acid-schiff

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RIA: Radio Immuno Assay

SDA: Sabouraud Dekstroz Agar

SDB: Sabouraud Dekstroz Buyyon

YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

Özperçin, D. Klinik Örneklerden Soyutlanan *Candida* Türlerinde Biyofilm Oluşumu ve Bazı Antifungallere Duyarlılıklarının İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul, 2011

Candida'lar doğada yaygın olarak bulunur ve sağlıklı kişilerin normal vücut florasında yer alır. Özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı infeksiyonlara yol açmaları ile büyük önem taşırlar.

Candida'ların neden olduğu gerek yüzeysel gerekse sistemik hastalıklarda konak savunma sistemi kadar etkene ait virulans faktörleri de oldukça önemlidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda biyofilmlerin hastalıkların oluşumundaki rolleri üzerine dikkat çekilmiş olup infeksiyonların %65'inin biyofilmlerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Biyofilm oluşturan bazı *Candida* türlerinin aynı zamanda antifungallere de direnç kazanması önemli bir sorun haline gelmiştir. Dolayısıyla, biyofilm kaynaklı infeksiyonların tedavisi, biyofilmlerin antimikrobiyal tedaviye azalmış duyarlılıkları nedeniyle zordur. Bu çalışmada *Candida* cinsi'nden mayaların, biyofilm oluşturma özellikleri, antifungal maddelere karşı duyarlılıklarının incelenmesi ve biyofilm oluşumu ile antifungal arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı'na rutin inceleme amacı ile gönderilen mikoz kuşkulu hasta örneklerinden izole edilen ve tür düzeyi belirlenmiş 100 adet *Candida* suşu kullanılmıştır.

İzole edilen 100 *Candida* suşunun %54'ü *Candida albicans*, %46'sı *albicans* dışı *Candida* olup, modifiye tüp adherans testi (MTAT) ile %66'sında, modifiye mikropalak testi (MMT) ve kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testine (KKBKİAT) göre sırası ile %18 ve %73'ünde biyofilm oluşumu görülmüştür. %16 flukonazole, %12 vorikonazole direnç bulunurken amfoterisin B'ye direnç saptanmamıştır. MTAT, MMT ve KKBKİAT sonuçlarına göre üç test ile de biyofilm oluşumu gözlenen 17 suşun 5 (%29,4)'inde flukonazol ve vorikonazol direnci belirlenmiştir.

Özellikle immün sistemi baskılanmış hastaların erken ve doğru tedavisi için çok önemli olan biyofilm ile ilişkili direnç oluşumuna gereken önem verilmeli, bu konudaki çalışmalar yoğunlaştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Candida*, Virülans Faktörleri, Biyofilm, CLSI M 44-A2, Disk Difüzyon.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 13483.

ABSTRACT

Ozpercin, D. Biofilm formation of *Candida* species from specimens and examination of the sensitivity of some antifungals. İstanbul University, Institute of Health Science, Microbiology and Clinical Microbiology Department. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.2011.

Candida is found widely in nature and the body's normal flora of healthy people. They play an important role in causing opportunistic infections especially in immunocompromised patients.

Host cell destruction is caused by both *Candida* virulence factors and host immun response in superficial and systemic mycoses. Recent studies have taken attention on the role of biofilms in the formation of diseases and it was reported that 65% of the infections are caused by biofilms. Because the formation of biofilm is associated with the increased resistance to antifungals, the treatment of infections are very hard. In this study, biofilm generation capabilities of *Candida spp.*, examination of their susceptibility to antifungal agents and investigation of relationship between biofilm formation and antifungal resistance were aimed.

In this study, it is aimed to investigate the biofilm formation and antifungal susceptibility of 100 *Candida* spp isolated and specified from samples of systemic mycosis suscepled patients which are sent to I.U. Istanbul Medical Faculty Microbiology and Clinical Microbiology Department Division of Mycology for routine investigation.

54% of the *Candida* strains were identified as *C. albicans* and 46%. of the *Candida* strains were identified as non-*albicans*. Biofilm formation was observed 66% with modified tube adherence method (MTAM), 18% with modified microplate method (MMM) and 73% with Brain-Heart Infussion Medium with Congo Red method (BHIMCR). Where as the resistance were detected at the rate of 16% for fluconazole and 12% for voriconazole, no resistance was determined for amphotericin B. According to MTAM, MMM, BHIMCR results, five (%29,4) of 17 strains in which biofilm formation was detected by all three methods were found to be resistant to fluconazole and voriconazole.

Importance should be given to the resistance associated with biofilm which is very important for the early and accurate treatment of especially immunocompromised patients and studies on this subject should be intensified.

Key Words: *Candida*, Virulence Factors, Biofilm, CLSI M 44-A2, Disk Diffusion.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 13483

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doğada (toprak, bitki, su, hava) yüzbinlerce tanımlanmış mantar türü bulunmasına rağmen bunların sadece 300 civarında olanı insan ve hayvanlarda mikoz yapabilen gerçek ya da fırsatçı patojen olarak bilinirler (1). Fırsatçı mantar infeksiyonlarındaki etken sayısının giderek hızla artmaya devam etmesi bağışıklığı baskılanmış hasta sayısının (AIDS ve transplantasyon hastaları, kanser nedeniyle kemoterapi tedavisi gören hastalar, kateterize hastalar, vb.) çoğalmasından dolayı ilintili bulunmuştur (2)

Mantarlar, morfolojik özellikleri temel alındığında, ‘mayalar’ ve ‘küfler’ olmak üzere iki gruba ayrılır ve mayalar içerisinde yer alan *Candida cinsi*, hastalık etkeni olarak sıklıkla izole edilir (2, 3).

Candida türleri doğada geniş bir dağılım göstermekle birlikte insanların; derisinde, solunum ve gastrointestinal sistemlerinde, kadınların genital florasında, normal kommensal yapının bir üyesi olarak bulunurlar (4). Günümüze değin saprofit olarak tanımlanan *Candida cinsi*’nden mayaların, özellikle immün sistemi baskılanmış ve vücut direnci azalmış kişilerde ciddi ya da ölümcül infeksiyonlara neden olduğu çok sayıda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (5).

Candida cinsi, *Ascomycota* içinde *Saccharomycetaceae* ailesine bağlıdır ve yaklaşık 200 tür içerir. Bunlardan *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* gibi türlerin insanlarda daha sıklıkla infeksiyona neden olduğu bilinmektedir (1, 2). Tüm infeksiyonların çoğunda izole edilen en yaygın türün *Candida albicans* olduğu, *albicans* dışı *Candida* infeksiyonlarında ise *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*’in öncelikli etkenler olduğu saptanmıştır (2, 3).

Candida; küçük (4–6 µm), oval, ince duvarlı, tomurcuklanma veya bölünme ile çoğalan maya benzeri bir mantardır ve Gram pozitifdir. *Candida*’lar agar içerikli katı besiyerleri ve kan kültürü şişelerinde kolayca üreyebilirler. Çoğu durumda üremesi için özel koşullar gerekmez. Katı besiyerinde *Candida* türleri, pürüzsüz, buruşuk veya düzgün kenarlı, kremi beyaz, parlak koloniler oluştururlar. Üreme genellikle 24 saatte görülmesine rağmen, belirgin üreme 48-72 saat arasında oksijenli/oksijensiz ortamda

gerçekleşir. *Candida* türlerinin üreme özelliklerini temel alan ticari kitler ile karbonhidrat asimilasyonu ve fermentasyon reaksiyonlarını değerlendirilerek 2–4 gün içinde kolayca tür tanımlaması yapılmaktadır (4).

Kandidoz veya kandidiyaz kelimesi; *Candida cinsi*'ne ait mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonları tanımlamak için kullanılır (5). *Candida cinsi*'nden mayalar, invazif olmayan yüzeysel infeksiyonlardan, derin dokuları tutan infeksiyonlara kadar geniş hastalık spektrumuna sahiptir (5). Kandidozun oluşumunda konak savunması dışında patojene ait virulans faktörleri de rol almaktadır (6). *Candida cinsi*'nden mayaların virulans faktörlerinin başlıcaları; yapışma, biyofilm oluşumu, çimlenme borusu, dimorfizm, toksinler, enzimler, hücre yüzeyi ve fenotip değişimi'dir (7).

Biyofilmler, ekstrasellüler matriks ile çevrili olan yüzeye bağlı topluluklardır (8). Kandidozun çoğu bulguları yüzeylerde *Candida*'ların biyofilm oluşturması ile ilgilidir ve bu yapı hem mukozal hem de sistemik bölgelerdeki infeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir. İdrar yolları, kateter ve çocuklarda orta kulak infeksiyonları gibi sık görülen hastalıklardan, endokardit ve kalp kapakçığı infeksiyonları gibi yaşamı tehdit eden hastalıklara kadar görülen çeşitli mikrobiyal infeksiyonlarda biyofilmlerin rolü %65 civarındadır (9,10). Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar kullanılan biyomateryaller ile kolonize olmakta ve biyofilmden ayrılan mikroorganizmalar septisemiye yol açabilmektedir. İnfeksiyonların oluşumu açısından sürekli bir kaynak oluşturan biyofilmler önemli bir virulans özelliği olarak kabul edilmektedir (11)

Antifungal ilaç direnci, immün sistemi baskılanmış populasyonun artmasıyla önemli bir sorun haline gelmiş, bu durum, fırsatçı ve sistemik mantar infeksiyonlarının görülme sıklığında ciddi bir artış ile sonuçlanmıştır (9). Antifungallere karşı ortaya çıkan direnç, doğal (intrensek) ve kazanılmış olmak üzere iki grupta yer alır. Doğal direnç; bir tür veya kökenin kalıtımla gelen özelliği olarak görülürken, kazanılmış direnç ise; genellikle antifungaller ile uzun süreli bir tedavinin sonucu olarak, önceden duyarlı olan bir izolatin dirençli bir fenotip geliştirmesiyle ortaya çıkar (2). Bu ikinci direnç türü son birkaç yıl içinde azollere karşı oluşan direncin nedenidir. Büyük olasılıkla, fungostatik etkili olduğu bilinen azollerin kullanımının artışı, azollere karşı direnç gelişmesini sağlamıştır (9).

Biyofilmler planktonik hücrelerle karşılaştırıldığında benzersiz fenotipik özellikler gösterir. Bu özelliklerden en önemlisi, hem antimikrobiyal maddelere hem de

konağın immün etkenlerine karşı dirençli olmasıdır. Dolayısıyla, biyofilmlerin antimikrobiyal tedaviye azalmış duyarlılıkları nedeniyle, biyofilm kaynaklı infeksiyonların tedavisi zordur. Bu direncin bazı koşullarda 1000 kat arttığı bildirilmiş, hatta *Candida albicans* biyofilmlerinin planktonik hücreler ile karşılaştırıldığında flukonazole 4000 kat daha fazla dirençli olduğu görülmüştür (12).

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı'na rutin inceleme amacı ile gönderilen sistemik mikoz kuşkulu hasta örneklerinden (BAL, balgam, periton diyaliz sıvısı, idrar, dışkı, kan, vs.) izole edilen 100 adet *Candida* suşunda biyofilm oluşumunun modifiye tüp adherans, modifiye mikropalak ve kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testleri ile saptanması, antifungal duyarlılıklarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi ve biyofilm oluşumu ile antifungal dirençlilik arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Candida enfeksiyonunun bilinen ilk tanımlanması, M.Ö. 4. yüzyılda, “allta yatan ağır hastalığı olan iki hastanın ağızlarındaki aft” olarak, Hipokrat (Hippocrates MÖ 460-337)’ın Epidemics adlı eserinde yapılmıştır.

Modern tıp döneminde, Rosen von Rosenstein tarafından 1771 ve Underwood tarafından 1784 yılında pamukçuğun ilk tanımının yapıldığı bilinmektedir. 1835 yılında Véron *Candida* enfeksiyonunun yenidoğanların doğum yolundan geçtiği sırada alındığını ifade etmiştir. Lagenbeck 1839 yılında tifüslü bir hastanın ağızındaki pamukçuk lezyonlarından aldığı örnekte mantarın varlığına rastlamış, fakat gözlemlediği organizmanın tifüs etkeni olduğunu düşünerek yanlış tanımlamada bulunmuştur. Pamukçuk etkeni olarak mantarın tarifi 1842 yılında Gruby tarafından yapılmış ve *Sporotrichum* türü olarak sınıflandırılmadaki yerini almıştır.

Daha sonraki yıllarda çeşitli patolojik olguların mayalarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. 1844 yılında Bennett tüberkülozlu bir hastanın balgamından, 1849’da Wilkinson vajinal kandidozdan, 1853’te Robin sistemik enfeksiyondan mantarı izole etmiş ve Zenker 1861 yılında bir hastanın ağızındaki afttan kan yoluyla dağılım sonucu beyin enfeksiyonunun geliştiğini bildirmiştir. 1875 yılında Hausemann, yenidoğanların annelerinin vajinasından ağız içine mantarın geçişini göstermiştir. 20. yüzyılın başlarında kaynağı *Candida* olan ek patolojik bulgular tanımlanmıştır. 1904’te Dubendorfer onikomikozis, 1907’de Jacobi dermatit, 1923’de Forbes kronik mukokutanöz kandidoz, 1928’de Conner osteomyelit, 1940’ta Joachim ve Polayes endokardit olgularının etkeni olarak mayaları izole ettiklerini bildirilmişlerdir. Yurdumuzda ise Reşat Rıza tarafından 1911’de yaygın bir kandidoz olgusu tanımlanmıştır (1,13).

Hastalardan izole edilen mayaların adlandırılması yıllara göre değişiklik göstermiş ve mikroorganizma 1953 yılında Robin tarafından *Oidium albicans*, 1868’de Quinquad tarafından *Syngospora robinii* ve 1875 yılında da Rees tarafından *Saccharomyces albicans* olarak adlandırılmıştır. Uzun bir aradan sonra 1890 yılında Zopf tarafından önerilen *Monilia albicans* ismi geniş ölçüde kabul görmüş, oluşturduğu enfeksiyon da ‘moniliyaz’ adını almıştır. 1923 yılında Berkhout, meyvaları çürüten,

çürümüş meyva ve yapraklardan izole edilen *Monilia* türlerinin, klinik olgulardan izole edilenlerden farklı olduğunu saptamış ve ilk kez *Candida* tanımlamasını yaptıktan sonra 1954'te Paris'te toplanan 8. Botanik Kongresi'nde *Candida*, cins adı olarak resmen kabul edilmiştir (1). *Candida* infeksiyonlarının terminolojisi de zaman zaman tartışma konusu olmuş, 'kandidiyaz' Amerika'da yaygın olarak kullanılırken, 'kandidoz' İngiltere, İtalya, Kanada ve Fransa'da daha çok kabul görmüştür (14).

2.2. *Candida* Türlerinin Genel Özellikleri

2.2.1. *Candida* Türlerinin Sınıflandırılması

Üreme şekilleri esas alınarak sınıflandırılan *Candida* türleri eşeyli ve eşeysiz sporları aracılığı ile ürerler. Hareketsiz, genellikle ana hücreden ayrılan, tomurcuklu eşeysiz yapıya blastokonidyum denir. Blastokonidyum oluşturan *Candida* türlerinin tümü *Saccharomycetaceae* ailesi içerisinde şu şekilde sınıflandırılır:

Üst Alem: *Eukarya*

Alem: *Fungi*

Şube: *Ascomycota*

Alt şube: *Ascomycotina*

Sınıf: *Ascomycetes*

Alt sınıf: *Hemiascomycetes*

Takım: *Saccharomycetales*

Aile: *Saccharomycetaceae*

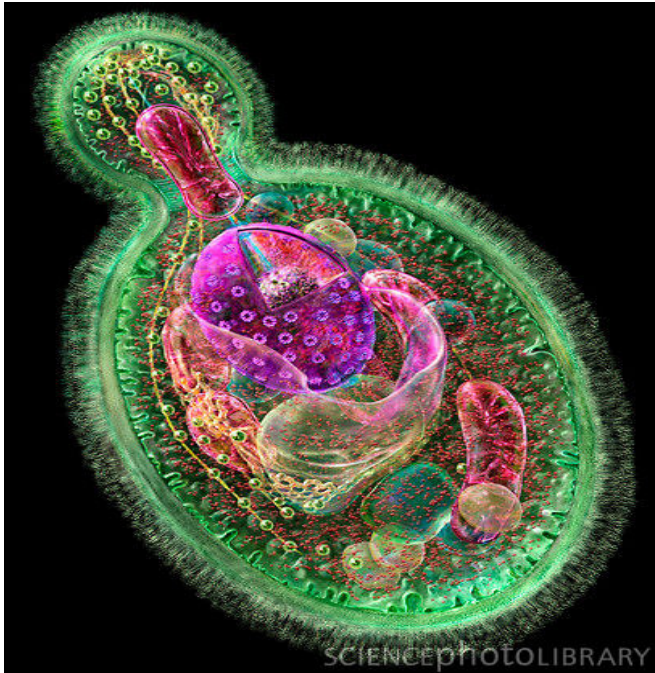
Cins: *Candida*

Bu cins içerisinde yaklaşık olarak 200 tür bulunmakta olup sadece dokuz tanesinin insanlarda sıklıkla hastalık etkeni olduğu kabul edilmektedir: *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida kefyr*, *Candida lusitaniae*, *Candida dubliniensis* ve *Candida glabrata* (2,15-18).

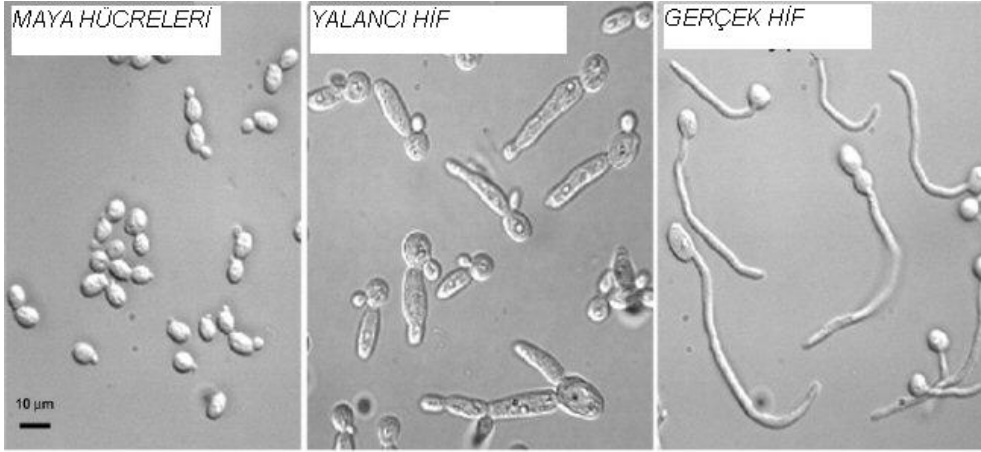
2.2.2. *Candida* Türlerinin Morfolojisi ve Boyanma Özellikleri

Candida türleri tek hücrelidir. Hücre duvarında kitin ve/veya sellüloz içeren ökaryotik kemoheterotrof organizmalardır. Kültürde veya dokuda; çapları 3-6 µm

arasında değişen, ince duvarlı, tomurcuklanarak (blastokonidyum) veya ortadan ikiye bölünerek çoğalan, yuvarlak ya da oval şekilli maya mantarlarıdır (şekil 2-1). *Candida*'lar bir hifin ucunda, arasında veya yanlarında bulunan, tek hücreli, kalın duvarlı, oval geniş yapı olan klamidospor oluşturabilirler. Eşeyli ve eşeysiz şekilleri bulunur. Blastokonidyumlar, ana hücreden ayrılmadan uzayarak ve aralarında boğumlar oluşturarak yalancı hif meydana getirirler. Diğer türlerin aksine *Candida albicans* dimorfiktir. Blastokonidyum ve yalancı hif dışında hücre duvarları birbirine paralel olan geręek hif de üretebilirler (şekil 2-2). Doğrudan mikroskobi yöntemiyle (%10-20 KOH ve kalkoflor beyazı) incelenen klinik örneklerde yalancı hif ile geręek hif ayrımı kolaylıkla yapılabilir. Kalkoflor beyazı hücre duvarındaki kitin ve sellüloza bağlanarak yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir. *Candida*'lar Gram olumlu boyanma özelliğine sahiptirler (13,16,19).



şekil 2-1: *Candida*'ların morfolojisi (20).



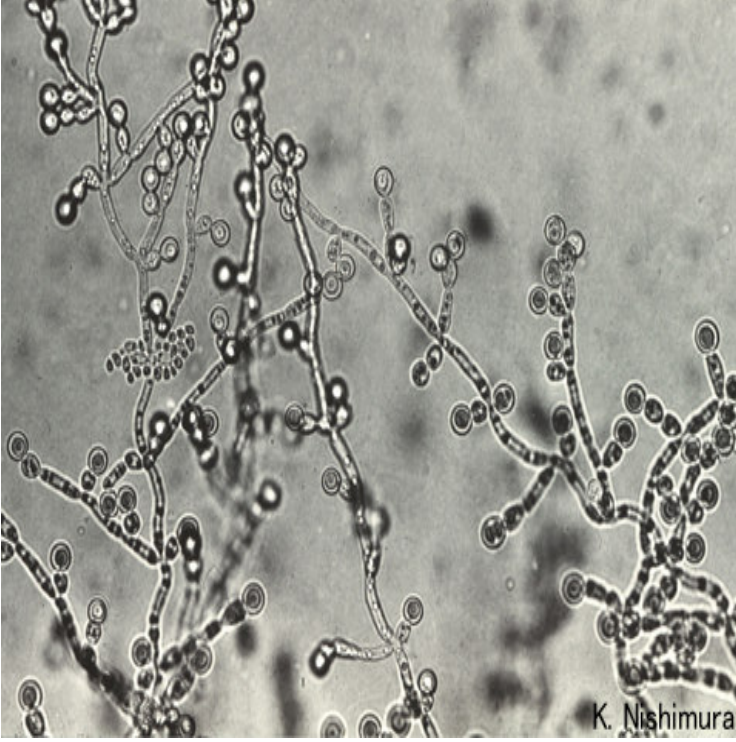
Şekil 2-2: *Candida*'ların hif yapısı (21).

2.2.3. *Candida* Türlerinde Üreme ve Biyokimyasal Özellikler

Candida türlerinin çoğu rutin olarak kullanılan katı besiyerlerinde ve kan kültürü şişelerinde iyi gelişim gösterirler ve izolasyonları için özel besiyerlerine gereksinim duymazlar (16). Özgün besiyerlerinde üreme süresi genellikle 24 saat olmasına rağmen, belirgin üreme genellikle 48-72 saat arasında oksijenli/oksijensiz ortamda gerçekleşir. Oksijenli ortamda 25-30 °C'de iyi üreme gösterirler. Bazı türler 37°C ve üstündeki sıcaklıklarda da üreyebilme özelliğine sahiptir (2). Mayaların üreyebilmeleri için besiyeri ortamında glukoz, amonyum tuzu, fosfat, biotin ve serbest metallerin (Fe, Zn, Ca gibi) bulunması, ortam pH'sının 2-8 arasında olması yeterlidir. *Candida* türleri kemoheterotrofturlar, bu nedenle organik bir azot ve karbon kaynağına ihtiyaç duyarlar (13). Bütün türler glukozu fermente eder, hiçbirisi nitrati asimile edemez (Tablo 2-1). *Candida*'ların bazı türlerinin salgıladıkları katabolitler arasında; asitler, yağ asitleri ve etanol dahil olmak üzere bazı alkoller bulunmaktadır. Kolonileri genellikle kirli beyaz veya krem renğinde, 2-3 mm çapında, buruşuk veya düzgün kenarlı, nemli, yumuşak kıvamlı maya kokuludur (Şekil 2-3). Mısır unlu jeloz (MUJ) gibi özel besiyerleri, türler arası morfolojik farklılıkları saptamak için kullanılır (Şekil 2-4) (1).



Şekil 2-3: SDA besiyerinde *C. albicans* kolonileri (22).



Şekil 2-4: MUJ besiyerinde *C. albicans* klamidosporları (X400) (23).

2.3. *Candida*'ların Hücre İnce Yapısı

2.3.1. Hücre İskeleti

Dinamik bir yapı olan hücre iskeleti turgor basıncına karşı koymakla görevlidir. Hücre duvarı ve zarı ile bağlantılıdır. Hücre iskeleti; mikrotübüller, aktin ve miyozinden oluşur. Mikrotübüller bazı proteinlerle birlikte membranın hareketliliğinde rol oynarken aktinler sitoplazmik akışkanlığı sağlayan protein yapıdaki iskelet bileşenidir. Miyozinler ise aktinle birlikte organellerin hareketliliğini sağlar. İskelet bileşenlerinin birbirleri ile ilişkileri açısından kalsiyum, magnezyum ve hidrojen iyon yoğunluklarının önemli olmasının yanı sıra bu iyonlar protein kinaz gibi bazı enzimlerin düzenlenmesinde, mitoz, mayoz, tomurcuklanma ve septum oluşumunda rol alır (24).

2.3.2. Hücre Membranı

Tüm ökaryotlarda olduğu gibi mantar hücre membranı çoğu besin alımına doğrudan veya dolaylı olarak katılan transmembran proteinlere bağlı fosfolipid tabakadan oluşur. Aynı zamanda membranda bazı enzimler tespit edilmiştir. Aslında hücre duvarı sentezleyen iki temel enzim olan kitin sentetaz ve glukan sentetaz integral membran proteinleridir ve dış zar üzerinden polisakkarit zincirler üreterek membrana bağlanmışlardır. Başka bir önemli görevi; sinyal iletimi olarak adlandırılan işlemde dış ortamdan hücre içine sinyallerin geçişini sağlar.

Hücre membranı, moleküllerin iç ve dış ortama geçişini sağlayan ozmoenzimleri taşır. Duvar komponentlerinin sentezinde rolü olan enzimler dışında morfogeneze rol oynayan fosfolipaz C, adenilat siklaz ve proteaz gibi enzimler de membranda bulunurlar.

Membranda bulunan fosfolipidler ise fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin ve fosfatidil inositoldür. Bazı fungusitler fosfolipid sentezini inhibe ederek membran bütünlüğünü bozarlar.

Mantarların plazma membranı önemli bir konuda benzersizdir (Şekil 2-5). Temel membran sterolu ergosteroldür ve sterollerin %95'ini oluşturur. Ergosterol aynı zamanda insanlarda hastalık yapan mantarların tedavisinde kullanılan, çeşitli antifungal ilaçların birincil hedefidir (24,25).

2.3.3. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı

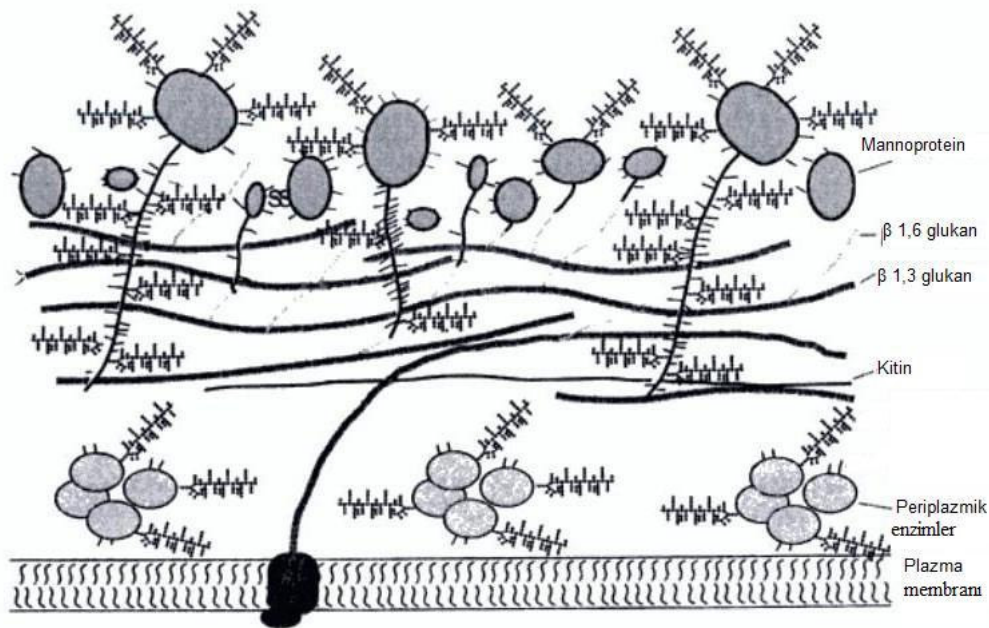
Elastik bir yapıya sahip olan hücre duvarı, maya hücrelerinin plazma membranını dıştan saran bir örtüdür. Hücreye şeklini verir. Mantar hücre duvarının yapısal bariyer sağlaması dışında birçok önemli göreve sahip olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda açığa çıkmıştır. Hücre duvarı, hücre morfolojisini korumak, hücreyi desteklemek ve savunmak için gereklidir. Dış ortamda meydana gelen ozmotik değişikliklerden hücreyi korur. Hücrenin bir araya gelerek yığın oluşturması gibi yapısal olaylarda başrol oynayan hücre duvarının, hücreleri ozmoza karşı koruması ve büyük moleküllerin porlardan geçişini düzenlemesi diğer görevleri arasındadır (1,25,26).

Mannoproteinler, kitin ve glukon gibi polisakkaritler hücre duvarının %80-90 kadarını oluşturmaktadır. Hücre duvar yapısının diğer bileşenleri ise proteinler, lipitler ve inorganik fosfattır. İki tabakalı olan hücre duvarının iç tabakası mekanik olarak sağlamlığı sağlarken dış tabakası hücre-hücre tanıma olayından sorumludur (Şekil 2-4) (25-28).

Hücre duvarının iç tabakası kitin ve glukandan oluşur ve kuru ağırlığın yaklaşık %50'sini oluşturur. Duvar yapısında temel bileşen β -glukandır. Duvarda, β 1,3 glukon veya β 1,6 glukon olarak veya her ikisi birden bulunabilir. Glukonlar; dış tabakayı oluşturan proteinler için tutunma yüzeyini ve hücre duvarının dayanıklılığını sağlarlar. Mikrofibriller yapıda şekillenmişlerdir. Hücre duvarının merkezinden dallanan β 1,3 ve β 1,6 glukon, kitine β 1,4 bağı ile bağlıdır. Kitinin maya hücresinin tomurcuklanarak bölünmesinde önemli rolü vardır. Ana maya hücresi ile yavru hücre kitinden oluşan bölme ile birbirlerinden ayrılır. Kitin; N-Asetilglukozamin polimerlerinin birleşmesiyle oluşur. Hücre duvarının %2-4 kadarını oluşturur (13,26,27).

Hücre duvarının dış tabakası yüzeyden glikolize edilmiş mannoproteinlerden oluşur. Hücre-hücre tanıma olayından sorumlu olmasının dışında hücre duvarını parçalayan enzimlere ve bazı yabancı enzimlere karşı plazma membranını koruyarak, duvarın iç yüzeyine ulaşmasına engel olurlar.

En dışta bulunan ve hücre duvarının yaklaşık üçte birini oluşturan protein tabakası dolaylı olarak β 1,6 glukon bağıyla ya da doğrudan kovalent bağlarla, β 1,3 glukon-kitin ağına bağlanır (Şekil2-5). Hücre duvar geçirgenliği, adhezyon, su tutumu, yabancı hif gelişimi gibi olaylardan sorumludur. Hücre bölünmesi sırasında yeniden glukonların oluşumu, bölünme ve hücre duvar güçlenmesini sağlar (26).



Şekil 2-5: *Candida* hücrelerinin ince yapısı (27).

2.4. *Candida*'ların Virülans Faktörleri

Candida'ların, özellikle de majör patojen olan *C.albicans*'ın kandidoz patogenezinde rolü olduğu ileri sürülen virülans faktörleri aşağıdaki başlıklarda gösterilmiştir (29).

2.4.1. Konak Hücre Yüzeyine Tutunma

Adhezyon, mayanın konak ile ilişki kurmasında ilk basamağı oluşturur. *C.albicans*, aderansı en yüksek tür olmakla birlikte, aynı tür içinde adhezyon yetenekleri farklı kökenler saptanmıştır. Maya hücresinin konak hücre yüzeyine tutunmasında, konağın hormonal ve immünolojik koşullarının yanı sıra, mantarın yüzey özellikleri de oldukça önemlidir (29).

A-Hücre Yüzeyinin Hidrofobik Özelliği: Negatif yüklü yüzeylerin birbirini çekmeleri, hidrofobik moleküllerin varlığı ile mümkündür. Örneğin, hidrokarbonların ve non-polar organik maddelerin (fenil alanin, methionin gibi) adezinlerle birlikte hücre yüzeyine tutunmayı desteklediği belirtilmektedir. Yüksek galaktoz yoğunluğunda üreyenlerin yanı sıra, 25°C'de üreyen mayaların ve hif şekillerinin hidrofobluğunun daha fazla olduğu bildirilmiştir (29).

B-Yüzey adezinleri: Konağın epitel ve endotel hücrelerine tutunmada rolleri olan moleküllerdir (30).

C3b reseptörü: Maya hücre yüzeyindeki bu molekül, konak hücre yüzeyindeki arjinin-glisin-asparajin yapısındaki reseptörlere tutunur. Molekülün, nötrofiller tarafından mayanın fagositozunu engellediği de öne sürülmektedir (30).

C3d reseptörü: Komplemanın C3d komponenti için reseptör görevi gören bir moleküldür. Glukoz ve mannoz açısından da zengin olup, özellikle plastik yüzeylere tutunmada rol alır (30).

Fibronektin reseptörü: Konak hücreye tutunmada Ca^{++} iyonlarına bağımlılık gösteren bir moleküldür. *C.albicans* ve *C.tropicalis* kökenleri fibronektin reseptörleri aracılığı ile subendotelyal ekstra sellüler matriks proteinlerine (EMP) tutunur (30).

Östrojen reseptörü: Üreme hormonlarının vajen epitellerindeki glikojeni artırıcı etkisi ve maya hücrelerindeki östrojen reseptörleri, vajinal kolonizasyonu kolaylaştırır (30).

Fibrinojen bağlayan proteinler: Bu reseptörler *C.albicans*'ın germ tüp ve hif şekillerinde bulunur. Özellikle böbrek ve üretral epitellere tutunmada rol alırlar (31).

2.4.2. Maya-Hif Dimorfizmi

Özellikle *C.albicans* kökenlerinde kromozomal düzeyde önemli değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler sürecinde yer alan dimorfizm, maya-germ tüp (hif) dönüşümünü belirleyen önemli bir virülans faktörüdür. Bu süreci etkileyen dış faktörlerden CO_2 , pH (7.5-8.0), ısı ($37^{\circ}C$); N-asetil glukoz, prolin ve aminoasitler maya hücresinin membranındaki reseptörler tarafından algılanan sinyaller olup, hücre içine iletilirler. Hücre içinde cAMP, cGMP ve bazı iyonların miktarlarında değişiklikler meydana gelir. Oluşan iyon akımı sonucunda hifal uzama gerçekleşir. Hif şekline dönüşümün ilk basamağı germ tüptür. Sinyalizasyon zayıf, ısı ve pH düşük ise septum yapımı gecikir, iyon akımı olmaz, daha plastik bir duvar oluşur ve buradan dışarı doğru balonlaşma sonucu küresel hücre (tomurcuk) şekillenir. Hif şekli, maya formuna göre dokuya ve plastik yüzeylere daha fazla yapışır; fagosit edilemez (31,32).

2.4.3. Fenotipik Değişim

C.albicans kökenlerinde yüksek sıklıkta spontan fenotipik değişim saptanmıştır. Bu değişim, başlıca iki kategoride gerçekleşmektedir:

a) Kolonilerdeki beyaz-opak (w-o) renk değişimi, 10^4 sıklıkta oluşur ve koloni düzeyinde olduğu kadar, makroskopik olarak da hücrelerin küresel ya da uzamış şekilde farklı görüntülerine yol açar.

b) Koloni morfolojisinde oluşan değişim sonucu “Smooth (s)” tipinden miçel şekline; yıldız tipi, halka tipi gibi değişik şekillere değişim olabilir, *in vivo* koşullarda da gerçekleşen bu oluşumun, antifungal ilaçlara karşı direnç gelişiminde etkili olduğu belirtilmektedir (31).

2.4.4. Salgısal Aspartil Proteinazlar

Kimyasal özelliklerinden dolayı karboksil proteinaz, asit proteinaz isimlerini de alan salgısal aspartil proteinaz, asit pH'da ve tek nitrojen kaynağı olarak bir proteinin bulunduğu ortamda salgılanır. Enzim, *C.albicans* kökenlerinin çoğu tarafından ve daha az oranda *C.tropicalis* ve *C.parapsilosis* kökenlerince üretilir. *C.kefyr*, *C.krusei*, *C.guilliermondii* ise nadiren salgılar. Proteinaz; serum albumini, ovalbumin, hemoglobin, keratin, kollajen, laminin, fibronektin, IgA, IgG'nin Fc kısmı ve komplemanın C3 komponentini hidrolize ederek, başta *C.albicans* olmak üzere *Candida* kökenlerinin virülansını ve dokularda invazyon oluşturma yeteneklerini artırıcı etki göstermektedir. Pepstatin, proteinazın özgül bir inhibitörüdür ve kandida enfeksiyonları önleyici bir madde olarak kullanılabilirliği ile ilgili çalışmalar sürdürülmektedir (31).

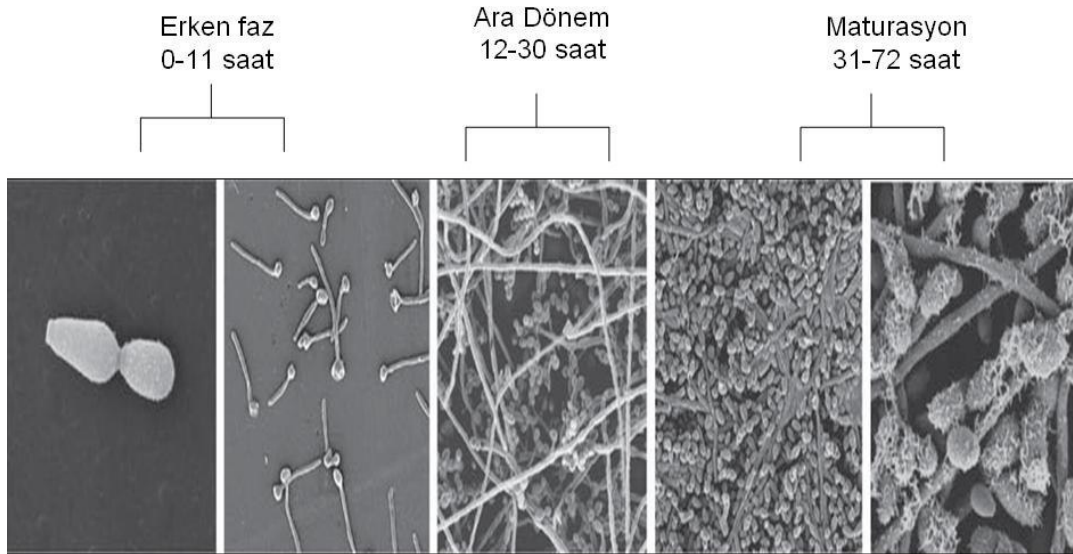
2.4.5. Fosfolipazlar

Maya ve hif şeklindeki *C.albicans* kökenlerinin %79'unda fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Özellikle membran fosfolipidlerini parçalayarak epitelyal hücrelere tutunmada bu enzimlerin rolü olduğu ve dolayısıyla virülansa katkıda bulundukları belirtilmektedir (31).

2.4.6. Biyofilm Oluşumu

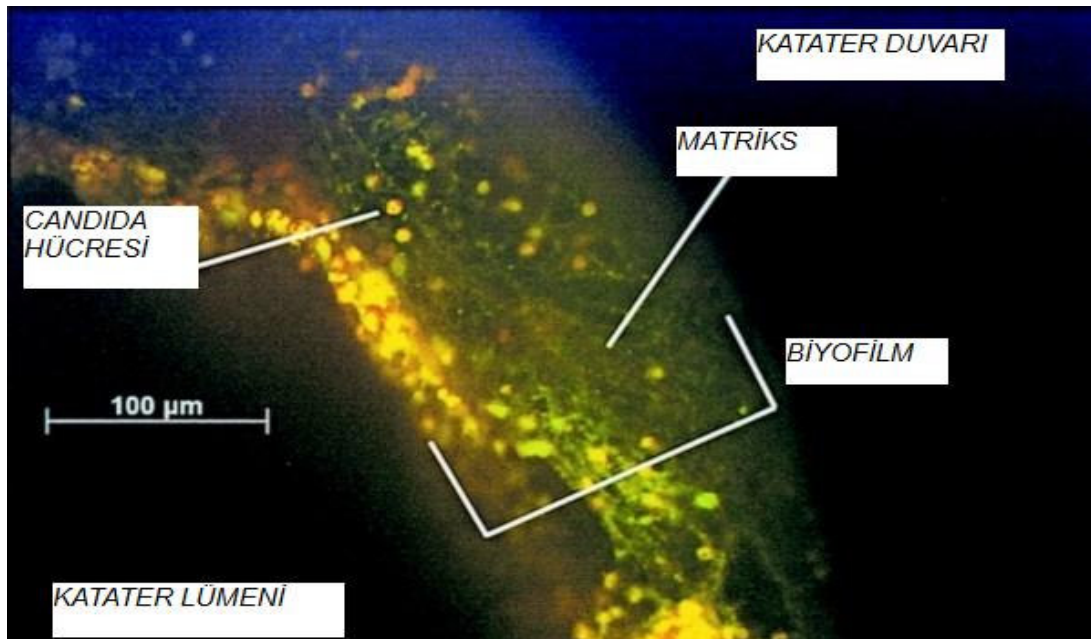
Bir kısım mikroorganizmaların doğada saprofit; insan vücudunda yaşamaya uyum sağladıklarında *in vivo* katı yüzeylere yapışma ve kalınlığı birkaç milimetreye varan hücre tabakalarından oluşan biyofilm oluşturma özelliklerinin bulunduğu, bu yapışmanın özgün olabildiği veya olmadığı bildirilmiştir. Biyofilm oluşumunda erken faz olarak kabul edilen sürenin 0-11, ara dönemin 12-30 ve maturasyon döneminin 31-72 saat olduğu belirtilmiştir (Şekil 2-6) (33). Biyofilmler damar içi kateter veya protez uygulamalarında esas komplikasyonları olan enfeksiyonlara yol açarlar (Şekil 2-7). Bu

yabancı cisim organizmada fibronektin, fibrinojen, vitronektin veya laminin ile kaplanır ve mikroorganizmalar konağın bu matriks proteinlerine yapışarak burada hücre dışına matriks salgıladıklarında yüzeye yapışma eğilimi, çoğunlukla polisakkarit yapısında bir biyofilm oluşur (34,35). *C. albicans* ve *C. parapsilosis* sıklıkla katetere yapışarak kolonizasyon ve sonucunda nozokomiyal infeksiyonlara yol açarlar. Kateterde ortaya çıkan biyofilmlerde hem mikroorganizmaya hem de konağa ait faktörlerin rol oynadığı; bu yapışma ve kolonizasyon için mantarın slime faktörünün, konağın da fibrin ve fibronektinlerinin gerekli olduğu bildirilmiştir. Diğer patojenlik faktörlerinin yanısıra *C.albicans* ve *C.albicans* dışı kökenlerde biyofilmlerin önemli bir virülans faktörü olduğu öne sürülmüşse de son zamanlarda yapılan araştırmalarda mucin, fibronektin ve mannan bağlayan protein gibi tükrük veya serum proteinlerinin *Candida* biyofilmi oluşmasını kolaylaştırmadığı; akrilik yüzeylerde *Candida* biyofilmi oluşmasının karmaşık bir olay olduğu bildirilmiştir (35). Diğer yandan, insan tükrüğünde bol miktarda bulunan histidinden zengin 12 çeşit proteinler olan histatinlerin fizyolojik yoğunluklarda hücre duvarını etkileyerek *C. albicans* dahil bir kısım *Candida* türleri, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Cryptococcus neoformans* üzerine in vitro antifungal etkinliklerinin olduğu gösterilmiş; ancak bunların *C.albicans*'ı öldürme veya çimlenmeyi baskılama mekanizmaları henüz açıklanamamıştır. Histatinlerin *C.albicans*'ın hücre zarına bağlandığı fakat memelilerin hücre zarlarına bağlanmayarak seçici öldürücü etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Bunlar arasında çeşitli biyolojik etkinliklerine sahip olan histatin 3'ün bu ara proteazları da baskıladığı, mantar hücresinin yüzeyine bağlandığı, ancak hücrenin ölmesi için düşük bir hücre dışı tuz yoğunluğunun da bulunması gerektiği gösterilmiş, dolayısıyla histatin 3'ün fungusit etkisinin yalnızca hücre yüzeyine bağlanmasıyla ilgili olmayıp hücreyi de etkilemesinin bu işlevde rolü olduğu öne sürülmüştür (36).



Şekil 2-6: Biyofilm oluşumunun evreleri (37).

Kateterler, ekstraselüler matriks içinde biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile kolonize olmakta ve mikroorganizmanın bu biyofilmden ayrılması çoğu kez septisemi ile sonuçlanmaktadır. Hastane kaynaklı kan dolaşımı ile ilgili infeksiyonların başında Gram negatif bakterilerden sonra mantarlar gelmektedirler (38). Fungeminin en yaygın etkeni olan *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.krusei* ve *C.glabrata* gibi *Candida*'ların biyofilm oluşumunun; virülansta etkili olmakla birlikte bazı çalışmacılar tarafından proteolitik enzimler, fosfolipaz, dimorfizm gibi diğer virülans faktörleri kadar önemli olmadığı ileri sürülmüştür (36,38,39).



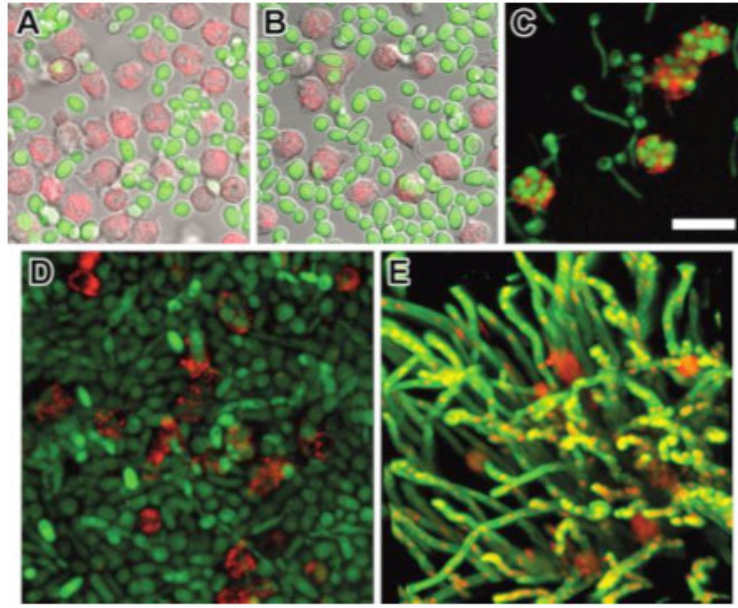
Şekil 2-7: Candida'larda biyofilm oluşumu (40).

Serbest yaşayan planktonik hücrelerin gen ekspresyonu ile değişerek biyofilm oluşturmaları incelenmiş ve polistrien yüzeye adhezyonu takiben yarım saat içerisinde ekspresyonun başladığı gözlemlenmiştir (Şekil 2-8). *Candida*'ların yüzeye adhere olması biyofilm oluşumunu başlatır. Biyofilm oluşumu ve transkripsiyonel düzenleyicilerin ekspresyonunun kontrolünü sağladıkları için spesifik adherans faktörleri önem kazanmıştır. Bu basamakta rol oynayan genler Als1, Als3, Ace2, Bcr1, Hwp1'dir. *Candida*'ların konak hücre yüzeyine adhezyonunda görevli proteinleri kodlayan "Agglutinin-like sequence (Als)" ailesine ait genlerin ekspresyonu biyofilm adhezinleri yönünden önem taşırken, Ace2 bazı hücre duvarı proteini geninin ekspresyonunu yönetmede, Bcr1 hifal farklılaşmanın alt genlerinin, Tec1 hife spesifik genlerin düzenlenmesinde, Hwp1 ise in vivo ve in vitro biyofilm oluşumunda önemli role sahiptir (8,9).

İn vivo ve in vitro deneylerdeki biyofilm katmanları incelendiğinde hifal yapı oluşumu için gerçekleşen morfolojik değişimin biyofilm olgunlaşmasındaki rolünün önemli olduğu vurgulanmıştır. Bu aşamada Efg1 ve Tec1 genleri biyofilm yapısının sağlam olması, Suv3, Nup85, Mds3, ve Kem1 ise hem biyofilm oluşması hem de hifal değişim için gereklidir (8,9).

Ekstra sellüler matrix, biyofilm bütünlüğünü ve fagositik hücrelere karşı koruma görevine sahiptir. Bu aşamada rol oynayan Adh1 geni, planktonik olan hücrelerde sayıca daha fazla bulunmaktadır ve biyofilm oluşumunun inhibitörü olduğu düşünülmektedir.(8,9).

Yüzey teması ile indüklenen gen ekspresyonunun antifungal direnç yol açan ek bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Antifungal hücre dışına pompalayan ve "major facilitator transporter" olarak adlandırılan Mdr1 ve "ATP-binding cassette" olarak adlandırılan Cdr1 ve Cdr2 genlerinin artmış ekspresyonu nedeni ile direnç oluşumunu gerçekleştirmektedir (8,9).



Şekil 2-8: A: 0. saat, B: 30. dakika, C: 2. saat (yeşil: planktonik hücreler, kırmızı: monositler). D:2. saat, E:22. saat (monositler yoğun biyofilm ağında sıkışmış) (41).

2.5. *Candida* İnfeksiyonları

Candida cinsi'nden mayalar, deri, tırnak ve mukozal yüzeylerdeki yüzeysel bulgulardan, yaygın infeksiyonlara ve çeşitli iç organları tutan derin infeksiyonlara kadar bir dizi klinik tabloya neden olurlar. *Candida* infeksiyonları genel olarak iki büyük grupta incelenir:

1. Yüzeysel *Candida* infeksiyonları
2. İnvazif *Candida* infeksiyonları

2.5.1. Yüzeysel *Candida* İnfeksiyonları

Oral Kandidoz

Oral kandidoz, antik çağlardan beri bilinen bir hastalıktır. AIDS ve diğer sağlık sorunu olan hastalarda sık görülen bir infeksiyon olarak son zamanlarda yeniden önem kazanmıştır. *Candida albicans*, diğer *Candida* cinsi'nden mayaların neden olduğu infeksiyonlar içerisinde en sık izole edilen etiyolojik etken olsa da, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii* gibi diğer *Candida* türleri de oral kandidozdan sorumlu tutulmuştur.

Oral kandidoz; akut psödomembranöz kandidoz, akut atrofik kandidoz, kronik atrofik kandidoz ve kronik hiperplastik kandidoz olmak üzere birkaç başlık altında incelenebilir.

Diş etlerinde, dilde ve oral mukozada beyaz-gri renkte lezyonlar ile kendini gösteren akut psödomembranöz kandidoz aynı zamanda pamukçuk olarak da bilinir. AIDS hastalarının çoğunda görüldüğü gibi, ağızdan özofagus mukozasına yayılarak yutma gücüne neden olur. Kanseri, AIDS hastaları ve bağışıklık sistemi zayıflamış olan hastalara ek olarak bu enfeksiyon, genellikle yaşlılarda ve özellikle vajinal kandidozdan yakınması olan annelerden doğan bebeklerde görülür. Akut psödomembranöz kandidozu, kronik hiperplastik kandidozdan ayırmak önemlidir. Akut psödomembranözü tespit etmek için yapılacak en basit test beyaz psödomembranın kaldırılmasıdır. Eğer kaldırıldığında aşınmış, eritematöz, kanayan bir yüzey var ise bu akut psödomembranöz kandidozun göstergesidir (1,5).

Akut atrofik kandidoz, özellikle dil üzerinde görülür ve buradaki papilla kaybı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gıda alımını etkileyen, ağrılı eritematöz mukoza ile karakterizedir. Akut psödomembranöz formda, lezyonların yok olmasının ardından akut atrofik kandidoz görülebilir ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisinin komplikasyonu olarak ortaya çıkar (1,5).

Kronik atrofik kandidoz, aynı zamanda protez iltihabı olarak da bilinen bir klinik tablo olup, özellikle protez takan yaşlı kişilerin %60'ında görülür ve insidansının yüksek olduğu bildirilmiştir. Oral mukoza tutulumunda en sık görülen klinik tablo olduğu düşünülmektedir. Klinik olarak protezin altındaki mukozada kızarıklık ve/veya ödem ile karakterizedir ve genellikle akut atrofik kandidoza göre ağrısızdır (1,5).

Kronik hiperplastik kandidoz (kandidal lökoplaki) çok nadir karşılaşılan bir durumdur. Yanak mukozasının çeşitli yerlerinde beyaz plaklar şeklinde görülür ve akut psödomembranöz kandidoza göre bu plaklar yok olmazlar. Lezyonlar malign dönüşüm geçirebileceğinden klinik olarak önemli bir tablodur. Tüm oral lökoplakilerin %5'i malign hale gelir, ancak kandidal lökoplakilerde bu oran %15-20'dir (5).

Vulvovajinal Kandidoz ve Balanit

Kandidal vulvovajinit, esasen doğurganlık döneminde olan kadınların %75'inin sık olarak karşılaştığı ortak bir enfeksiyondur. Coğrafi alana göre görülme sıklığının

%5-20 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Gebelik, şeker hastalığı ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi belirli gruplar içerisinde görülme sıklığı artar. Öncelikli olarak konağın, ayrıca patojenin bazı virülans özelliklerinin, altta yatan faktörler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Konağın durumuna bağlı faktörler arasında; gebelikte görülen hormonal etkiler, immünolojik veya beslenme gibi etkenler görülmektedir. Etken olan mantarda adherans artışı gibi faktörler ise patojenin virülansına bağlı faktörler ile ilişkilidir.

Hem vulvovajinal kandidozlu hem de sağlıklı taşıyıcılardan en sık izole edilen *Candida* cinsi'nden mayalar; *C. albicans* öncelikli olarak, *C. glabrata* ve *C. tropicalis*'tir.

Klinik tablo; lor benzeri, kalın veya çok ince olabilen akıntı ve kaşıntı şikayetlerini içermektedir. Enfeksiyon, vulvovajinal mukozada, ayrıca perianal bölgede, kızarıklık ile ilişkilendirilmiştir. Temelde mukoza yüzeyindeki lezyonlara yapışmış plaklar vardır. Bu durum cinsel ilişki sırasında rahatsızlığa ve ağrıya neden olabilir.

Olguların çoğu tedaviye yanıt vermesine rağmen vulvovajinitin önemli bir özelliği enfeksiyonun tekrarlamaıdır. Kronik ve tekrarlayan vajinal kandidoz tıbbi bir sorun teşkil etmektedir ve olası risk faktörleri, altta yatan faktörler ve mantar rezervuarları konusunda yoğun çalışmalar yapılmıştır. Cinsel temas ile partnere bulaş söz konusudur.

Erkeklerde görülen balanit sıklıkla şeker hastalığı ile bağlantılıdır. Vulvovajinitli kadınların eşlerinde de ortaya çıkabilir. Enfeksiyon, genellikle, peniste kaşıntı ve kızarıklık ile karakterizedir (1,5,24).

Primer Kutanöz Kandidozlar

İntertrigo; sıklıkla obezite, şeker hastalığı, çeşitli endokrin bozuklukları, HIV enfeksiyonu gibi altta yatan hastalıklarla ya da antibakteriyel ve steroid tedavisi gibi yatrogenik faktörlerle ilişkilidir. Kasık, meme altı ve arası, parmak araları, koltuk altı ve göbek gibi bölgelerde veziküller ve püstüller ile karakterizedir.

Konjenital kutanöz kandidoz, doğum sırasında ya da hemen sonrasında bebeklerde görülen, eritemli zeminde vezikopüstüler lezyonlarla seyreden klinik bir tablodur. Lezyonlar en sık yüz ve gövdede görülür ve 24 saat içinde tüm yüzeyi içine alarak hızla yayılabilir. Bu durumun uterus içerisinde ya da doğum sırasında enfeksiyon

sonucu meydana geldiği düşünülmektedir. Olguların %50'sinden fazlası annenin vajinal kandidozu sonucu gerçekleşir. Nadiren ilerleyip yaşamı tehdit eden derin infeksiyonlara neden olabilir. Bu nedenle, etkilenen bebekler tüm yüzeyel belirtiler ortadan kalkana kadar hastanede gözlem altında tutulmalıdır.

Bebeklerin perianal bölge ve kalçalarındaki kızarıklık gelişiminde *C. albicans*'a ait rolün çocuk bezi kullanımı ile ilişkisi halen yeterince açıklık kazanmamıştır (1,5,24).

Onikomikoz ve Paronikya

Paronikya, tırnak yatağının infeksiyonudur. Ağrılı iltihap, eritematöz ve şişmiş bir tırnak yatağı ile karakterizedir. Genellikle el tırnaklarının, daha az sıklıkla ayaklarının çevresinde görülür. *C. albicans* önemli bir etiyolojik etkindir, ancak *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii* de bu tabloyu oluşturabilir.

Onikomikozda, paronikyada olduğu gibi, özellikle el tırnakları, *Candida*'lar tarafından tutulur. Daha çok su ile normalden fazla teması olanlarda görülen bu infeksiyonda baş ve orta parmaklar daha çok etkilenir. Etkilenen tırnak ağrılı, renksiz, kırılğan, aşınmış, tırnak yatağından ayrılmış olabilir. Dermatofitlerin neden olduğu onikomikoz tablosundan tırnak plağı altında daha az döküntü birikimi olmasına rağmen daha ağrılıdır. Onikomikozda da, paronikyaya neden olan tüm *Candida* türleri etkindir ve hastalık kadınlarda daha sık görülür (1,5,23).

Kronik Mukokutanöz Kandidoz (KMK)

Cilt, tırnaklar ve orofarenksin kronik, tedaviye dirençli, yüzeyel kandidal infeksiyonudur. Konjenital endokrinolojik veya hücresel bağışıklık sistemindeki bozukluklarla bağlantılıdır. Yüzeyel kandidoz formlarının en ağır klinik tablosu olarak kabul edildiği ve bir dizi özgün altta yatan faktörler ile ilişkili olduğu için KMK konusunda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Oldukça seyrek görülür. Ailesel veya sporadik olabilen, genellikle çocukluk çağında başlayan farklı klinik tablolar ile sınıflandırılır. Lezyonlar ilk önce ağız, daha sonra kafa derisi, gövde, el ve ayaklarda görülür. Cilt tutulumu eritemli, belirgin sınırlı lezyonlar şeklinde olup, tırnak tutulumu tırnakta kalınlaşma, tırnak diplerinde kızarıklık ve ödem olarak belirlenir (1,5,24).

2.5.2. İnvazif *Candida* İnfeksiyonları

Kandidemi

Bir veya daha fazla kan kültüründe pozitiflik saptanması ve organ tutulumuna dair bir kanıt görülmemesi kandidemi olarak tanımlanır. Hem nötropenik, hem de nötropenik olmayan hastalarda görülür. Sıklıkla kalıcı vasküler kateteri olan hastalarda saptanır. En sık rastlanan belirtisi ateştir ve genellikle 38°C'den fazladır. Ancak bazı hastalarda titreme, hatta hipotansiyon gelişebilir (5).

İnvazif *Candida* infeksiyonlarının %50-70'ini kandidemiler oluşturur. *Candida*'ya bağlı mortalitenin %50'lere yakın olması kandideminin önemini gösterir. Yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nde takip edilen hastalar, kandidemi olgularının yarısından fazlasını oluşturmaktadır. Bu gruptaki hastalar için tanımlanmış pek çok risk faktörü bulunmaktadır. Risk faktörlerinden bazıları antimikrobiyal madde kullanımı, gastrointestinal cerrahi, total parenteral beslenme, kateter kullanımı, nötropeni, malignite olup, en önemlisinin YBÜ'nde yatış süresi olduğu saptanmıştır (3).

Kandidemi olgularından izole edilen *Candida* cinsi'nden mayaların dağılımında son yıllarda değişiklikler görülmüştür. Önceden *C. albicans*, kandan en sık izole edilen maya iken, son zamanlarda diğer türlerin görülme sıklığındaki artış dikkat çekmektedir. *C. glabrata* ABD'de ikinci en sık kandidemi etkeni iken Avrupa ülkeleri ve Türkiye'de *C. tropicalis* veya *C. parapsilosis* ikinci sırada yer almaktadır (42).

Akut Dissemine Kandidoz

Nötropenik olan ve olmayan hastalarda görülebilen fulminant bir infeksiyondur. Genellikle antibakteriyel tedaviye direnç gösteren kalıcı bir ateş şeklinde kendini gösterir. En sık rastlanan komplikasyonlar; beyin absesi, menenjit, miyokardit, endokardit, endoftalmit, renal ve kutanöz abselerdir (5).

Kronik Dissemine Kandidoz

Önceleri hepatosplenik kandidoz olarak tanımlanan bu klinik tablo üzerine yapılan çalışmalarda olayın sadece karaciğer ve dalakla sınırlı olmaması nedeniyle bu terim artık kullanılmamaktadır. Kronik dissemine kandidoz, çoğunlukla lösemili hastalarda ortaya çıkan yavaş seyirli bir hastalıktır. Geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine karşın ateşin devam ettiği ya da nötropeni düzeldikten sonra ateşin başladığı hastalarda bu klinik tablo düşünülmektedir. Herhangi bir organda tutulum

görülmeyebilir. Nötrofil sayısının normale dönmesi durumunda bile ateş devam eder ve hastada kilo kaybı görülebilir (5).

***Candida* Özofajiti**

Çoğunlukla kanserli ve AIDS'li hastalarda gelişen klinik bir tablodur. Oral kandidozlu hastalarda sıklıkla görülür fakat benzer semptomlar gösteren sitomegalovirüs (CMV) ve herpes simpleks virüs (HSV) özefajitlerinden ayırt edilmelidir. Özofagus kandidozlu AIDS hastalarının %30'unda aynı anda virüslerin neden olduğu özofajitte mevcut olabilir. Acı veren yutma güçlüğü ve olası göğüs ağrısı belirtiler arasındadır. Bu semptomlara bulantı ve/veya kusma eklenebilir. Oral kandidoza benzeyen beyaz lekeler özofagus mukozasında endoskopi ile görülebilir (1,5).

Gastrointestinal Kandidoz

Mide kandidozu genellikle ağır durumdaki kanser hastalarında görülmekle birlikte bu durum sıklıkla belirtisiz olup nadir bir klinik tablodur. Mukozada ülserasyon en sık görülen lezyonlardır. *Candida* perforasyonu dissemine enfeksiyona neden olabilir.

Bağırsak kandidozu tartışmalı bir durumdur. Terminal dönemdeki bazı kanser hastalarında ve AIDS'lilerde enfeksiyon sonucu mukozada ülserasyon görülmektedir. Hastalığı hafif seyir gösteren kişilerde bağırsak kolonizasyonunun hastalığa neden olup olmadığı kolaylıkla anlaşılamaz. *Candida* kolonizasyonunun kilo kaybı, baş ağrısı, ishal ve genel halsizlik gibi bir dizi alarm verici belirtiler gösterdiği üzerinde durulmuş, ancak bu varsayımlar ispatlanmamıştır (5).

Pulmoner Kandidoz

Bu klinik tablo ağır seyirli kanser hastalarında ve nötropenik hastalarda görülür. Ender görülen bir durumdur. Mikroorganizmaların hematojen yayılımı ya da akciğer endobronşial inokülasyonu sonucunda ortaya çıkabilir. Düşük kilo ile doğan bebeklerde enfeksiyon, genellikle ağız yolu ile organizmaların aspirasyonu sonucunda ortaya çıkar. Klinik ve radyolojik bulgular özgün değildir. Hematojen yayılım her iki akciğeri etkileyen yaygın nodüler infiltratlara yol açmaktadır. Kontamine olan oral sekresyonların aspirasyonu sonucunda yerel ya da yaygın bronkopnömoni gelişir. Kandidoz tanısı koymak için en güvenilir yol akciğer biyopsisidir (5).

Merkezi Sinir Sistem (MSS) Kandidozu

Candida'lar tarafından merkezi sinir sistemi tutulumu nadirdir ve çoğunlukla *C. albicans* etken olarak saptanır. En duyarlı kişiler AIDS hastaları ve prematüre bebeklerdir. Yaygın kandidozda MSS genellikle tutulur. Çoğu olguda temel olarak meninksleri tutmakla beraber beyin dokusunda abse oluşumu da bildirilmiştir.

Candida menenjitli hastalar, çeşitli nörolojik anormallikler gibi diğer menenjit etiyolojilerine benzer bulgular verebilir. *Candida*'lar beyin omurilik sıvısı (BOS)'ndan hazırlanan preparasyonların mikroskopik incelemelerinde görülebilir. Buna ek olarak BOS'ta patolojik düzeyde protein ve/veya glukoz değerleri bulunabilir (1).

Kardiyovasküler Kandidoz

Candida cinsi'nden mayalar kardiyovasküler sistemin çeşitli organlarında klinik bulgulara neden olabilir: endokarditi olan hastalarda perikard, miyokard veya endokard sıklıkla tutulur. Endokardit temelde damar içi madde bağımlılarında, protez ve bozulmuş kalp kapağı olan hastalarda görülmektedir. Aynı zamanda çeşitli kardiyak cerrahi işlemleri sonrasında ya da kanser tedavisinin yan etkisi olarak da saptanabilir.

Endokardite sıklıkla neden olan etkenlerin; *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* olduğu belirtilmiştir. Protez kalp kapakçığı olan hastalarda infeksiyonun cerrahi işlem sırasında kazanıldığı düşünülmektedir (1).

Üriner Sistem Kandidozu

Alt üriner sistem kandidozu genellikle bir üretral kateter ya da genital veya GİS'den yayılım sonucu meydana gelir. Bu nedenle kadınlarda daha sık görülür. Ayrıca infeksiyon diyabetik hastalarda da oldukça sıktır. Belirtileri tipik olup, infeksiyon hafif ya da daha ağır seyirli olarak gelişir. İlginç bir klinik özellik tıkanmaya neden olan ve normal idrar akışını bozan mantar kitlelerinin (mantar topu) oluşabilmesidir. Kandidüri açısından; komşu anatomik bölgelerin normal florasından dolayı infeksiyonun kolonizasyondan ayırt edilmesi kolay değildir. İdrarda *Candida* cinsi'nden mayaların kantitatif olarak koloni oluşturan birimlerinin (CFU) değerlendirilmesi yararlı olabilir ancak her zaman kesin bir yanıt alınmaz.

Böbrek kandidozu, yaygın kandidozlu hastaların %80'inde, genellikle organizmanın hematojen yayılımı sonucu gerçekleşir (1).

2.6. Tıbbi Önemi Olan Bazı *Candida* Türleri

Candida albicans

Kandidozlarda en sık izole edilen türdür. Sabouraud Dektroz Agar (SDA)'da, 25°C'de üç günde, beyaz veya krem renkte, düzgün kenarlı ve parlak koloniler oluştururlar. Koloniler eskidikçe buruşuk bir görünüm alırlar. Ayrıca kanlı agarda yıldız şeklinde çıkıntılar oluşturabilir. (13,14).

MUJ'da 48-72 saatlik inkübasyon sonrasında iri küreler şeklinde klamidospore oluşması ve 37°C'de, 2 saatlik inkübasyon sonunda hücrelerden boğum oluşturmaksızın uzayan çimlenme borularının (germ tüp) görülmesi ile diğer *Candida* türlerinden ayrılır (1,15). *Candida albicans*'ın hücre duvarında yer alan mannan, antijenik özelliğe sahip olup suşların serotiplerinin belirlenmesinde yararlıdır. A, B, C, B+C ve A+B+C serotipleri bulunan *C. albicans*'ın; salgısal proteinaz, lipaz, elastaz, enolaz ve ısı şok proteinleri gibi antijenleri de saptanmıştır (43).

Glukoz, galaktoz, maltoz, sukroz, trehaloz ve ksilozu asimile edebilir. Genellikle sikloheksimite dirençlidir. Bazı suşların flukonazole dirençli olduğu belirlenmiştir (13,14).

Candida dubliniensis

Koloni ve mikroskop morfolojisi *C. albicans* ile aynıdır. Germ tüp oluşturur. Klamidospore oluşumu vardır ancak görünümü kümeler oluşturmuş şekildedir. 45°C'de üreyememesi, ksilozu asimile edememesi ve β -glukosidaz aktivitesinden yoksun olmasıyla *C. albicans*'tan ayrılır (1,13,14).

Candida glabrata

Krem renkli, düzgün kenarlı, yumuşak ve parlak koloniler oluştururlar. Küçük, oval, kapsülsüz mayalardır. MUJ'da yalancı ve gerçek hif oluşturmazlar. Glukozu ve trehalozu asimile edebilir. Sikloheksimite duyarlıdır. Bazı suşlarının azol bileşiklerine dirençli/doza bağlı duyarlı olduğu bildirilmiştir (1,13,14).

Candida guilliermondii

SDA'da kolonileri düzgün ya da buruşuk kenarlı, hafif pembesidir. MUJ'da zincir şeklinde ya da kümelenmiş blastosporları taşıyan, iyi dallanmış yalancı hifler

görülür. Gerçek hif üretmez. Glukoz, maltoz, sukroz, galaktoz, ksiloz, rafinoz ve trehalozu asimile edebilir. Dulsitolü asimile edebilen tek türdür (1,2,13,15).

Candida kefyi

Kolonileri, krem renginde, düzgün ve yumuşaktır. Yalancı hifin etrafında uzun blastokonidyumlar oluşturur. Bazen hiften ayrılıp birbirine paralel dizilim gösteren blastokonidyumlar ırmakta yüzen kütük görünümüne sahiptir. Glukoz, sukroz, galaktoz, laktoz ve rafinozu asimile edebilir (1,13).

Candida krusei

Kolonilerin üst yüzeyi düzdür ve krem renklidir. Bir hafta bekleyen kolonilerde ağaç görümlü blastosporların boyu 25 µm'ye kadar uzayabilir. SDB'da 25°C'de 2-3 günlük inkübasyondan sonra sıvının üst yüzeyinde kalın bir zarımsı tabaka gözlenmiştir. MUJ'da yalancı hiften demet halinde blastosporlar üretilir. Üreaz pozitifdir. Sadece glukozu asimile edebilir. Sikloheksimite duyarlıdır. Flukonazole intrensek direçli olması önemli bir özelliğidir (1,13,15).

Candida lipolytica

Kısa zincirli, yalancı hifler boyunca uzanan uzun blastokonidyumlara sahiptir. Düzgün kenarlı, krem rengi koloniler oluşturur. Üreaz pozitif ve nitrat asimilasyon reaksiyonu negatiftir. Glukozu asimile edebilir. Amfoterisin B'ye giderek direç kazanmakta olması önemli bir özelliğidir (13).

Candida lusitaniae

Halka şeklinde blastosporlardan oluşan zincirler, dallanmış yalancı hiflerden oluşurlar. Krem renkli kolonileri düzgün yüzeyli ve parlaktır. Glukoz, sukroz, maltoz, galaktoz, ksiloz, sellebiyoz, trehalozu asimile edebilir. Sikloheksimite duyarlıdır. Bazı suşlarının amfoterisin B'ye direçli olduğu görülmüştür (1,13).

Candida parapsilosis

Kolonilerinin çevresi dantel şeklinde olup, krem renklidir. Yalancı hiflerin etrafında bazen tek bazen de kümeler yapan blastokonidyumlar görülür. Arada iri hiflerin (dev hücreler) bulunması en önemli özelliğidir. MUJ'da üç günlük inkübasyon sonunda uzun, düzenli olarak dallanan ve 'çam ormanını' andıran yalancı hifler

oluşturur. Glukoz, maltoz, sukroz, galaktoz, ksiloz ve trehalozu asimile edebilir (1,13,24).

Candida tropicalis

SDB yüzeyinde, 25°C’de 2 günlük inkübasyon sonucunda ince zarımsı bir tabaka oluşur. Krem renginde olup, yalancı hiflerin etrafında bazen tek bazen de kümeler yapan çiçek görünümünde blastokonidyumlar görülür. Nadir olarak hiflerin ucunda klamidospore benzer yapılar oluşturabilir. Glukoz, maltoz, sukroz, galaktoz, sellebiyoz, ksiloz, trehalozu asimile edebilir (1,13).

2.7. Epidemiyoloji

Candida’lar toprakta, hastane ortamında, cansız nesnelerde ve yiyeceklerde bulunur, ancak insanlar ve hayvanlar tarafından infekte olma olasılığı yüksektir. *Candida cinsi*’nden mayalar başta gastrointestinal sistem olmak üzere vajina, idrar, deri ve tırnak altında kolonizan olarak bulunabilir. *Candida albicans*; tatlı su, deniz suyu ve toprak gibi pek çok çevresel kaynaktan giysi, nevresim takımları ve diş fırçası gibi insanların doğrudan temas ettiği tüm öğelerde bulunmaktadır (16,44).

Son yıllarda, altta yatan ciddi hastalıklar ve cerrahi girişimlerden kaynaklanan hastanede yatan hasta sayısının artışına ek olarak yoğun bakım ve diğer birimlerde fazla ve uzun süreli antibiyotik kullanımı, bağışıklığı baskılayan tedaviler, santral venöz kateter varlığı, total parenteral beslenme uygulanması gibi sebeplerle nozokomiyal endojen ve/veya ekzojen kaynaklı mantar infeksiyonları önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmuştur. ABD’de yapılan bir çalışmaya göre yeni önem kazanan mikroorganizmaların önem sırasına göre diziliminde bakterilerden sonra ikinci sırada yer alan mantarlar, tüm nozokomiyal infeksiyonların %7’sini oluşturmaktadır. 1986–1988 yılları arasında Horan T. ve arkadaşlarının (45) yaptığı bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde birkaç Gram negatif bakteri ile birlikte *Candida albicans*’ın neden olduğu hastane infeksiyonları oranının %37 olduğu saptanmıştır (46-48).

Kandidozdan en sık sorumlu olan mikroorganizmanın *Candida albicans* olduğu belirlenmiştir. *Albicans* dışı *Candida*’lar arasında yer alan *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis* ise izole edilen diğer etkenlerdir (44,49,50).

Pfaller ve arkadaşları (51) tarafından yapılan geniş kapsamlı bir çalışmaya göre, Asya ve Pasifik ülkelerinde *C. albicans* halen en sık karşılaşılan türdür (%73,5). Ancak Avrupa ülkeleri, Kanada, Latin Amerika ve ABD’de *C. albicans* görülme oranları %47-57 civarındadır. Kanada ve ABD’de *C. glabrata*’nın, Avrupa’nın bazı ülkeleri ve Latin Amerika’da *C. parapsilosis*’in hastalık etkeni olarak ikinci sıraya yerleştiği birçok çalışmada belirtilmiştir (52).

Candida cinsi’nden mayalar sağlıklı bireylerin ağız florasında %25-50 oranında bulunabilir. Hastanede yatan hastalardaki oral taşıyıcılık ise %50-70 gibi yüksek bir orana sahiptir. Ayrıca HIV enfeksiyonlu hastalarda, diyabetik hastalarda, ağız içi iltihabı olan protez kullanıcılarında, kemoterapi gören malignite hastalarında ve çocuklarda oral taşıyıcılık oranları daha yüksektir. Deri örneklerinde *C. albicans*’dan daha yaygın görülen türler *C. guilliermondii* ve *C. parapsilosis*’dir.

Birden fazla *Candida* türünün belli bir yerde kolonize olma oranı %44’e kadar yükselebilir. Kolonizasyonda bir ya da farklı türden *Candida*’ların bulunması mümkündür. Anatomik olarak ilgili bölgelerde benzer türlerin eşzamanlı izolasyonları en sık karşılaşılan durumdur. Aynı *Candida* suşlarının %90’ından fazlası aynı anda vajinadan, üretradan ve anüsten alınan örneklerden izole edilmiştir. Buna karşılık aynı anda hem ağız hem anüsten sadece %61-75 oranında aynı *Candida* türü izole edilmiştir.

Kandidozun her çeşidinde enfeksiyonun başlıca kaynağı hastanın kendisidir. *Candida*’ların gastrointestinal sistemden kana bulaşması için kommensal habitatın önceki maya sayısının aşırı çoğalması ve gastrointestinal mukozanın bütünlüğünün kaybı gerekmektedir.

Candida’larda aynı zamanda ekzojen bulaşma da meydana gelmektedir. Kandidoz salgınlarının kontamine materyalden kaynaklandığı belirtilmiştir. *Candida* cinsi’nden mayaların, yanık ünitesi, geriatri, hematoloji, yoğun bakım (cerrahi, erişkin, yenidoğan) ve transplantasyon ünitesi gibi esas olarak özel ve kapalı ortamlarda personelden hastaya ve hastadan hastaya bulaştığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (44).

Yenidoğanlarda *Candida* cinsi’nden mayalar ile enfeksiyonun meydana gelmesi iki mekanizma ile gerçekleşir. Çoğu yenidoğan bebeklere gebelikte ya da doğum sırasında annenin vajina florasından bulaşma söz konusudur. Ancak nozokomiyal bir bulaş da mümkündür ve hastane personelinin elleri yenidoğana bulaştırma açısından *Candida* cinsi’nden mayalar için potansiyel bir kaynak olarak görülmektedir.

Klinik örneklerden izole edilen beş *Candida* türünün gönüllülerin avuç içlerinde varlığını sürdürebilme özellikleri araştırılmıştır. Yapılan deneylerde birinci elden ikinciye ve üçüncüye %69 ve %38 oranında bulaşma gözlenmiş olup *Candida albicans*'ın 24 saat cansız yüzeylerde yaşamını sürdürebileceği ve %90 civarında bulaşmaya neden olabileceği saptanmıştır.

Candida vulvovaginitinden yakınması olan kadınların endojen kommensal suş ile enfekte olmakla birlikte cinsel temas sonucunda partnerler arası bulaşma olasılığı da bulunmaktadır. Vajinal kandidozun nüks ettiği olguların çoğunda yeni bir suş ile enfekte olmak yerine aynı suş ile infeksiyonun yinelendiği gözlenmiştir.

Eroin bağımlılarında hematojen kandidozun, genellikle kontamine limon suyunun içerisinde çözünmüş eroin çözeltisinin damar yolundan enjeksiyonu yoluyla gerçekleştiği bildirilmiştir. HIV pozitif hastalarda oral florada etken olabilen *albicans* dışı *Candida*'ların sayıca artmasında ve flukonazole dirençli *Candida albicans* suşlarının giderek daha sık görülmesinde, tedavi ve profilaksi için kullanılan flukonazolün yaygın kullanımının rolü olduğu varsayılmaktadır. Ancak, son derece aktif antiretroviral tedavi kullanıma girdiğinden beri, flukonazole dirençli *Candida albicans* taşıyıcılığının oranında, konağın bağışıklık durumunun bir fonksiyonu olarak anlamlı bir azalma görülmüştür.

Candida'lar Amerika Birleşik Devletleri'nde hastaneye yatan hastaların kanından sıklık sırasına göre izole edilen dördüncü mikroorganizmadır. 1591 hematojen kandidoz olgusu ile yapılan bir çalışmada *albicans* dışı *Candida* suşlarının görülme sıklığı %46 bulunmuştur ve bu oran 1952-1992 yılları arasında büyük ölçüde aynı kalmıştır. Ancak son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda *albicans* dışı *Candida*'ların lehine, *Candida albicans* oranlarında azalma olduğu görülmüştür. Bu değişiklikler artan immüsupresyon, profilaktik antifungal tedavi ya da infeksiyon kontrol sistemlerinin yetersizliği sonucu olarak kabul edilmiştir. *Candida parapsilosis* ve damar içine uygulanan kateterler arasında kuvvetli bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (44).

2.8. Laboratuvar Tanısı

Kandidoz etkenleri çeşitli laboratuvar yöntemleri ile tanımlanabilir. Klinik örneklerin mikroskopik olarak incelenmesi ve bu örneklerden etkenin üretilmesi, antijenik yapısının ve kuşku duyulan infeksiyona karşı gelişmiş özgün immün yanıtın

gösterilmesi, etken metabolitlerinin, yapısal bileşenlerinin ve özgün nükleik asitlerinin saptanması sıklıkla başvurulmuş yöntemlerdendir (53).

2.8.1. Doğrudan Mikroskopi

Doğrudan mikroskopi, *Candida* cinsi'nden mayaların saptanması için kolay ve ekonomik bir yöntemdir. Ancak mikroskopi sonucunun negatif olması mantar infeksiyonu olasılığını ortadan kaldırmaz. Her türlü örnekte, maya hücrelerinin yalancı ve gerçek hiflerinin varlığı mikroskobik olarak kolayca saptanabilir. Örnek üzerine % 10-15 KOH ve % 1 kalkoflor beyazı konarak hazırlanan preparasyon floresan mikroskopta incelenir ve mantar elemanları (hif ve/veya spor) aranır. *Candida* cinsi'nden mayalar Gram pozitif boyanma özelliği gösterir ve genellikle de iyi yanıt verirler. Haematoxylin-eosin (HE) ya da Giemsa boyaları ile iyi görüntü elde edilemez. Periodic acid-schiff (PAS) ve Gomori's Methenamine silver boyası ile histolojik kesitlerde daha iyi sonuç alınır. (44,54).

2.8.2. İzolasyon Yöntemleri

Candida cinsi'nden mayaların hepsi bilinen mikolojik besiyerlerinde 35°C'de iyi üreme özelliğine sahiptir. Bakteriyel kontaminasyonu engellemek için kloramfenikol ve gentamisin eklenmiş Sabouraud Dekstroz Agar (pH:5.6) klinik örneklerden *Candida* izolasyonu için sıklıkla kullanılır. Bazı türlerin üremesini inhibe edeceği için SDA'ya sikloheksimit eklenmemesi gerekir. Patojenik *Candida*'ların çoğu kanlı agar, beyin-kalp infüzyon agar ve triptoz agar gibi birçok bakteriyolojik besiyerinde iyi üreyebilir. Ekim yapılan besiyerleri 26 ve 37 °C'de inkübe edilir ve bu ısı derecelerinde patojen *Candida*'ların çoğu birkaç günde üreme gösterirler. 37°C'de üreyememe saprofit olma koşulunu tanımlayan bir özelliktir. Üreyen mayanın hif ve/veya yalancı hif oluşturup oluşturmadığı, klamidospore varlığı, karbonhidrat asimilasyonu, şeker fermentasyonu ve gerektiğinde diğer özellikleri araştırılarak tür düzeyinde tanıya gidilir.

Son yıllarda *C. albicans*, *C. krusei* ve *C. tropicalis*'in hızlı bir şekilde ön tanımlamasını sağlayan ve *C. albicans* ile *C. dubliniensis* ayrımı yapabilen enzimatik reaksiyon oluşumu temeline dayalı ticari bir ürün olan CHROMagar *Candida*® ve *Albicans ID*® kullanım alanına girmiştir.

Kandidoz tanısında kan kültürü önemli bir yer tutar ve pozitif bir kan kültürü, sistemik kandidoz veya infekte damar içi kateterlere bağlı geçici bir kandidemiye işaret

edebilir. *Candida* cinsi'nden mayaların saptanmasında bifazik kan kültürü besiyeri ve aerop kan kültürü şişeleri kullanılır. *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* kan kültürlerinden genellikle üç gün içerisinde izole edilirken *C. krusei* ve *C. glabrata*'nın üremesi için daha uzun bir süreye gereksinim bulunur (44,54,55).

2.8.3. İdentifikasyon Yöntemleri

Mantarların identifikasyonunda, sırası ile makroskobik ve mikroskobik morfolojiye dayalı işlemler, daha sonra da fizyolojik, biyokimyasal ve gerektiğinde moleküler testler uygulanır (1,44).

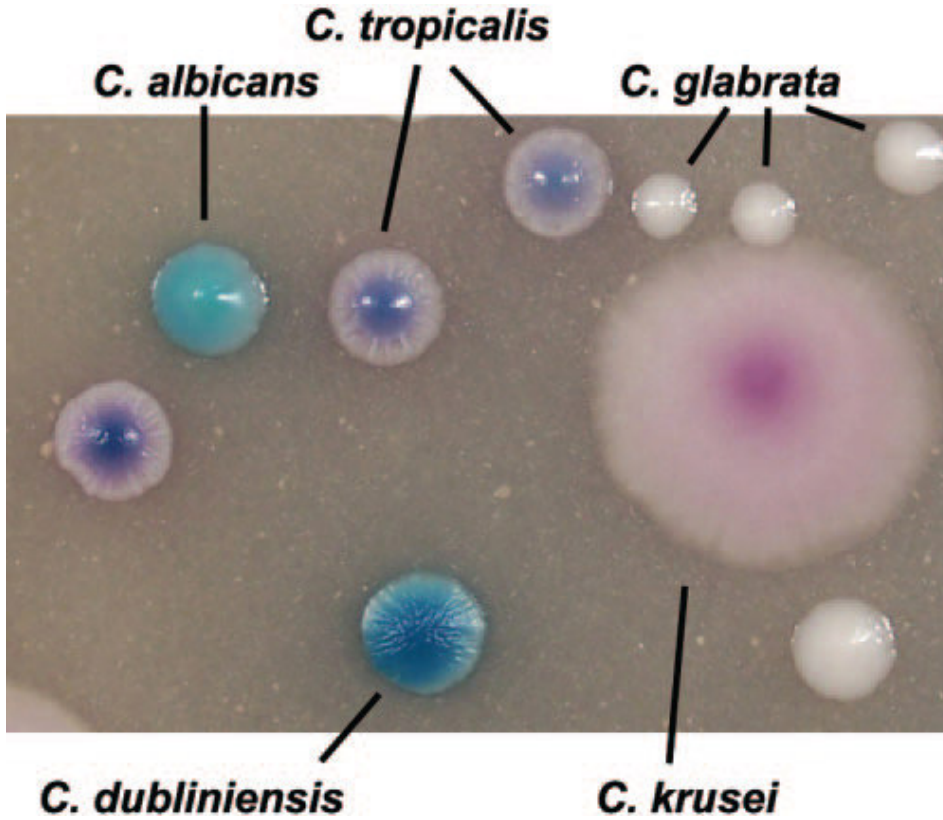
İzole edilen mikroorganizma maya ise öncelikle saptanması gereken tür *C. albicans*'dır. *C. albicans* tanısında çok değerli olan testler, klamidospore ve germ tüp oluşumunun belirlenmesidir. *C. albicans*, besleyicilik değeri az olan MUJ besiyerinde 37°C'de ve iki-üç gün içinde; psödomiçelyumların ucu (terminal), ortası (interkalar) veya kısa yan dalları üzerinde (sesil) iri ve kalın duvarlı klamidospore oluşturur. Germ tüp testinin uygulanmasında insan (ilk tercih) ve koyun serumu, koagüle tavşan plazması, yumurta albümini, sığır serum albümini, doku kültür medium 199 Trypticase Soy Broth ve çeşitli peptonlu besiyerlerinden yararlanılır. Bu besiyerlerinden herhangi birine ekilen ve 37°C'de 3 saat bekletilen *Candida*'ların boğum oluşturmaksızın meydana getirdiği borucuk şeklindeki kısa hifal yapılar germ tüp oluşumunun göstergesidir (13,44,55).

Candida türlerinin biyokimyasal yolla identifikasyonlarında belirli karbonhidratları asimile ve fermente edebilme özellikleri araştırılır. Bu amaçla önceleri 1948'de tanımlanan Wickerham ve Burton yönteminden yararlanılmış ancak uzun ve zahmetli olan bu yöntem daha sonraları yerini uygulanması kolay ve otomatize ticari kitlere [(API 20C, API ID 32C, Vitek, Minitek, Uni-Yeast-Tek) (Şekil 2-9)] bırakmıştır. Fermentasyon testlerinin uygulanması asimilasyona göre daha zahmetlidir. Klasik yöntemde sıvı besiyerine eklenmiş olan çeşitli karbonhidratların asit ve Durham tüpünde gaz oluşumu araştırılır. Bu testin yarı katı besiyeri kullanımı ya da sıvı besiyerinin en üstüne mum damlatılması gibi çeşitli modifikasyonları da bulunur. Ticari amaçlı fermentasyon testleri güvenilir olmadığı için tercih edilmemiştir (1)



Şekil 2-9: Biyokimyasal identifikasyonda kullanılan API 20C Aux (BioMérieux,France) (56).

C. albicans ve *albicans* dışındaki *Candida*'ların ve diğer mayaların identifikasyonlarında CHROMagar *Candida*[®], *Albicans* ID gibi koloni rengine göre tanımlama temeline dayalı kromojenik besiyerlerinden yararlanılır (Şekil 2-10). *C. albicans*'ın N-asetil- β -D- galaktozaminidaz ve L-prolin aminopeptidaz enzimlerinin her ikisini de sentezlemesi bu mayayı diğerlerinden ayırıcı bir özellik taşır. *C. albicans* gibi klamidospore oluşturan *C. dubliniensis*'in ayırıcı tanısında her ne kadar blastokonidyum morfolojisi, MUJ gibi besin değeri az besiyerinde yalancı hif ve klamidospore oluşturabilme yeteneği ve karbonhidrat asimilasyon profilleri özelliklerinden yararlanılsa da esas olan moleküler temele dayalı tanı yöntemidir (44).



Şekil 2-10: Koloni rengine göre tanımlama temeline dayalı kromojenik besiyerlerinde Candida türlerinin görünümü (57).

2.8.4. Serolojik Yöntemler

Antijen Saptanması: Özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda antikor düzeylerinin belirlenmesi zor olduğundan antijen saptanması önemli bir tanı aracı olarak kabul edilmiştir. Bu amaçla son zamanlarda çeşitli yöntemler önerilmesine rağmen lateks aglütinasyon ve EIA en yaygın kullanım alanı bulan testler olarak kabul edilmiştir. Antijenler genellikle serumda, daha seyrek olarak da idrar gibi vücut sıvılarında bulunabilir. Mannan, 47 kDa'luk HSP, enolaz ve (1,3) β -D-glukan gibi antijenlerin saptanmasında çeşitli yöntemlerden yararlanılır.

Karbonhidrat yapısındaki mannan; *Candida*'ların hücre yüzeyinde bulunur ve enfeksiyon sırasında kan dolaşımına geçer. Bu antijen oldukça özgün olmasına rağmen serum yarı ömrünün kısalığı ve antikorlara hızlı bağlanması nedeniyle serodiagnostik tanı açısından yeterli sonucu veremez. Tek bir serumdan elde edilen sonuca göre kesin karara varmak doğru bir yaklaşım değildir. Hasta serumlarında mannan antijenini belirleyici EIA kitleri ticari olarak mevcut olup, duyarlılığının %40, özgüllüğünün ise %53 civarında olduğu bildirilmiştir (3,24,53,58).

Birçok mantarın hücre duvarı bileşeni olan (1,3) β -D-glukan özgün olması nedeniyle invazif kandidozun tanısında belirleyici olarak kullanılabilir. Deneyin esası *Limulus* "horseshoe crab" (atnalı yengeci) hemolenfinin glukan varlığında pıhtılaşma özelliğine dayanır. Test spektrofotometrik olarak okunur ve kantitatifdir. Kandidemilerde testin duyarlılığı %84,4-100, özgüllüğü ise %88 olarak bulunmuştur. Klinik bulgular oluşmadan ortalama 10 gün önce testin pozitifleştiği bildirilmiştir. Glukansız cam eşya kullanma zorunluluğu, albumin veya immünoglobulinlerden kaynaklanan yalancı pozitif sonuçlar, bazı ilaçlarla çapraz reaksiyon ve Gram-pozitif bakteriyemide yalancı pozitifliğin görülmesi bu teste ait olumsuzluklar olarak kabul edilir (59-62).

Hücre duvarı antijenleri ile kolonizasyonda da olumlu sonuçlar alındığından invazif enfeksiyonların tanımlanmasında sitoplazmik antijenlerden; sadece invazyon sırasında bulunma özelliği dikkate alınarak yararlanılmış, bu temele dayanarak çeşitli testler geliştirilmiştir. 48 kDa'luk enolaz önemli sitoplazmik antijenlerden biri olup yapılan çok merkezli çalışmalarda %86 duyarlı, %96 özgül olduğu saptanmıştır.

Isıya dayanıklı 47 kDa'luk sitoplazmik antijen, 90 kDa'luk ısı şok proteininin (HSP-90) yıkım ürünüdür ve kandidoz tanısındaki değeri araştırılmıştır. Yapılan bir

çalışmada 82 invazif kandidozlu hastanın 68'inde, 47 kDa'luk antijene karşı antikor oluşumu tespit edilmiştir (53,59).

Antikor Saptanması: Serumda antikorların saptanması için, aglütinasyon testlerinin çeşitli modifikasyonlarından yararlanılır. Ancak *Candida*'lar gibi normal florada bulunan mantarlara karşı sağlıklı kişilerde ya da yüzeysel infeksiyonu olanlarda da antikor gelişmesinden dolayı bu test sistemik kandidozun ayırıcı tanısında yeterince özgül olmadığı için tercih edilmez (1).

İnvazif infeksiyon esnasında vücut sıvılarında yüksek titrelerle ulaşan antikorların saptanmasında kompleman birleşmesi (KB), immundifüzyon (ID), lateks aglütinasyon (LA) ve enzim immünassay (EIA) gibi testlerden yararlanılsa da bu yöntemlerden hiçbiri yeterli özgüllük ve duyarlılığa sahip değildir. Ancak klinik bulguların varlığında, ardarda alınan serumlarda antikor titresinin yükselmeye devam etmesi infeksiyon lehine değerlendirilebilir (58). Mantar infeksiyonları genellikle immünolojik olarak baskılanmış kişilerde geliştiğinden ve bu kişilerde yeterli antikor yanıtı oluşmadığından sıklıkla yalancı negatif sonuçlar ile karşılaşılır. Mukoza yüzeylerindeki kolonizasyonlar ise yalancı pozitif sonuçlara yol açarlar. Dolayısı ile antikor tanı testlerinin antijen testleri ile birlikte hasta izleminde kullanılmasının daha sağlıklı sonuçlar verebileceği vurgulanmıştır (44,53,63).

2.8.5. Moleküler Yöntemler

Hastalara ait çeşitli klinik örneklerin mikroskopik olarak incelenmesi mantar infeksiyonlarının tanısında oldukça özgül olmakla beraber, duyarlılıklarının düşük olması farklı tanı yollarına gereksinim oluşturmuştur. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda mantar infeksiyonlarının ani başlaması, hızlı seyir göstermesi ve çoğunlukla mortalite ile sonuçlanması kısa zamanda uygulanabilen, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek moleküler yöntemlerden yararlanmayı gerekli kılmıştır (53).

Candida DNA amplifikasyonu hızlı ve tür düzeyinde tanıyı sağlayan bir yöntemdir, ancak geleneksel yöntemler ile başarılı olunamadığında uygulanması gerekir. En iyi amplifikasyon sonuçları "real-time PCR" ile elde edilmiştir. Moleküler testlerin, ekonomik nedenlerden ve standardizasyon kuşkusundan dolayı referans laboratuvarlarında uygulanması gerekir. Nükleik asit belirlenmesinin gelecekte primer tanıda kullanılacağı varsayılmaktadır (44,53).

2.8.6. Metabolitlerin Taranması

D-arabinitol ve mannoz kandidozun erken tanısını sağlayan önemli ve umut verici metabolitler olarak görülmektedir. Böbrek fonksiyon yetersizliği olan hastalardan alınan idrar örneklerinde D-arabinitol düzeyi yüksek olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda mannoz duyarlılığının, D-arabinitole kıyasla daha az (%39) olduğu ve testin uygulanabilmesi için karmaşık bir gaz-sıvı kromatografi sistemine gereksinim duyulduğu bildirilmiştir (44,63).

2.9. Tedavide Kullanılan Antifungaller

Artan kemoterapi gereksinimi ve transplantasyon gibi tedavilere paralel olarak nozokomiyal *Candida* infeksiyonları insidansı artmıştır (24,64). *Candida* türleri kan kültürlerinden üretilen patojenler arasında ABD hastanelerinde üçüncü veya dördüncü sırayı almaktadır. Antifungal tedaviye rağmen kandidemilerde mortalite artışı görülmüştür (65).

Mantar hücreleri ökaryotik yapıda olduğundan memeli hücre yapısına çok benzerler. Bu durum protein, DNA ve RNA biyosentezini inhibe eden antifungal ilaçların insanlar için toksik özellik taşımasına ve sonuç olarak bu alandaki ilerlemelerin yavaşlamasına yol açmaktadır (2). Antifungal ilaç gelişimi için son yıllarda birçok çalışma yapılmasına karşın lisans alabilenlerin sayısı yeterince fazla değildir (2):

1. Grizeofulvin
2. Polyen grubu: Amp-B ve lipid formülasyonları (Polyen Amp-B, Lipozomal Amp-B, Amp-B lipid kompleks, Amp-B koloidal dispersiyon), Nistatin
3. Primidin sentezi inhibitörleri: Flusitozin
4. Azoller:
 - İmidazoller: Ketokonazol, Mikonazol
 - Triazoller: Flukonazol, Itrakonazol, Vorikonazol, Posakonazol
5. Alilaminler: Terbinafin
6. Ekinokandinler: Silofungin, Anidulofungin, Kaspofungin, Mikafungin

2.9.1. Grizeofulvin

Penicillium türlerinden elde edilmiştir. Dermatofitoz tedavisinde kullanılan ilk oral antifungaldir. Mantar hücresinin mikrotübüler proteinlerine bağlanarak, mitozu metafaz evresinde durdurur. Ayrıca nükleik asit sentezini engelleyerek etki gösterir etki alanı dar olup sadece dermatofitler üzerinde etkilidir (66).

2.9.2. Polyen Grubu Antifungaller

2.9.2.1. Amfoterisin-B (Amp-B)

Bilinen en güçlü antifungal maddedir, ancak toksik etkileri kullanımda önemli sınırlamalar getirir. Duyarlı mantar türlerinin hücre membranında bulunan sterollere bağlanarak hücre membran permeabilitesini bozar ve hücreye ait makromoleküller ve iyonların kaybına bağlı olarak fungusit etki yaparlar. Hücredeki konsantrasyonuna göre fungostatik veya fungusit etki gösterebilirler. Bakteri hücre membranında ergosterol bulunmadığından antibakteriyel etkinlikleri yoktur. Oral ve intramusküler yoldan absorpsiyonu yetersiz olduğundan intravenöz olarak uygulanır. (65). Dirençli suşlar genellikle Amp-B tedavisi sonrasında ortaya çıkar. Direnç mekanizması genellikle hücre membranındaki Amp-B bağlayan yüzey ergosterolünün kaybıyla ilişkilidir (67). Nefrotoksik etki, en ciddi yan etkisidir. İlacı kullananların hemen tümünde böbrek hasarına ait bazı bulgular ortaya çıkar ve kalıcı böbrek hasarı total doza bağlı olarak % 17 ile 44 arasında değişir (68).

2.9.2.2. Nistatin

Duyarlı mantarların sitoplazmik membranındaki sterole bağlanarak bu yapının harap olmasına ve esansiyel metabolitlerin kaybına yol açar. *Aspergillus*, dermatofitler ve bazı dimorfik mantarlara etkilidir. Toksisitesinden dolayı parenteral olarak kullanılamaz. Mukokutenöz kandidozda topik ve gastrointestinal kandidozda oral olarak uygulanır. İlacın sistemik kullanımında kolaylık sağlaması açısından lipozomal nistatin üretilmiştir (69).

2.9.2.3. Lipozomal Nistatin

Başta *Candida* türleri olmak üzere, *C. neoformans* ve *Aspergillus* türlerine de etkili bir antifungaldir. Normalde oral olarak emilememekte ve paranteral olarak ciddi toksik reaksiyonlar geliştirmektedir. Dimisterol gliserol içeren lipozomlara bağlanarak toksik etkisi azaltılmıştır (24, 69). Lipozomal nistatinin etki mekanizması nistatin ile

aynıdır. Lipozomlar nedeniyle retiküloendotelial sistem (RES) hücrelerine girişi ve infeksiyon bölgesine taşınması nistatinden daha kolaydır (24, 69).

2.9.3. Primidin Sentezi İnhibitörleri

2.9.3.1. 5-Fluorositozin

Mantar hücre membranındaki permeazlar tarafından hücre içine alınıp 5-florourasile dönüştürülerek RNA yapısına girer ve RNA yapısını bozar. Diğer bir metaboliti olan florodeoksiüridin monofosfat, DNA sentezini bloke eder. Amp-B' ye göre etki spektrumu daha dar, toksisitesi daha düşüktür (13). MİK <12.5-16 ug/ml ise test edilen organizma 5-Florositozine duyarlı kabul edilmektedir. Direnç önemli bir problemdir. Duyarlı mikroorganizmalar permeabilite değişikliği, enzim modifikasyonu, purin ve pirimidin gibi yarışmacı metabolitlerin varlığı ile tedavi sırasında direnç geliştirebilirler. *C. neoformans* ve bazı *Candida* türlerinde % 10 kalıtsal direnç söz konusu iken, tedavi sırasında % 5 kazanılmış direnç gelişmektedir. Bu nedenle mantar infeksiyonlarının tedavisinde tek başına kullanılamaz. En önemli terapötik kullanımı, kriptokokal menenjitin tedavisinde Amp-B ile kombinasyonudur. Kombinasyondaki sinerjizm 5-florositozinin hücre içine alınmasındaki artış ile ilgilidir (70).

2.9.4. Azoller

2.9.4.1. İmidazoller

Bu bileşiklerin etki mekanizması, sitokrom P-450 (14- α demetilaz) enziminin inhibisyonudur. Bu etki sonucunda ergosterol sentezi bloke edilir ve membran permeabilitesi değişir (24). İnsanlarda kullanıma uygun olduğu bildirilen ilk üç azol bileşiği, klotrimazol (1969), ekonazol (1969) ve mikonazol (1970)'dur. İlk iki ilaç geniş spektrumlarına rağmen kutanöz ve mukokutanöz kandidoz olgularında topik madde olarak uygulanmaktadır. Mikonazol sistemik mantar infeksiyonlarının tedavisinde intravenöz olarak kullanılabilen ilk azol türevidir, ancak toksisitesi ve kriptokokal menenjitte görülen yüksek relaps nedeniyle klinik kullanımı sınırlıdır (65). 1977'de oral olarak iyi absorbe edilen ketokonazol geliştirilmiştir. In vitro etki spektrumu mikonazolden daha geniştir. Immün sistemi baskılanmış hastalarda lokalize veya sistemik fungal infeksiyonların tedavisinde Amp-B'ye iyi bir alternatiftir. Santral sinir sistemi infeksiyonlarında BOS'a geçişi sınırlı olduğundan tercih edilmez (65). Hepatotoksik yan etkisi ve ilaç etkileşiminin, fazla olması yanında intravenöz

uygulanamaması sistemik kullanımını sınırlar. Mikonazol ve ketokonazol uzun süredir klinik kullanımda olmalarına rağmen direnç gelişiminin fazla olmadığı bildirilmiştir (2).

2.9.4.2. Triazoller

Önemli triazoller, flukonazol, itraconazol, vorikonazol ve posakonazoldur. Flukonazol; diğer azollerin aksine BOS' a geçişi iyi olan tek azol türevidir. Böbreklerden değişmeden atılır, serum yarılanma ömrü uzundur ve günlük tek dozla yüksek plazma seviyelerine ulaşılır (71). Amp-B tedavisi başarısız olmuş AIDS' li hastaların kriptokokal menenjitinde ve nötroopenik hastaların üst gastrointestinal ve kronik diseminan kandidozunda etkili bulunmuştur. Oral ve intravenöz preparatlarıyla mantar infeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen bir maddedir, ancak günümüzde sayıları giderek artan dirençli *C.albicans* kökenleri saptanmaktadır (13).

Itraconazol, oral absorpsiyonu ve dokulara dağılımı iyi, serum yarı ömrü uzun, BOS'a geçişi zayıf lipofilik bir ilaçtır. Mikonazol ve ketokonazole göre mantarların hücre sitokromlarına daha özgün bağlandığından toksisitesi düşüktür. Lokalize ve sistemik infeksiyonlar, dermatomikozis, oral ve vajinal kandidoz tedavisinde kullanılırlar (71).

Vorikonazol; yeni kuşak azollerden olup mayalar için in vitro yüksek aktiviteye sahiptir. Flukonazol'un sentetik derivativesidir ve triazol halkasına bir pirimidin ve α -metil grup eklenmesi ile elde edilmiştir. Flukonazol ile karşılaştırıldığında daha geniş aktiviteye sahiptir. Vorikonazolde de mekanizma diğer azol grubu antifungaller gibidir. Mantar hücre membranında ergosterol sentezini sağlayan sitokrom P450 (CYP450)- 14- α -lanasterol dimetilinin inhibisyonunu sağlayarak etki gösterir (69). Bu antifungalın etkisinin flukonazolden daha iyi olduğu bildirilmiştir (13, 69).

Posakonazol, invazif kandidoz ve aspergillozlu immün sistemi baskılanmış yüksek risk grubundaki hastalarda profilaktik olarak kullanılmak üzere FDA (Food and Drug Administration) tarafından onay almıştır. Kandidemi tedavisi için henüz bir çalışma bildirilmemiştir. Olgu sunumlarında posakonazolün, flukonazole dirençli *Candida* türlerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir (72).

2.9.5. Alilaminler

2.9.5.1. Terbinafin

Kullanımına 1990'lı yılların sonunda başlanan bir antifungaldir. Ergosterol sentezini skualen epoksidazı inhibe ederek engeller, böylece hücre zarında skualen oksitleri birikerek ergosterol yoksunluğu gelişir . Dar spektrumludur (73,74).

2.9.6. Ekinokandinler

1970'li yıllarda geliştirilen ilk ekinokandin silofungindir (2). Çözücüsünün (polietilen glikol) toksik etkilerinden dolayı kullanımdan kaldırılmıştır. 1980-1990'lı yıllarda suda çözünen anidulofungin, kaspofungin ve mikafungin geliştirilmiştir (75). Mannan sentezi ve nükleik asitler etkilenmeden, β -(1,3) glukcan sentetaz enzimi inhibe olur (2). Ergosterol ve lanosterol bileşimi azalan hücre duvarında kitin artar. Bu hücre, duvarı kalınlaşmış, tomurcuklu ama tomurcukların ana hücreden ayrılmadığı, hızla yıkıma giden bir hücredir (74). Etki spekturumları dardır. *Candida*, *Aspergillus* türleri ve *Pneumocystis jiroveci*'ye karşı fungusit aktiviteli lipopeptidlerdir. Azollere karşı dirençli *Candida* infeksiyonlarının tedavisinde, güvenilir ve etkin bir seçenek olarak kullanılabilir (74).

2.10. Antifungal Duyarlılık Testleri

Mantar infeksiyonları, özellikle fırsatçı mikozlar, 1980'lerden itibaren immunsupresiflerde göreceli bir artışla birlikte büyük önem kazanmıştır. Bu durum "antifungal ilaçlara direnç" kavramını da beraberinde getirmiş, antibiyotikler için olduğu gibi antifungaller için de primer ve kazanılmış (sekonder) direncin söz konusu olabildiği anlaşılmıştır. Böylece antifungal duyarlılık testlerine gereksinim duyulmaya başlamış ve standart testler için ilk çalışmalar 1982'de NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) tarafından başlatılmıştır (13). CLSI (önceki adıyla NCCLS)'nin antifungal duyarlılık testleri alt komitesi tarafından, 1997'de *Candida*'lar için M27-A rehberi hazırlanmış, 2002'de değişikliklerle M27-A2 rehberi yayınlanmıştır. Bu kitapçık metodoloji, makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemlerini standardize edici özellik taşımaktadır (76). Son olarak 2008 yılında M27-A3 yönergesi güncellenerek kullanıma sunulmuştur (77). CLSI, 2004 yılında mayalar için M44-A disk difüzyon yöntemini önermiş, M44-A2 2009 yılında güncellenerek standardize edilmiştir (78,79).

2.10.1. Antifungal Duyarlılık Test Yöntemleri

2.10.1.1. Dilüsyon Temeline Dayalı Yöntemler

a) Makrodilüsyon Yöntemi: Besiyeri olarak genellikle pH indikatörlü RPMI 1640 kullanılır. Antifungal ilaçlar önce uygun çözeltiler içerisinde sulandırılıp filtrelerden süzülerek steril edilir ve mayalar bulanıklıkları 0,5 McFarland bulanıklık tüplerine göre ayarlanarak $1-5 \times 10^6$ hücre olacak şekilde steril serum fizyolojik içerisinde süspanse edilir. Bir deney tüpüne hazırlanan antifungal çözeltisinden 0,1 ml, maya süspansiyonundan 0,9 ml eklenerek karıştırılır ve 35°C’de 46-50 saatlik inkübasyon sonucunda ilaçlı besiyeri tüpleri, üreme kontrol tüpleri ile kıyaslanarak görsel olarak değerlendirilir (80).

b) Mikrodilüsyon Yöntemi: Makrodilüsyon yöntemine benzer, ancak uygulanması daha kolay, daha ucuz ve daha az zaman alıcı olup 24 saatte sonuç alınabilir. Öncelikle antifungaller uygun çözücülerde çözünür ve maya hücrelerinin inokulum solüsyonu McFarland 0,5 No’lu bulanıklık tüpüne göre $1-5 \times 10^6$ hücre olacak şekilde ayarlanır. Deneyler U tabanlı 96 kuyucuklu steril mikropiplaklarda çalışılır. Kuyucuklara 100’er µl antifungal çözeltisi ve 100’er µl maya solüsyonu eklenerek, plaklar 35°C’de 24- 48 saat inkübe edilir. Test çukurları üreme kontrol çukuru ile görsel olarak değerlendirilir ve elde edilen bulanıklık 0’dan 4’e kadar rakamla ifade edilir:

0: Bulanıklık yok

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

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

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

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

Bu kriterler göz önüne alındığında amfoterisin B için bulanıklığın hiç görülmediği 0 MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Azoller için bu değer %25-50 bulanıklığın görüldüğü (2) olarak belirlenmiştir.(80).

c) Agar Dilüsyon Yöntemi: Deneyde farklı antifungal konsantrasyonları içeren besiyerleri ve kontrol amaçlı antifungalsiz besiyerleri kullanılır. Maya hücrelerinin inokulum süspansiyonu 0,5 McFarland bulanıklık tüplerine göre $1-5 \times 10^6$ hücre olacak şekilde ayarlanır ve besiyeri yüzeyine 1-3µl ekilir. 30°C’de 24 saat inkübasyon

sonrasında kontrol besiyeri ile karşılaştırılarak koloninin üremesini inhibe eden en düşük ilaç konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenir.(80).

2.10.1.2. Difüzyon Temeline Dayalı Yöntemler

Pratik ve uygulaması kolay olup hızlı sonuç verirler. Disk difüzyon ve E-test bu grupta yer alır (78).

a) Disk Difüzyon Yöntemi: İlk uygulandığı yıllarda 25 ve 50 µg flukonazol ile çalışılan bu yönteme sonraları vorikonazol ve amfoterisin B de katılmıştır. Önceleri farklı besiyerlerinin incelendiği bir çalışmada glukoz eklenmiş. "yeast nitrogen base" besiyerinin en iyi sonuç verdiği bildirilmesine karşın (81); diğer bazı çalışmalarda agar eklenmiş sade RPMI 1640 veya glukozlu RPMI 1640 besiyeri ile uygun sonuçlar alındığı belirtilmiştir. Son yıllarda *Candida*'larda flukonazol ve vorikonazol duyarlılığının saptanmasında Mueller Hinton agar kullanımının basit, hızlı, maliyeti uygun ve etkin olması nedeniyle uygulanabilir bir madde olduğu bildirilmiştir (78,79). Kolay uygulanabilir ve basit olan disk difüzyon yönteminin özellikle 24 saat sonraki değerlendirmelerde referans yöntem ile çok iyi uyum gösterdiği bildirilmiştir. Besiyeri üzerine, bulanıklığı spektrofotometrede 530 nm dalga boyu (%75-77 transmittans) ya da McFarland 0,5 No'lu bulanıklık tüpüne göre $1-5 \times 10^6$ hücre olacak şekilde ayarlanan maya süspansiyonundan ekim yapıldıktan sonra üzerine yerleştirilen antifungal disklerin zon çaplarının değerlendirilmesi testin esasını teşkil eder. Disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri uyumunun karşılaştırıldığı bir çalışmada flukonazol ve vorikonazol ile çalışılmış, flukonazol uyumunun %87,4, vorikonazol uyumunun ise %94,1 olduğu bildirilmiştir. Sadece %0,1 flukonazol ve %0,2 vorikonazol oranında uyumsuzluk olduğu belirtilmiştir (82). Bu yöntemin tek dezavantajı olarak doza bağımlı duyarlı suşlar ile gerçek dirençli suşları ayırt edemediği belirtilerek bu açıdan kantitatif testlere gerek duyulduğu vurgulanmıştır (83-85).

b) E-test Yöntemi: Disk difüzyon gibi kolayca uygulanabilmesi, pahalı; fakat ek malzeme gerektirmeden MİK değerini saptayabilen bir yöntem olmasından dolayı son yıllarda önem kazanmış, rutin kullanımı artmıştır. E test ilk defa 1988 yılında Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)'de tanımlanmıştır. Bu yöntemde bir yüzüne bir uçtan diğer uca doğru giderek artan konsantrasyonlarda antifungal emdirilmiş 5x50 mm ebadında, plastik stripler kullanılır. Strip üzerindeki mevcut rakamlar ilaç konsantrasyonunu gösterir. Test sonuçlarının

değerlendirilmesinde CLSI yönergesi esas olarak alınır. Uygulaması kolay, ek malzemeye ihtiyaç olmadan MİK değerlerini saptayabilen bir yöntemdir (78,86).

2.10.1.3. Akımsitometri (Flowcytometry) Temeline Dayanan Yöntemler

DNA'ya bağlanan vital boyalar ile ölü ve canlı hücrelerin ayrılması temeline dayanır. Hücrelerde ilaca bağlı membran hasarı oluştuğunda ortama eklenen floresanlı boyalar hücre içine girer ve antifungal ilaçların etkinliği araştırılarak MİK değerleri belirlenir (80).

2.10.1.4. Spektrofotometrik Yöntemler

Antifungal içeren kuyucukların spektrofotometrede absorbansları alınıp kontrol kuyucuğunun absorbansı ile karşılaştırılır ve MİK değerlendirmesi yapılır. Amfoterisin B için 630 nm, 5-FC ve flukonazol için ise 405 nm dalga boyu esas alınır. Amfoterisin B için optik dansitenin 0.1'in altında olduğu (üremenin izlenmediği) en düşük ilaç konsantrasyonu; 5-FC ve flukonazol için ise optik dansitenin kontrol kuyucuğuna göre % 80 veya daha fazla azalma gösterdiği en düşük ilaç konsantrasyonu MİK olarak belirlenir (87).

2.10.1.5. Kolorimetrik Yöntemler

Alamar mavisi ve XTT (2,3 bis 2-metoksi. 4-nitro-5 sulfafenil-5-fenilamino karbonil 2H-tetrazolium hidrokset) ile MTT (3-[4,5-dimetil tiyazol- 2yl]-2,5 difenil tetrazolium bromit) gibi tetrazolium tuzları indik特or olarak kullanılarak daha kolay ve objektif bir değerlendirme sağlanmaya çalışılmıştır. Alamar mavisi bir kolorimetrik oksidasyon-redüksiyon indikatörüdür ve normalde mavi olan bu ayıraç üreme varlığında pembe-kırmızıya dönüşür. Bu yöntemde, pembe-kırmızı renge dönüşme göstermeyen ilk mavi renkli kuyucuk MİK değeri olarak belirlenir. Üremenin görsel değerlendirildiği yöntemlere göre daha üstün görülmektedir (64).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Seçimi

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı'na 2007-2011 yılları arasında rutin inceleme amacı ile gönderilen sistemik mikoz kuşkulu hasta örneklerinden (BAL, balgam, periton diyaliz sıvısı, idrar, kan, vs.) izolasyonu ve identifikasyonu yapılmış olan 100 adet *Candida* suşu çalışma kapsamına alınmıştır.

Geleneksel identifikasyon yöntemleri ve API *Candida* maya tanımlama sistemi ile tür düzeyinde isimlendirilmiş olan *Candida* suşlarının biyofilm oluşumu modifiye tüp adherans testi, modifiye mikropalak testi ve kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi ile incelenmiş ve CLSI M 44-A2 disk difüzyon yöntemi ile antifungal duyarlılıkları belirlenmiştir.

Çalışmada kontrol suşları olarak *Candida albicans* CBS 6431, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 kullanılmış, standart suşlar İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikroorganizma ve Kültür Koleksiyonları Merkezi (KÜKENS)'nden sağlanmıştır.

3.2. İdentifiye Edilmiş Suşların Kontrolü

İdentifikasyonu yapılmış olan suşlardan Gram preparasyonu hazırlanarak saflıkları incelenmiş, MUJ besiyerinde klamidospore, blastospore, gerçek ve yalancı hif oluşumu araştırılmış ve API 20C AUX (BioMérieux, France) ile karbonhidrat asimilasyon testleri uygulanarak önceki sonuçların kontrolü yapılmıştır.

3.3. Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi

3.3.1. Modifiye Tüp Adherans Testi

3.3.1.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları

Sabouraud Dekstroz Agar (Difco, BD, France)

Mikolojik pepton	10 gr
Glukoz	40 gr
Agar	10 gr
Distile su	1000 ml

Ticari olarak toz halinde hazır şekilde temin edilen SDA istenen miktarlarda hazırlanarak, pH 5.5-6.0'a ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra Petri kutularına dökülerek iki hafta süreyle +4 °C'de kullanılmıştır (88).

%8 Glukozlu Sabouraud Dekstroz Buyyon

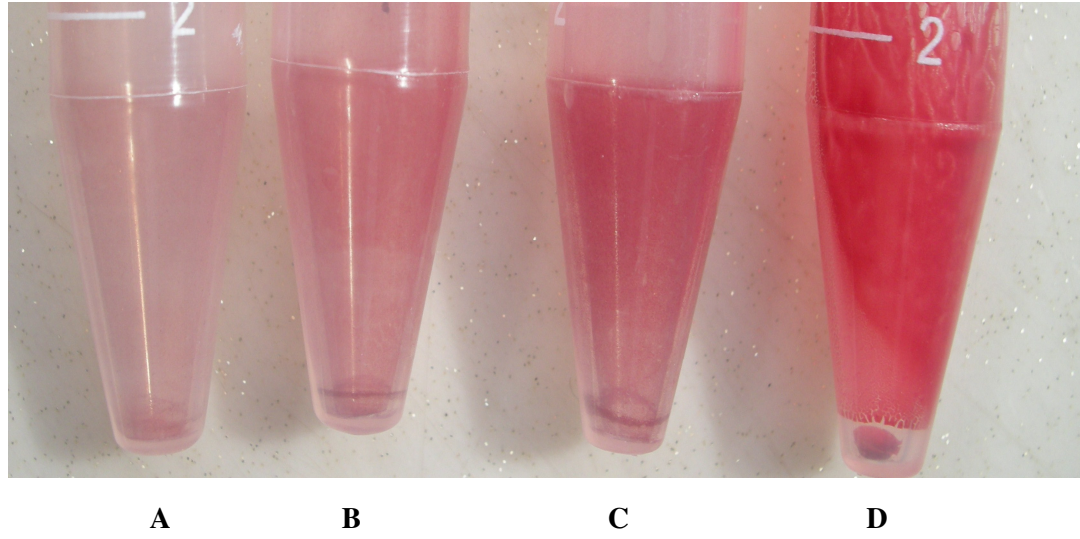
Bir litre distile suya, ticari olarak toz halinde hazır şekilde temin edilen SDB (Difco, BD, France)'ndan 30 gr ve glukozdan (Sigma-Aldrich, USA) 8 gr eklenerek hazırlanan besiyerinin pH'ı 5.5-6.0'a ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra 15 ml'lik falkon tüplere dökülerek iki hafta süreyle +4 °C'de saklanmıştır (55).

%1'lik Safranin

1gr Safranin-O (Sigma-Aldrich, USA), 100 ml distile suda karıştırılarak çözülmüş, karanlık bir ortamda 24 saat dinlenmeye bırakılan boya, iki kez filtre kağıdından süzülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir (88).

3.3.1.2. Deneyin Yapılışı

SDA'da 24-48 saatlik inkübasyon sonrası oluşan kolonilerden bir öze dolusu alınıp, 10 ml'lik polistrien falkon tüplerindeki son glukoz konsantrasyonu %8 olan SDB'a ekilmiş ve tüpler 35 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tüplerin içerikleri boşaltılarak iki kez distile su ile yıkanmış ve sonrasında %1'lik safranin ile boyama yapılmıştır. Tüpler havada kurutulduktan sonra iç çeperde bulunan renkli bir film tabakasının varlığı biyofilm pozitif olarak kabul edilmiş, oluşan tabakanın kalınlığına göre biyofilm pozitifliği; zayıf pozitif (+), orta pozitif (++) ve kuvvetli pozitif olarak (+++) değerlendirilmiştir (55).



Şekil 3-1: Modifiye tüp adherans yöntemi ile biyofilm oluşumu

A: (-)

B: (+)

C: (++)

D: (+++)

3.3.2. Modifiye Mikroplak Testi

3.3.2.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları

%0,25 Glukozlu Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon (BKIB)

Bir litre distile suya, ticari olarak toz halinde hazır şekilde temin edilen 37 gr BKIB (OXOID, England) ve 2,5 gr glukoz (Sigma-Aldrich, USA) eklenerek hazırlanan besiyeri 121 °C’de 15 dakika otoklavladıktan sonra 50 ml’lik falkon tüplere dökülerek iki hafta süreyle +4 °C’de saklanmıştır (89).

PBS (Fosfat tamponlu tuzlu su pH 7.2) (88)

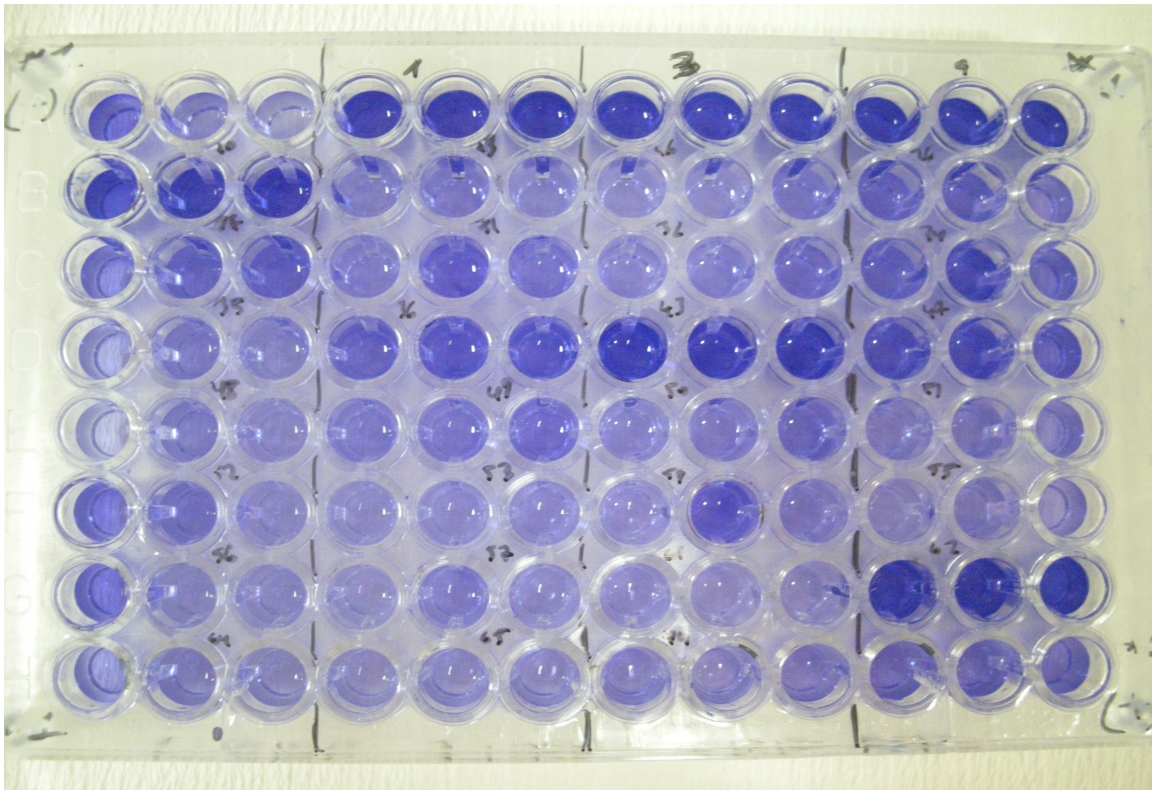
NaCl	8 gr
KCl	0.2 gr
Na ₂ HPO ₄	1.25 gr
KH ₂ PO ₄	0.2 gr
Distile su	1000 ml

%1'lik Kristal Viyole

1gr kristal viyole (Merck, Germany), 100 ml distile su ile karıştırılarak çözölmüş ve karanlık bir ortamda 24 saat dinlenmeye bırakılan boya, iki kez filtre kağıdından süzölerek kullanıma hazır hale getirilmiştir (89).

3.3.2.2. Deneyin Yapılışı

Suşlar %0,25 glukoz içeren beyin kalp infüzyon buyyonu içinde 24 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra yeni hazırlanmış ve önceden ısıtılmış %0,25 glukozlu BKIB ile 1/20 oranında sulandırılmış, bu süspansiyonlardan 200 µl alınarak steril 96 kuyucuklu polistriyen mikropalaklara aktarılmıştır. 37°C'de 48 saatlik inkübasyonu izleyerek, kuyucuklar PBS ile yıkanmış, ters çevrilerek kurutulmuş ve %1'lik kristal viyole ile 15 dakika boyanmıştır. PBS ile yıkama işlemi tekrarlandıktan sonra her bir kuyucuğa 200 µl etanol-aseton (80:20 vol/vol) eklenmiş, plaklar 590 nm'de okutulurak optik yoğunlukları (OD) belirlenmiştir. Biyofilm oluşumları; OD<1 ise negatif; 1<OD<2 ise zayıf pozitif (+); 2<OD<3 ise orta pozitif (++) ve OD>3 ise kuvvetli pozitif (++++) olarak değerlendirilmiş, deneylerde, kalite kontrol olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşu kullanılmıştır (89).



Şekil 3-2: Mikropalak yöntemi ile biyofilm oluşumu.

3.3.3. Kongo Kırmızılı Beyin Kalp İnfüzyon Agar Testi

3.3.3.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları

Kongo Kırmızılı Beyin Kalp İnfüzyon Agar (KKBKIA)

Daha önce stafilokoklar için tanımlanan bu besiyeri mayalar için modifiye edilmiştir. Bir litre distile suya, 37 gr toz haldeki beyin kalp infüzyon buyyonu (OXOID, England), 80 gr glukoz (Sigma-Aldrich, USA), 0,8 gr kongo kırmızısı (Merck, Germany) ve 10 gr agar (OXOID, England) ilave edilerek hazırlanmış, otoklavda 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra Petri kutularına dökülmüştür (90).

3.3.3.2. Deneyin Yapılışı

SDA’da üreyen 24 saatlik *Candida* suşlarından, KKBKIA besiyerine, her Petri kutusunda iki suş olacak şekilde steril öze ile ekim yapılmıştır. Besiyerleri 35°C’de 48 saat süreyle inkübe edilmiş, koyu kırmızı-pembe renkli koloniler pozitif, renksiz-beyazımsı koloniler negatif olarak değerlendirilmiştir (90).



Şekil 3-3: Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar besiyerinde biyofilm pozitif ve negatif kolonilerin görünümü.

Pembe- kırmızı: Pozitif

Renksiz-beyazımsı: Negatif.

3.4. Antifungal Duyarlılık Testi

Candida türlerinin antifungal duyarlılıklarının belirlenmesinde CLSI M 44-A2 disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır (79).

3.4.1. Deney İçin Gerekli Malzemeler ve Hazırlanışları

%2 Glikoz ve 0.5µg/ml Metilen Mavisi ilaveli Mueller Hinton Agar

Toz halindeki Mueller Hinton agardan (Plasmatec, UK) 34gr tartılarak 1000ml distile su içerisinde süspanse edilmiştir. 0.1gr metilen mavisi (Merck, Germany), 20 ml distile su içerisinde çözündürülmüş, bu karışımın 100µl'si ve 20 g glukoz (Sigma-Aldrich, USA) süspansiyon halindeki Mueller Hinton agar besiyerine eklenerek 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Besiyeri 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 90 mm çaplı steril Petri kutularına 30 ml olacak şekilde dağıtılmıştır (78,79,82).

Antifungal Diskler

Antifungal duyarlılıkların belirlenmesinde amfoterisin B (10µg), flukonazol (25µg) ve vorikonazol (1µg) diskleri kullanılmıştır. Hazır ticari diskler Bioanalyse (Türkiye) firması tarafından sağlanmıştır.

3.4.2. Deneyin Yapılışı

3.4.2.1. Test ve kontrol kültürleri ile inokulum hazırlanması

SDA üzerinde üretilmiş *Candida* türlerinin 24 saatlik kültürlerinden yaklaşık 1 mm çapındaki beş ayrı koloni seçilmiş, steril öze ile 5 mL steril 0,145 M NaCl'ye aktarılıp (8,5 g/L NaCl; %0,85 tuz) 15 saniye vortekslenmiştir. Bu süspansiyon 530nm dalga boyunda %75-77 transmittans ya da McFarland 0,5 No'lu bulanıklık tüpüne göre $1-5 \times 10^6$ hücre olacak şekilde ayarlanmıştır (78,79,82).

3.4.2.2. İnokülasyon

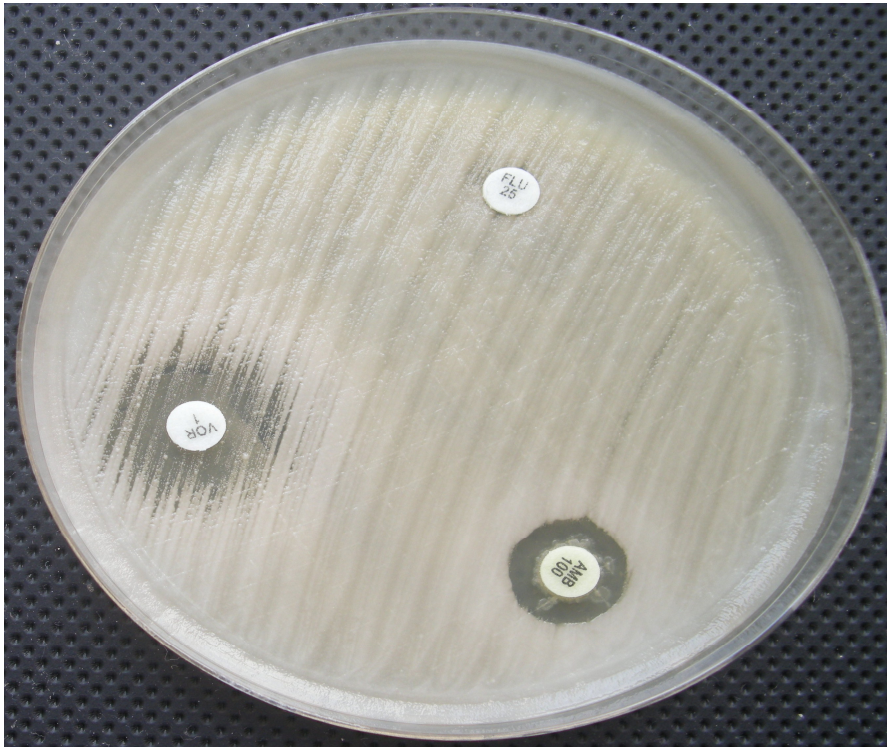
Hazırlanan inokulumu bekletilmeden 15 dakika içinde steril bir eküvyon daldırılmış ve fazla sıvının akması için tüpün iç üst duvarına bastırılarak birkaç kez döndürülmüştür. İnokulumu bulanmış eküvyon, glukoz ve metilen mavisi eklenmiş Mueller Hinton agar besiyeri üzerine döndürülerek sürülmüş ve eşit bir ekimin yapılması sağlanmıştır. Amfoterisin B (10µg), flukonazol (25µg) ve vorikonazol (1µg) diskleri, merkezleri arasında en az 24 mm olacak şekilde besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. 15 dakika içinde Petri kutuları, agar yüzeyi yukarı bakacak şekilde $35 \pm$

2°C'lik bir etüve konmuştur. İnkübasyondan 20-24 saat sonra Petri kutuları incelenmiş, tamamen inhibisyon görülen zonların çapları ölçülmüştür (Şekil 3-4). Zon alınamayan Petri kutularında inkübasyon süresi 48 saate uzatılmıştır. İnkübasyon bitiminde oluşan zon çapı milimetrik olarak ölçülmüş ve sonuçlar duyarlı, dirençli ve doza bağlı duyarlı olarak kaydedilmiştir (Tablo 3-1).

Tablo 3-1: *Candida* türleri için zon çapı yorumlama standartları (79).

Antifungal madde	Disk içeriği	Zon Çapı (mm)		
		Du	DBD	Di
Amfoterisin B	10 µg	≥ 15	10-14	<10
Flukonazol	25 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
Vorikonazol	1 µg	≥ 17	14-16	≤ 13

Di: Dirençli, DBD: Doza bağlı duyarlı, Du: Duyarlı

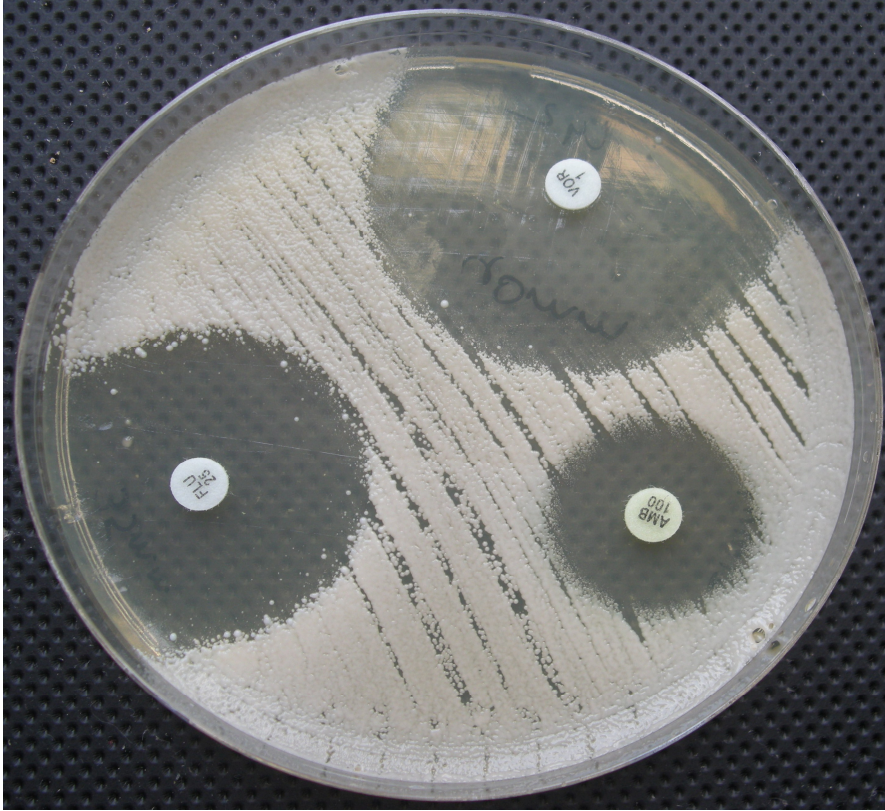


Şekil 3-4: CLSI M 44-A2 Disk difüzyon yöntemi ile Flukonazol, Vorikonazol ve Amfoterisin B duyarlılıkları-1 (AmB: Amfoterisin B, Flu: Flukonazol, Vor: Vorikonazol).

AmB: DBD (12mm)

Flu: Di (Zon çapı yok)

Vor: DBD (15mm).



Şekil 3-5: CLSI M 44-A2 Disk difüzyon yöntemi ile Flukonazol, Vorikonazol ve Amfoterisin B duyarlılıkları-2 (AmB: Amfoterisin B, Flu: Flukonazol, Vor: Vorikonazol).

AmB: Du (21mm)

Flu: Du (35mm)

Vor: Du (40mm).

4. BULGULAR

4.1. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* Türleri

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı'na 2007-2011 yılları arasında rutin inceleme amacı ile gönderilen sistemik mikoz kuşkulu hasta örneklerinden izole edilen 100 adet *Candida* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Tür düzeyi önceden belirlenmiş ve -70°C'de bekletilen *Candida* suşlarının kontrolü bir kez daha geleneksel yöntemler [MUJ'da klamidospore, blastospore, yalancı, gerçek hif oluşumunun gözlenmesi ve API 20C AUX (BioMérieux, France) ile karbonhidratların asimilasyonu] ile yapılmış ve önceki tanımlamalar ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. *Candida*'ların tür dağılımı Tablo 4-1'de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: *Candida*'ların tür dağılımı

<i>Candida</i> türleri	Suş sayısı	%
<i>C. albicans</i>	54	54%
<i>C. parapsilosis</i>	21	21%
<i>C. glabrata</i>	12	12%
<i>C. tropicalis</i>	7	7%
<i>C. krusei</i>	3	3%
<i>C. lusitaniae</i>	1	1%
<i>C. kefyr</i>	1	1%
<i>C. pelliculosa</i>	1	1%
TOPLAM	100	100

İzole edilen 100 *Candida* suşunun 54'ü (%54) *C. albicans*, 46'sı (%46) *albicans* dışı *Candida* olarak bulunmuştur. *Albicans* dışı *Candida*'ların ise 21'inin *C. parapsilosis* (%21), 12'sinin *C. glabrata* (%12), yedisinin *C. tropicalis* (%7), üçünün *C. krusei*, birer tanesinin de *C. kefyr*, *C. lusitaniae* ve *C. pelliculosa* (%1) olduğu saptanmıştır.

Candida türlerinin izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımları Tablo 4-2'de yer almıştır.

Tablo 4-2: *Candida* türlerinin izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımı

CANDIDA TÜRLERİ	KLİNİK ÖRNEKLER											
	Kan	Bronkoalveolar lavaj SIVISI	Biyopsi	İdrar	Balgam	Periton Diyaliz Sıvısı	Dışkı	Ağız Sürüntüsü	Safra	Vajina Salgısı	Katater Ucu	n (%)
	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %	
<i>C. albicans</i>	27 (50)	9 (16,66)	6 (11,11)	-	3 (5,55)	1 (1,85)	3 (5,55)	3 (5,55)	1 (1,85)	1 (1,85)	-	54 (54)
<i>C. parapsilosis</i>	14 (66,66)	-	1 (4,76)	-	1 (4,76)	3 (14,28)	-	-	1 (4,76)	-	1 (4,76)	21 (21)
<i>C. glabrata</i>	4 (33,33)	-	1 (8,33)	6 (50)	-	-	-	-	-	1 (8,33)	-	12 (12)
<i>C. tropicalis</i>	5 (71,42)	-	-	-	1 (14,28)	1 (14,28)	-	-	-	-	-	7 (7)
<i>C. krusei</i>	-	1 (33,33)	-	1 (33,33)	1 (33,33)	-	-	-	-	-	-	3 (3)
<i>C. kefyr</i>	-	-	-	-	1 (100)	-	-	-	-	-	-	1 (1)
<i>C. pelliculosa</i>	1 (100)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (1)
<i>C. lusitaniae</i>	1 (100)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (1)
TOPLAM	52 (52)	10 (10)	8 (8)	7 (7)	7 (7)	5 (5)	3 (3)	3 (3)	2 (2)	2 (2)	1 (1)	100

Toplam 54 (%54) *C. albicans* suşunun 27'si (%50) kandan, dokuzu (%16,66) bronkoalveolar lavajdan (BAL), altısı (%11,11) biyopsiden, üçer (%5,55) tanesi balgam, dışkı ve ağız içi sürüntüsünden, birer tanesi periton diyaliz, vajina salgısı ve safra (%1,85) örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen 21 (%21) *C. parapsilosis* suşunun 14'ü kan (%66,66), üçü periton diyaliz sıvısı (%14,28), birer (%4,76) tanesi balgam, biyopsi, kateter ucu ve safra örneklerinden üretilmiştir. 12 (%12) *C. glabrata* suşunun altısı idrar (%50), dördü kan (%33,33), birer (%8,33) tanesi biyopsi ve vajina salgısından izole edilmiştir. Yedi (%7) *C. tropicalis* suşunun beşi kandan (%71,42), birer (%14,28) tanesi periton diyaliz sıvısı ve balgamdan elde edilmiştir. *C. krusei*'ye ait üç (%3) suş idrar, balgam ve BAL'dan üretilmiştir (%33,33). Bir (%1) *C. kefyr* balgamdan, birer *C. pelliculosa* (%1) ve *C. lusitaniae* suşu ise kandan izole edilmiştir.

52 (%52) *Candida* türü kandan, 10'u BAL'dan (%10), sekizi (%8) biyopsiden, yedişer (%7) tanesi idrar ve balgamdan, beşi (%5) periton diyaliz sıvısından, üçer (%3) tanesi dışkı ve ağız içi sürüntü örneğinden, ikişer (%2) tanesi vajina salgısı ve safradan, biri (%1) ise kateter ucundan izole edilmiştir.

4.2. Biyofilm Oluşumunun Sonuçları

4.2.1. Modifiye Tüp Adherans Testinin Sonuçları

Modifiye tüp adherans testi uygulanarak %8 Glukozlu Sabouraud Dekstroz Buyyon besiyerine ekilen *Candida* suşları biyofilm oluşumları açısından değerlendirilmiş ve bulgular Tablo 4-2'de gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Modifiye Tüp Adherans Testi uygulanan *Candida* türlerinde biyofilm oluşumu. (+, ++, +++).

CANDIDA TURLERİ	Biyofilm Oluşumu			Toplam		Toplam n (%)
	+ n (%)	++ n (%)	+++ n (%)	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
<i>C. albicans</i>	24 (44,44)	15 (27,77)	4 (7,4)	43 (79,63)	11 (20,37)	54 (54)
<i>C. parapsilosis</i>	7 (33,33)	4 (19,04)	-	11 (52,38)	10 (47,61)	21 (21)
<i>C. glabrata</i>	1 (8,33)	-	-	1 (8,33)	11 (91,66)	12 (12)
<i>C. tropicalis</i>	-	2 (28,57)	5 (71,42)	7 (100)	-	7 (7)
<i>C. krusei</i>	-	1 (33,33)	-	1 (33,33)	2 (66,66)	3 (3)
<i>C. lusitaniae</i>	1	-	-	1	-	1 (1)
<i>C. kefyr</i>	-	-	1	1	-	1 (1)
<i>C. pelliculosa</i>	-	1	-	1	-	1 (1)
Toplam	33 (33)	23 (23)	10 (10)	66 (66)	34 (34)	100

Modifiye tüp adherans testi sonuçlarına göre 54 *C. albicans* suşunun 43 (%79,63)'ünde biyofilm oluşumu görülmüş ve 24 (%44,44)'ü (+), 15 (%27,77)'i (++), dördü (%7,4) (+++) olarak değerlendirilmiştir. 11 (%20,37) suş biyofilm oluşturmamıştır. 21 *C. parapsilosis* suşlarının 11 (%52,38)'i biyofilm oluşturmuş ve yedisi (%33,33) (+), dördü (%19,04) (++) olarak değerlendirilmiş, 10 (%47,61) suş biyofilm oluşturmamıştır. Yedi *C. tropicalis*'in tümünde (%100) biyofilm oluşumu gözlenmiş, ikisi (%28,57) (++), beşi (%71,42) (+++) olarak değerlendirilmiştir. *C. glabrata*'ya ait 12 suşun sadece birinde (%8,33) (+), üç *C. krusei*'nin biri (%33,33) (++), bir *C. kefyr* (+++), bir *C. pelliculosa* (++) , bir *C. lusitaniae* (+) değerinde biyofilm oluşumu gözlenmiştir. 66 (%66) *Candida* türünün çeşitli derecelerde değerlendirilen [33'ünde (%33) (+); 23'ünde (%23) (++) ; 10'unda (%10) (+++)] biyofilm oluşumu gözlenmiş, 34 (%34) *Candida* suşu biyofilm oluşturmamıştır.

4.2.2. Modifiye Mikroplak Testinin Sonuçları

%0,25 glukozlu beyin kalp infüzyon buyyonunda, plakların 48 saatlik inkübasyonu sonrası boyanarak spektrofotometrik olarak ölçüm yapılan *Candida* suşları biyofilm oluşumu açısından değerlendirilmiş, bulgular Tablo 4-5'de gösterilmiştir

Tablo 4-4:Modifiye Mikroplak Testi uygulanan *Candida* türlerinde biyofilm oluşumu (+,++,+++).

CANDIDA TÜRLERİ	Biyofilm Oluşumu			Toplam		Toplam n (%)
	+ n (%)	++ n (%)	+++ n (%)	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
<i>C. albicans</i>	4 (7,4)	-	2 (3,7)	6 (11,11)	48 (88,88)	54 (54)
<i>C. parapsilosis</i>	3 (14,28)	-	1 (4,76)	4 (19,04)	17 (80,95)	21 (21)
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-	12 (100)	12 (12)
<i>C. tropicalis</i>	1 (14,28)	4 (57,14)	2 (28,57)	7 (100)	-	7 (7)
<i>C. krusei</i>	1 (33,33)	-	-	1 (33,33)	2 (66,66)	3 (3)
<i>C. lusitaniae</i>	-	-	-	-	1	1 (1)
<i>C. kefyr</i>	-	-	-	-	1	1 (1)
<i>C. pelliculosa</i>	-	-	-	-	1	1 (1)
Toplam	9 (9)	4 (4)	5 (5)	18 (18)	82 (82)	100

Modifiye mikroplak testi sonuçlarına göre 54 *C. albicans* suşunun altısı (%11,11) biyofilm oluşturmuş ve dördü (%7,4), ikisi (%3,7) (+++) olarak değerlendirilmiştir. 48 (%88,88) suş biyofilm oluşturmamıştır. 21 *C. parapsilosis* suşunun dördü (%19,04) biyofilm oluşturmuş ve üçü (%14,28) (+), biri (%4,76) (+++)

olarak değerlendirilmiştir. 17 (%80,95) suş biyofilm oluşturmamıştır. 12 *C. glabrata* suşunun hiçbirinde (%100) biyofilm oluşumu gözlenmemiştir. Yedi *C. tropicalis*'in tümünde (%100) biyofilm oluşumu görülmüş, biri (%14,28) (+), dördü (%57,14) (++), ikisi (%28,57) olarak değerlendirilmiştir. Üç *C. krusei* suşunun birinde (%33,33) (+) değerinde biyofilm oluşumu gözlenmiştir. *C. lusitaniae*, *C. kefir* ve *C. pelliculosa* suşlarında biyofilm oluşumu görülmemiştir. 18 (%18) *Candida* türünde çeşitli derecelerde [dokuzunda (%9) (+); dördünde (%4) (++)]; beşinde (%5) (+++)] biyofilm oluşumu gözlenmiş, 82 (%82) *Candida* suşu biyofilm oluşturmamıştır.

4.2.3. Kongo Kırmızılı Beyin Kalp İnfüzyon Agar Testinin Sonuçları

Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agarına ekilen *Candida* suşları biyofilm oluşumu açısından değerlendirilmiş, bulgular Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

Tablo 4-5: Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi uygulanan *Candida* türlerinde biyofilm oluşumu.

CANDIDA TURLERİ	Kongo Kırmızılı Beyin Kalp İnfüzyon Testi		Toplam n (%)
	+ (%)	- (%)	
<i>C. albicans</i>	45 (83,33)	9 (16,66)	54 (54)
<i>C. parapsilosis</i>	16 (76,19)	5 (23,80)	21 (21)
<i>C. glabrata</i>	1 (8,33)	11 (91,66)	12 (12)
<i>C. tropicalis</i>	7 (100)	-	7 (7)
<i>C. krusei</i>	1 (33,33)	2 (66,66)	3 (3)
<i>C. lusitaniae</i>	1	-	1 (1)
<i>C. kefir</i>	1	-	1 (1)
<i>C. pelliculosa</i>	1	-	1 (1)
Toplam	73 (73)	27 (27)	100

Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi sonuçlarına göre 54 *C. albicans* suşunun 45'i (%83,33), 21 *C. parapsilosis* suşunun 16'sı (%76,19), 12 *C. glabrata* suşunun biri (%8,33), yedi *C. tropicalis* suşunun hepsi (%100), üç *C. krusei* suşunun biri (%33,33), *C. kefir*, *C. lusitaniae* ve *C. pelliculosa* suşlarının biri biyofilm oluşturmıştır. 100 *Candida* suşunun 73'ünde (%73) biyofilm oluşumu gözlenmiş, 27 *Candida* türü biyofilm oluşturmamıştır.

4.2.4. Antifungal Duyarlılık Deneyi (CLSI M 44-A2) Sonuçları

Candida türlerinin amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazole karşı antifungal duyarlılıklarının saptanmasında CLSI M 44-A2 disk difüzyon yöntemi kullanılmış ve bulgular Tablo 4-6’da gösterilmiştir.

Tablo 4-6: *Candida* türlerinin CLSI M 44-A2 disk difüzyon yöntemi ile antifungal duyarlılık sonuçları

Suş No	<i>Candida</i> Türleri	Amp B	Flu	Vor
1	<i>C. tropicalis</i>	Du-22mm	Di —	Di —
2	<i>C. tropicalis</i>	Du -20mm	Du -29mm	Du -30mm
3	<i>C. parapsilosis</i>	Du -21mm	Du -26mm	Du -28mm
4	<i>C. parapsilosis</i>	Du -19mm	Du -36mm	Du -42mm
5	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -30mm	Du -36mm
6	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -28mm	Du -44mm
7	<i>C. albicans</i>	Du -27mm	Du -32mm	Du -35mm
8	<i>C. albicans</i>	Du -25mm	Du -39mm	Du -46mm
9	<i>C. albicans</i>	Du -23mm	Du -38mm	Du -37mm
10	<i>C. albicans</i>	Du -19mm	Du -36mm	Du -34mm
11	<i>C. parapsilosis</i>	Du -22mm	Du -32mm	Du -46mm
12	<i>C. albicans</i>	Du -18mm	Du -37mm	Du -46mm
13	<i>C. albicans</i>	Du -24mm	Du -35mm	Du -42mm
14	<i>C. tropicalis</i>	Du -18mm	Du -30mm	Du -32mm
15	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -40mm	Du -46mm
16	<i>C. albicans</i>	Du -24mm	Du -33mm	Du -35mm
17	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -35mm	Du -38mm
18	<i>C. albicans</i>	Du -24mm	Du -32mm	Du -35mm
19	<i>C. parapsilosis</i>	Du -20mm	Du -37mm	Du -46mm
20	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -36mm	Du -44mm
21	<i>C. albicans</i>	Du -24mm	Du -34mm	Du -40mm
22	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -32mm	Du -39mm
23	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -34mm	Du -40mm
24	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -36mm	Du -44mm
25	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -36mm	Du -38mm
26	<i>C. glabrata</i>	Du -20mm	Du -27mm	Du -37mm
27	<i>C. tropicalis</i>	Du -20mm	Du -30mm	Du -34mm
28	<i>C. albicans</i>	Du -23mm	Du -28mm	Du -30mm
29	<i>C. parapsilosis</i>	Du -24mm	Du -26mm	Du -32mm

30	<i>C. glabrata</i>	Du -20mm	Du -30mm	Du -35mm
31	<i>C. parapsilosis</i>	Du -20mm	Du -30mm	Du -40mm
32	<i>C. parapsilosis</i>	Du -17mm	Du -42mm	Du -50mm
33	<i>C. glabrata</i>	Du -17mm	Di —	Di —
34	<i>C. krusei</i>	Du -17mm	Di -26mm	Du -36mm
35	<i>C. tropicalis</i>	Du -18mm	Di —	Di —
36	<i>C. parapsilosis</i>	Du -23mm	Du -35mm	Du -45mm
37	<i>C. parapsilosis</i>	Du -20mm	Du -30mm	Du -40mm
38	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -36mm	Du -40mm
39	<i>C. glabrata</i>	Du -21mm	Di —	Di —
40	<i>C. albicans</i>	Du -18mm	Di —	Di —
41	<i>C. parapsilosis</i>	Du -22mm	Du -35mm	Du -40mm
42	<i>C. albicans</i>	Du -24mm	Du -46mm	Du -48mm
43	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -40mm	Du -46mm
44	<i>C. glabrata</i>	Du -18mm	Du -20mm	Du -25mm
45	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -32mm	Du -40mm
46	<i>C. albicans</i>	Du -23mm	Du -30mm	Du -35mm
47	<i>C. krusei</i>	DBD-12mm	Di -11mm	Du -19mm
48	<i>C. parapsilosis</i>	Du -22mm	Du -36mm	Du -48mm
49	<i>C. kefyr</i>	Du -17mm	Du -36mm	Du -42mm
50	<i>C. krusei</i>	DBD-12mm	Di —	Di -13mm
51	<i>C. glabrata</i>	Du -18mm	Du -23mm	Du -26mm
52	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -36mm	Du -40mm
53	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -46mm	Du -48mm
54	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -36mm	Du -40mm
55	<i>C. glabrata</i>	Du -21mm	Du -25mm	Du -31mm
56	<i>C. parapsilosis</i>	Du -22mm	Du -35mm	Du -46mm
57	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -30mm	Du -35mm
58	<i>C. parapsilosis</i>	Du -20mm	Du -32mm	Du -42mm
59	<i>C. glabrata</i>	Du -18mm	Di —	Di —
60	<i>C. albicans</i>	Du -25mm	Du -38mm	Du -42mm
61	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -20mm	Du -46mm
62	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -30mm	Du -35mm
63	<i>C. pelliculosa</i>	Du -23mm	Du -33mm	Du -39mm
64	<i>C. glabrata</i>	Du -20mm	Di —	Di —
65	<i>C. albicans</i>	Du -18mm	Du -36mm	Du -42mm
66	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -36mm	Du -40mm

67	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -44mm	Du -48mm
68	<i>C. parapsilosis</i>	Du -20mm	Du -35mm	Du -43mm
69	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -35mm	Du -40mm
70	<i>C. glabrata</i>	Du -22mm	Du -37mm	Du -40mm
71	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -35mm	Du -40mm
72	<i>C. albicans</i>	Du -25mm	Du -40mm	Du -48mm
73	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -32mm	Du -38mm
74	<i>C. albicans</i>	Du -23mm	Di —	Du -36mm
75	<i>C. lusitaniae</i>	Du -22mm	Du -35mm	Du -40mm
76	<i>C. glabrata</i>	Du -20mm	Du -22mm	Du -28mm
77	<i>C. albicans</i>	Du -21mm	Du -40mm	Du -46mm
78	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Di —	Di —
79	<i>C. parapsilosis</i>	Du -23mm	Du -35mm	Du -40mm
80	<i>C. glabrata</i>	Du -17mm	Di —	Di -10mm
81	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -38mm	Du -46mm
82	<i>C. parapsilosis</i>	Du -21mm	Du -35mm	Du -40mm
83	<i>C. parapsilosis</i>	Du -22mm	Du -40mm	Du -46mm
84	<i>C. parapsilosis</i>	Du -25mm	Du -43mm	Du -50mm
85	<i>C. parapsilosis</i>	Du -24mm	Du -35mm	Du -44mm
86	<i>C. albicans</i>	Du -23mm	Du -42mm	Du -46mm
87	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -40mm	Du -46mm
88	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -42mm	Du -46mm
89	<i>C. tropicalis</i>	Du -17mm	Du -26mm	Du -28mm
90	<i>C. parapsilosis</i>	Du -22mm	Di —	Du -42mm
91	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -46mm	Du -50mm
92	<i>C. albicans</i>	Du -22mm	Du -36mm	Du -42mm
93	<i>C. albicans</i>	Du -23mm	Du -36mm	Du -40mm
94	<i>C. parapsilosis</i>	Du -20mm	Du -33mm	Du -40mm
95	<i>C. tropicalis</i>	Du -18mm	Di —	Di —
96	<i>C. albicans</i>	Du -16mm	Di —	Di —
97	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -26mm	Du -34mm
98	<i>C. albicans</i>	Du -17mm	Du -38mm	Du -42mm
99	<i>C. albicans</i>	Du -20mm	Du -28mm	Du -36mm
100	<i>C. albicans</i>	Du -17mm	Du -42mm	Du -46mm

(Amp B: Amfoterisin B, Flu: Flukonazol, Vor: Vorikonazol, Du: Duyarlı, DBD: Doza Bağlı Duyarlı, Di: Dirençli, —: Zon Çapı Yok)

Amfoterisin B kullanılarak yapılan disk difüzyon testinin sonuçlarına göre 54 *C.albicans*, 21 *C. parapsilosis*, 12 *C. glabrata*, yedi *C. tropicalis* ve birer *C. kefir*, *C. lusitaniae* ve *C. pelliculosa* suşlarının hepsi (%100) duyarlı olarak saptanmıştır. Üç *C. krusei* suşlarının ikisi (%66,66) doza bağlı duyarlı, biri (%33,33) duyarlı olarak belirlenmiştir. Toplam 2 (%2) *Candida* türü doza bağlı duyarlı, 98 (%98) *Candida* türü duyarlı olarak saptanmıştır.

Flukonazol kullanılarak yapılan disk difüzyon testinin sonuçlarına göre 54 *C.albicans* suşunun dördü (%7,4) dirençli, 50 (%92,59)'si duyarlı olarak saptanmıştır. 21 *C. parapsilosis* suşunun biri (4,76) dirençli, 20 (%95,23)'si duyarlı olarak saptanmıştır. 12 *C. glabrata* suşunun beşi (%41,66) dirençli, yedisi (%58,33) duyarlı olarak saptanmıştır. Yedi *C. tropicalis* suşunun üçü (%42,85) dirençli, dördü (%57,14) duyarlı olarak saptanmıştır. Üç *C. krusei* suşunun tümü (%100) dirençli olarak saptanmıştır. *C. kefir*, *C.lusitaniae* ve *C. pelliculosa* suşlarının üçü de duyarlı olarak saptanmıştır. Toplam 16 (%16) *Candida* türü dirençli, 84 (%84) *Candida* türü duyarlı olarak saptanmıştır.

Vorikonazol kullanılarak yapılan disk difüzyon testinin sonuçlarına göre 54 *C.albicans* suşunun üçü (%5,55) dirençli, 51 (%94,44)'i duyarlı olarak saptanmıştır. 12 *C. glabrata* suşunun beşi (%41,66) dirençli, yedisi (%58,93) duyarlı olarak belirlenmiştir. Yedi *C. tropicalis* suşunun üçü (%42,85) dirençli, dördü (%57,14) duyarlı olarak saptanmıştır. Üç *C. krusei* suşunun biri (%33,33) dirençli, ikisi (%66,66) duyarlı olarak saptanmıştır. *C. parapsilosis*, *C. kefir*, *C.lusitaniae* ve *C. pelliculosa* suşlarının hepsi duyarlı olarak saptanmıştır. Toplam 12 (%12) *Candida* türü dirençli, 88 (%88) *Candida* türü duyarlı olarak saptanmıştır.

Tablo 4-7: Modifiye tüp adherans testi, modifiye mikropalak testi, kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon testi, flukonazol ve vorikonazol duyarlılıkları sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi.

Suş No	<i>Candida</i> türleri	MTAT	MMT	KKBKIAT	FLU ve VOR Direnci
1	<i>C. tropicalis</i>	+++	+++	+	FLU-VOR Dİ
3	<i>C. tropicalis</i>	+++	++	+	FLU-VOR DU
9	<i>C. parapsilosis</i>	++	+	+	FLU-VOR DU
10	<i>C. parapsilosis</i>	++	+++	+	FLU-VOR DU
13	<i>C. albicans</i>	-	+++	-	FLU-VOR DU
16	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR DU

26	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
27	<i>C. albicans</i>	++	+	+	FLU-VOR DU
31	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
32	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
34	<i>C. parapsilosis</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
35	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
36	<i>C. albicans</i>	+++	+	+	FLU-VOR DU
43	<i>C. tropicalis</i>	++	+	+	FLU-VOR DU
47	<i>C. albicans</i>	+	+	+	FLU-VOR DU
48	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
49	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
50	<i>C. albicans</i>	+++	-	+	FLU-VOR DU
51	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
52	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
53	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
54	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
55	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
56	<i>C. albicans</i>	++	+	+	FLU-VOR DU
57	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
61	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
62	<i>C. tropicalis</i>	+++	++	+	FLU-VOR DU
64	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
65	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
74	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
75	<i>C. parapsilosis</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
79	<i>C. parapsilosis</i>	++	+	+	FLU-VOR DU
80	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR Dİ
86	<i>C. krusei</i>	-	-	-	FLU Dİ VOR DU
88	<i>C. tropicalis</i>	+++	++	+	FLU-VOR Dİ
93	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
95	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
96	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
97	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR Dİ
98	<i>C. albicans</i>	+	+++	+	FLU-VOR Dİ
100	<i>C. parapsilosis</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
101	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
102	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
103	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
104	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR DU

105	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
106	<i>C. krusei</i>	-	-	-	FLU Dİ VOR DU
107	<i>C. parapsilosis</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
108	<i>C. kefyr</i>	+++	-	+	FLU-VOR DU
109	<i>C. krusei</i>	++	+	+	FLU-VOR Dİ
110	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
111	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
112	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
113	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
114	<i>C. glabrata</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
115	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	+	FLU-VOR DU
116	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
117	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
118	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR Dİ
119	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
121	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
122	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
123	<i>C. pelliculosa</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
124	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR Dİ
125	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
126	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
127	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
128	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	+	FLU-VOR DU
129	<i>C. albicans</i>	-	-	+	FLU-VOR DU
130	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
131	<i>C. albicans</i>	+++	-	+	FLU-VOR DU
132	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
133	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
134	<i>C. albicans</i>	-	-	+	FLU Dİ VOR DU
135	<i>C. lusitaniae</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
136	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR DU
137	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
138	<i>C. albicans</i>	-	-	-	FLU-VOR Dİ
139	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	+	FLU-VOR DU
140	<i>C. glabrata</i>	-	-	-	FLU-VOR Dİ
141	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
142	<i>C. parapsilosis</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
143	<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	FLU-VOR DU
144	<i>C. parapsilosis</i>	+	-	+	FLU-VOR DU

145	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	+	FLU-VOR DU
146	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
147	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
148	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
149	<i>C. tropicalis</i>	+++	+++	+	FLU-VOR DU
150	<i>C. parapsilosis</i>	-	-	+	FLU Dİ VOR DU
151	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
152	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
153	<i>C. albicans</i>	++	-	+	FLU-VOR DU
154	<i>C. parapsilosis</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
155	<i>C. tropicalis</i>	++	++	+	FLU-VOR Dİ
156	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR Dİ
157	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
158	<i>C. albicans</i>	+	-	+	FLU-VOR DU
161	<i>C. albicans</i>	+++	-	+	FLU-VOR DU
163	<i>C. albicans</i>	+++	-	+	FLU-VOR DU

MTAT:Modifiye tüp adherans testi

MMT: Modifiye mikroplak testi

KKBKIA: Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi

FLU: Flukonazol

VOR: Vorikonazol

DU: Duyarlı

Dİ: Dirençli

Flukonazole ve vorikonazole duyarlı olan 84 *Candida* türü; biyofilm oluşumunu saptayan testlerden bir veya ikisi ile (+), (++) veya (+++) sonuç vermişlerdir.

Modifiye tüp adherans, modifiye mikroplak ve kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testlerinin tümü ile biyofilm oluşturduğu gözlemlenen suş sayısı 17 (%17)'dir. Beş *C. albicans* suşunun biri (%20), yedi *C. tropicalis*'in üçü (%42,85) flukonazol ve vorikonazole dirençli; dört *C. albicans* (%80) ve dört *C. parapsilosis* (%100) duyarlı bulunmuş, flukonazole intrensek dirençli olduğu bilinen tek *C. krusei* suşu aynı zamanda vorikonazole de dirençli olarak saptanmıştır.

Sadece kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi ile biyofilm olumluluğu saptanan birer *C. parapsilosis* ve *C. albicans* suşu flukonazole dirençli, vorikonazole duyarlı bulunmuş, modifiye tüp adherans testi ve kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi ile olumlu sonuç veren bir *C. albicans* suşunda flukonazol ve vorikonazol direnci belirlenmiştir.

Biyofilm oluşumu gözlenmeyen sekiz suşun beşi *C. glabrata*, ikisi *C. krusei* ve biri *C. albicans* olup; *C. glabrata*'nın ve *C. albicans*'ın flukonazol ve vorikonazole dirençli, *C. krusei*'nin flukonazole dirençli vorikonazole duyarlı olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA

Candida'lar doğada yaygın olarak bulunur ve sağlıklı kişilerin normal vücut florasında yer alırlar. Özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı infeksiyonlara yol açmaları nedeni ile büyük önem taşırlar (2). Son yıllarda *Candida* türleri ile oluşan fırsatçı infeksiyonların; invazif girişimlerin artışı, uzun süreli ve fazla antibiyotik kullanımı, uzun süreli kateter uygulanması, bağışıklığı baskılayıcı tedaviler, total parenteral beslenme, nötropeni gibi faktörlere bağlı olarak hızla artış göstermesi, buna bağlı olarak morbidite ve mortalitelerinin de yükselmesi dikkatlerin bu konu üzerine yönelmesine neden olmuştur (91).

Günümüzde 200'den fazla *Candida* türünün varlığı bilinmekle birlikte insanlardan sıklıkla izole edilen türlerin; *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* ve *C. glabrata* olduğu bildirilmiştir (1)

Candida'ların neden olduğu gerek yüzeysel gerekse sistemik hastalıklarda konak savunma sistemi kadar etkene ait virulans faktörleri de oldukça önemlidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda biyofilmlerin hastalıkların rolleri üzerine dikkat çekilmiş olup infeksiyonların %65'inin biyofilmlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (7,10).

Biyofilm oluşumu ile patojenlik arasındaki ilişki ilk defa 1982 yılında Christensen tarafından *Staphylococcus epidermidis* için tanımlanmış ve yabancı cisimlere yapışma yeteneği olan türlerin daha virülen oldukları belirtilmiştir (92). Son dönemlerde izlenen *Candida* infeksiyonlarındaki artışın, özellikle immün yanıtta sorun olan hastalarda protezler, kateterler, şantlar, kalp kapakçıkları, endotrakeal tüpler gibi implante edilen aletlerin artan oranda kullanımı ile paralellik gösterdiği vurgulanmıştır (10).

Biyofilm oluşturan bazı *Candida* türlerinin aynı zamanda antifungallere de direnç kazanması önemli bir sorun haline gelmiştir. Dolayısıyla, biyofilm kaynaklı infeksiyonların tedavisi, biyofilmlerin antimikrobiyal tedaviye azalmış duyarlılıkları nedeniyle zordur (12). Kazanılmış ya da doğal yollarla antifungallere karşı ortaya çıkan direnç söz konusu olduğunda, kullanımının artışı nedeniyle direnç gelişimi bildirilen azol grubu antifungaller akla gelmektedir (9). Yapılan bir çalışmada flukonazol

direncinin üç yıl içerisinde %7'den %12'ye yükseldiği, başka bir çalışmada ise *C. albicans* biyofilmlerinin planktonik hücrelere göre flukonazole 4000 kat daha fazla dirençli olduğu bildirilmiştir (12,93). Plastik yüzeylerde *C. albicans* biyofilmlerinin planktonik hücrelerle kıyaslandığında, amfoterisin B'ye de 20-30 kat daha fazla dirençli olduğu saptanmıştır (50). Bunun yanında biyofilmler tıbbi aletlerde fonksiyon yetersizliğine ve dolayısıyla ekonomik kayıplara da yol açmaktadır (10). Bu bilgiler doğrultusunda *Candida* cinsi'nden mayaların identifikasyonu, biyofilm oluşturma özellikleri ve bunların antifungal maddelere karşı duyarlılıklarının incelenmesi gittikçe önem kazanmaktadır.

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı'na rutin inceleme amacı ile gönderilen sistemik mikoz kuşkulu hasta örneklerinden izole edilen 100 adet *Candida* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Tür düzeyi önceden belirlenmiş ve -70°C'de bekletilen *Candida* suşlarının kontrolü bir kez daha geleneksel yöntemler [MUJ'da klamidospore, blastospore, yalancı, gerçek hif oluşumunun gözlenmesi ve API 20C AUX (BioMérieux, France) ile karbonhidratların asimilasyonu] ile yapılmış ve önceki tanımlamalar ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Pfaller ve ark. (94) 1997-2007 yıllarında yaptıkları bir surveyans çalışmasında en çok izole edilen türlerin %92 oranında *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* olduğunu, *C. albicans*'ın ilk sırada yer almakla birlikte son üç yılda azaldığını (%70,9'dan 65,3'e), *albicans* dışı *Candida*'ların sayısında ise artma görüldüğünü (*C. glabrata*: %10,2'den 11,7'ye, *C. tropicalis*: %5,4'den 8'e, *C. parapsilosis*: %4,8'den 5,6'ya) *C. krusei*, *C. lusitaniae* ve *C. kefyr* sayısında herhangi bir değişim olmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada izole edilen 100 *Candida* suşunun 54'ü (%54) *C. albicans*, 46'sı (%46) *albicans* dışı *Candida* olarak bulunmuş, *albicans* dışı *Candida*'ların ise 21'inin *C. parapsilosis* (%21), 12'sinin *C. glabrata* (%12), yedisinin *C. tropicalis* (%7), üçünün *C. krusei*, birer tanesinin de *C. kefyr*, *C. lusitaniae* ve *C. pelliculosa* (%1) olduğu saptanmıştır. İnvazif kandidoz etkeni olarak *C. albicans*'ın ilk sırada yer alması ancak *albicans* dışı *Candida*'ların da azımsanmayacak bir yüzdeyi oluşturması ve izolasyon oranları diğer çalışmaların bulguları ile uyum göstermektedir (11,55,91,94).

52 (%52) *Candida* türü kandan, 10'u BAL'dan (%10), sekizi (%8) biyopsiden, yedişer (%7) tanesi idrar ve balgamdan, beşi (%5) periton diyaliz sıvısından, üçer (%3) tanesi dışkı ve ağız içi sürüntü örneğinden, ikişer (%2) tanesi vajina salgısı ve safradan, biri (%1) ise kateter ucundan izole edilmiştir. Kandidemi etkeni olarak *C. albicans*'ın %50, *C. parapsilosis*'in %66,66 oranında izole edilmesi, %4,76 kateterden üretilen olgunun *C. parapsilosis* olması bu konudaki diğer çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (95-101).

Çalışmamızda biyofilm oluşumu modifiye tüp adherans testi, modifiye mikropalak testi ve kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi ile incelenmiştir. Uygulanması kolay, çabuk sonuç alınan, ekonomik ve sonuçların objektif olarak değerlendirilebildiği testlerin birbirleri ve diğer çalışmacıların bulguları ile benzerlikleri kıyaslanarak araştırılmıştır.

Modifiye tüp adherans testi ile yapılan çalışmalara göre Orhon ve ark. (102) modifiye tüp adherans yöntemi kullanarak yaptıkları bir çalışmada toplam 82 *C. albicans* suşunun 10 (%12,1)'unda biyofilm oluşumu gözlemlendiğini ve bunların yedisinde (+), üçünde (%3,6) (+++) sonuç aldıklarını, 72 suşta (%87,8) biyofilm oluşmadığını bildirmişler, antifungallere dirençli bulunan suşların biyofilm üretimiyle anlamlı bir ilişkilerinin bulunmadığını tespit etmişlerdir. Hilmioğlu ve ark. (103) tarafından yapılan bir çalışmada toplam 215 *Candida* suşunun biyofilm oluşumu incelenmiş, 104 (%48,4)'ünün biyofilm oluşturduğu, 111 (%51,6)'inin oluşturmadığı bildirilmiştir. Kalkancı ve ark. (91) tarafından yapılan bir çalışmada 100 klinik örnekten izole edilen *Candida* türlerinin 12 (%12) tanesinde çeşitli düzeylerde biyofilm oluşumu gösterilmiş, *albicans* dışı *Candida*'ların pozitiflik oranının ise *C. albicans* için bulunandan yüksek olduğu saptanmıştır. Karaca ve ark (95) toplam 64 *Candida* suşu ile çalışmış ve bunların 56 (%87,5)'sının biyofilm oluşturduğunu, 8 (%12,5)'inin ise biyofilm oluşturmadığını gözlemlemişlerdir. Dolapçı ve ark (104) 350 *Candida* türü ile çalışmış, 53 (%15,14)'ünün biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir. Kuzucu ve ark. (96) tarafından glukozlu beyin kalp infüzyon sıvısı (GBKIS) ile yapılan bir çalışmada toplam 104 *Candida* suşunun %52 biyofilm ürettiği, *C. albicans*'ta bu oranın (%63), *albicans* dışı *Candida*'lara göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Cevahir ve ark.nın (101) glukozlu triptik soy buyyon (GTSB) ve glukozlu sıvı Sabouraud (GSS) besiyerlerini kullanarak yaptıkları bir çalışmada toplam 126 *Candida* suşunun biyofilm oluşumu

incelenmiş, GTSB'da 50 (%39,6) ve GSS'da 42 (%33,3) suşta biyofilm oluşumu saptandığı ve bu yöntemler arasında anlamlı farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. Yücesoy ve ark.nın (11), 156 *Candida* suşu ile yaptıkları çalışmada, tüp adherans testi ile suşların 43 (%27,6)'ünün biyofilm oluşturduğu gözlenmiş ve farklı *Candida* türlerinin biyofilm oluşturma oranlarının %17-55 arasında değiştiği saptanmıştır. Yakupoğulları ve ark (105) 100 *Candida* suşu ile yaptıkları bir çalışmada %12 oranında biyofilm oluşumu gözlemişlerdir. Ballal ve ark. (97) 34 *Candida* suşu ile çalışmış ve *C. albicans*'ta biyofilm oluşumunun (%42,85), *albicans* dışı *Candida*'lara göre (%63,33) daha az olduğunu saptamışlardır. Arslan ve ark. (55) toplam 250 suşun 64 (%25,6)'ünün biyofilm oluşturduğunu gözlemlemiş ve *C. albicans*'ın biyofilm oluşturma oranının (%64,1), *albicans* dışı *Candida* türlerine göre daha az olduğunu bildirmişlerdir. Ekşi ve ark.(106) 88 *Candida* suşunu dahil ettikleri çalışmalarında 39 (%44,3) suşun biyofilm oluşturduğunu bildirmişler ve bunların sekiz (%20,15) tanesini (+++), 13 (%33,3)'ünü (++) ve 18 (%46,2)'ini (+) olarak değerlendirmişlerdir. Akyol ve ark. (98) 53 *C. parapsilosis* suşu ile yaptıkları bir çalışmada %32,1 biyofilm oluşumu saptamışlar, biyofilm oluşturan suşların %20,7'sini (+), %7,5'ini (++) ve %3,7'sini (+++) olarak değerlendirmişler, %67,9 olumsuz sonuç aldıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada modifiye tüp adherans testi sonuçlarına göre *C. albicans* suşlarının %79,63'ünde biyofilm oluşumu görülmüş ve 24 (%44,44)'ü (+), 15 (%27,77)'i (++) ve dördü (%7,4) (+++) olarak değerlendirilmiş, %20,37'si biyofilm oluşturmamıştır. 21 *C. parapsilosis* suşunun 11 (%52,38)'i biyofilm oluşturmuş ve yedisi (%33,33) (+), dördü (%19,04) (++) olarak değerlendirilmiştir. Yedi *C. tropicalis* suşunun ikisi (%28,57) (++) ve beşi (%71,42) (+++) değerinde biyofilm oluşturmıştır. 12 *C. glabrata*'nın sadece bir (%8,33) tanesinde (+) olarak değerlendirilen biyofilm oluşumu görülmüş ve dikkat çekici bulunmuş, üç *C. krusei*'nin biri (%33,33) biyofilm üretmiştir. *C. lusitaniae*, *C. kefyr* ve *C. pelliculosa* az sayıda olduğu için değerlendirilmemiştir. Modifiye tüp adherans testi ile yapılan çok sayıda çalışma incelendiğinde pozitiflik oranının %12 ile %87,5 arasında değiştiği, Kalkancı ve ark. (91)'nin, Ballal ve ark. (97)'nin çalışmalarında *albicans* dışı *Candida*'ların *C. albicans*'dan daha çok biyofilm oluşturduğu, Kuzucu ve ark. (96)'nin yaptığı çalışmada ise *C. albicans*'ın daha fazla biyofilm ürettiği belirtilmiştir. Bu çalışmanın verilerine göre %66 *Candida* türünde çeşitli derecelerde biyofilm oluşumunun saptanması, diğer çalışmalarla kıyaslandığında %50'nin üzerinde pozitiflik saptayan Karaca, Kuzucu ve ark.(95,96)'nin çalışmaları ile

kısmen benzerlik gösterdiği söylenebilir. *C. albicans*'ın biyofilm oluşturan türler arasında birinci sırada yer alması Hawser ve Douglas (33), Kuzucu ve ark. (96)'nın çalışma sonuçları ile uyumludur. Suşların %33'ünün (+) değerinde biyofilm oluşturmaları Ekşi (106) (%46,2) ve Akyol (98) (%20,7)'un sonuçlarına benzemektedir.

Yurt içi ve yurt dışında yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi modifiye mikropalak testinin kullanımı modifiye tüp adherans testi kadar yaygın değildir. Yücesoy ve ark. (11) tarafından yapılan bir çalışmada mikropalak yöntemiyle incelenen 156 *Candida* suşunun 26 (%16,7)'sının biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir. Kumar ve ark. (107) çalışmaya alınan 58 *Candida* suşunun 48 (%82,75)'inde biyofilm oluşumu gözlemlendiğini ve biyofilm oluşumunun türler arasındaki dağılımında birinci sırayı *C. parapsilosis*'in aldığını bildirmişlerdir. Demirbilek ve ark. (89) mikropalak yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada 116 *Candida* suşunun 33 (%28)'ünün biyofilm oluşturduğunu saptamışlardır. *Albicans* dışı *Candida* suşlarının biyofilm oluşturma oranının (%41), *C. albicans*'a göre (%23) daha yüksek olduğunu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu bildirmişlerdir. Tumbarello ve ark.(99) kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastalardan izole edilen 294 *Candida* suşundan 80 (%27,2)'inin biyofilm oluşturduğunu bildirilmişlerdir. *C. albicans*'ın biyofilm oluşturma oranının (22,6), *albicans* dışı *Candida* türlerine göre (%33,3) daha az olduğu bildirmişlerdir. Gültekin ve ark (108) 46 *Candida* suşu ile çalışmışlar ve bunların yarısının (%50) biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir. *C. albicans* suşlarından hiçbirinin biyofilm oluşturmadağı ve *C. parapsilosis* suşlarının hepsinin ise biyofilm oluşturduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada modifiye mikropalak testi sonuçlarına göre 18 (%18) *Candida* türünde çeşitli derecelerde [dokuzunda (%9) (+); dördünde (%4) (++)]; beşinde (%5) (+++)] biyofilm oluşumu gözlenmiş, 82 (%82) *Candida* suşu biyofilm oluşturmamıştır. 54 *C. albicans* suşunun %11,11'inde, 21 *C. parapsilosis* suşunun %19,04'unda biyofilm oluşumu saptanmıştır. 12 *C. glabrata* suşunun hiçbirinde biyofilm oluşumu görülmemesi ilginç bulunmuş, yedi *C. tropicalis*'in tümünde (%100) biyofilm oluşumu gözlenmiştir. Üç *C. krusei* suşunun %33,33 oranında biyofilm oluşumu görülmüştür. *C. lusitaniae*, *C. kefyr* ve *C. pelliculosa* suşlarında biyofilm oluşumu gözlenmemiştir. Çalışmanın sonuçları Yücesoy ve ark. (11)'nin sonuçları (%16,7) ile benzerlik göstermektedir. *C. albicans* dışındaki *Candida* türlerinin diğer çalışmacıların bulguları

gibi *C. albicans*'dan daha fazla biyofilm oluşturduğu ve *C. parapsilosis*'in önemli olduğu görülmüştür (89,99,107,108).

Kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi ile yapılan çalışmalara bakıldığında Hilmioğlu ve ark (103) 215 *Candida* suşu ile yaptıkları çalışmada 114 (%53)'ünün biyofilm oluşturduğunu, 101 (%47)'sinin oluşturmadığı bildirmişlerdir. Zer ve ark. (109)'nın çalışmalarında YBÜ'nden izole edilen 205 suşun 123 (%60)'ü biyofilm oluşturmuş, 115 *C. albicans* suşundan 62 (%53,91)'sinde, 90 *albicans* dışındaki *Candida* suşunun 61 (%67,77)'inde biyofilm oluşumu gözlenmiştir. Arslan ve ark (90) tarafından yapılan bir çalışmaya göre çalışmaya alınan 100 *C. albicans* suşunun 48 (%48)'i biyofilm oluşumu açısından pozitif bulunmuştur. Kökenler arasında en yüksek biyofilm oluşumunun idrar (%52,5) ve kan (%50) örneklerinde gözlendiği bildirilmiştir. Birinci ve ark. (100) 106 *Candida* suşu ile çalışmışlar ve 77 *C. albicans* suşunun 41 (%53,2)'ini ve 29 *albicans* dışı *Candida* suşunun 10 (%34,5)'unu biyofilm oluşumu açısından pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Yıldırım ve ark, (110) tarafından yapılan bir çalışmada, izole edilen 92 *C. albicans* suşunun 16'sının (%17) ve 40 *albicans* dışı *Candida* suşunun 13 (%33)'ünün biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi sonuçlarına göre 54 *C. albicans* suşunun 45'i (%83,33), 21 *C. parapsilosis* suşunun 16'sı (%76,19), 12 *C. glabrata* suşunun biri (%8,33), yedi *C. tropicalis* suşunun hepsi (%100), üç *C. krusei* suşunun biri (%33,33) biyofilm oluşturmuştur. Birer *C. kefyr*, *C. lusitaniae* ve *C. pelliculosa* suşu sayıca az olduğu için oluşturdukları biyofilm oranı değerlendirilmemiştir. 100 *Candida* suşunun 73'ünde (%73) biyofilm oluşumu gözlenmiş, 27 *Candida* türü biyofilm oluşturmamıştır. Test sonuçlarına göre %73 biyofilm oluşturan suşların %45'i *C. albicans*, %28'i *albicans* dışı *Candida* türleridir. *C. parapsilosis* suşlarının %76,1'i, yedi *C. tropicalis* suşunun tümü biyofilm oluşturmuştur. *C. albicans*'ın bu yöntem ile en çok biyofilm oluşturan tür olarak saptanması Zer ve ark (109), Yıldırım ve ark (110)'nın bulguları ile uyum göstermezken, Birinci ve ark. (100)'nın çalışmalarına benzemektedir.

Her üç test birbirleri ile karşılaştırıldığında modifiye tüp adherans testi ile *Candida* türlerinin %66'sı (%79,6 *C. albicans*), modifiye mikropalak testi ile %18'i (%11,11 *C. albicans*), kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi ile %73'ünde (%83,3 *C. albicans*) olumlu sonuç alınmış, modifiye tüp adherans test sonuçlarına göre

ikinci sırada biyofilm oluşturan etkenin *C. parapsilosis*, modifiye mikropalak ve kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testlerinin sonuçlarına göre *C. tropicalis* olduğu görülmüştür. Bu çalışma sonuçları diğer literatür bilgileriyle uyum içerisinde görülmektedir (88,100).

Biyofilm oluşumu incelenen suşların antifungal duyarlılıkları CLSI M44-A2 disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmaya başlarken standart yöntem olan CLSI M27-A3 ile çalışılması planlanmış, ancak malzeme temini yapılamadığı için çeşitli çalışmalarda standart yöntemler ile yüksek uyumluluk gösterdiği belirtilen disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (79). Amfoterisin B kullanılarak yapılan disk difüzyon testinin sonuçlarına göre toplam 2 (%2) *Candida* türü doza bağlı duyarlı, 98 (%98) *Candida* türü duyarlı olarak saptanmış, dirençli suş görülmemiştir. Çalışmaların çoğunda amfoterisin B direnci bildirilmemiş olup, bu çalışma sonuçlarının, araştırmacıların verilerini destekler nitelikte olduğu görülmüştür (55,108). Arendrup ve ark (111), Pfaller ve ark (94,112,113,114)'nın çeşitli yıllarda yaptıkları çalışmalarda *C. albicans*'ın flukonazole direnç durumunda önemli bir değişiklik olmadığı, ancak *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. rugosa*, *C. norvegensis* ve *C. inconspicua* gibi dirençli *albicans* dışı *Candida* türlerinin yıllar içerisinde beş-on kat artış gösterdiği bildirilmiştir (*C. parapsilosis*: %2,5'dan 3,6'ya, *C. lusitaniae*: %2,9'dan 6'ya). *C. kefyr* (%50 direnç azalması), *C. glabrata* ve *C. krusei* dışında ($\leq$ %75 azalmış duyarlılık) diğer tüm türlerde %90,2 duyarlılık saptanmıştır. Flukonazole direnç gösteren %30 civarında *Candida* türünün vorikonazole duyarlı olduğu, vorikonazol duyarlılığının, flukonazolden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (%94,8) (112,114). Aynı süveyans çalışmasında vorikonazol direncinin son üç yılda artış gösterip %3'e ulaştığı (*C. lipolytica*; %0,0'dan 11,1'e, *C. norvegensis*; %0,0'dan 6,9'a) *C. krusei* direncinin <%10 olarak belirlendiği (genellikle %4,5) bildirilmiştir. *C. krusei*'nin flukonazole intrensek dirençli olduğu, MİK değeri ne olursa olsun kesinlikle duyarlı sayılamayacağı bir kez daha yinelenmiştir (113). Bu çalışmada flukonazol kullanılarak yapılan disk difüzyon testinin sonuçlarına göre 16 (%16) *Candida* türü dirençli (*C. albicans*: %25, *C. glabrata*: %31,25, *C. tropicalis* ve *C. krusei*: %18,75, *C. parapsilosis*: %6,25), 84 (%84)'ünün duyarlı olduğu belirlenmiş, vorikonazol kullanılarak yapılan disk difüzyon testinin sonuçlarına göre ise 12 (%12) *Candida* türünün dirençli (*C. albicans* ve *C. tropicalis*: %25, *C. glabrata*: %41,66, *C. krusei*: %8,33), 88 (%88)'inin duyarlı olduğu gösterilmiştir.

C. albicans suşlarının flukonazol ve vorikonazol direnci %25 olarak saptanmıştır. *C. glabrata* flukonazole %31,25, vorikonazole %41,66 direnç oluşturmuş, *C. tropicalis*'in flukonazol direnci %18,75, vorikonazol direnci %25 olarak belirlenmiştir. *Albicans* dışı *Candida* suşlarının, *C. albicans*'a kıyasla literatürde belirtildiği gibi daha yüksek oranda direnç geliştirdiği dikkati çekmiştir.

Verilerimize göre flukonazol direncinin literatürde %10 civarında belirlenen orandan fazla bulunduğu ve diğer sonuçlara kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Aynı zamanda %88 olarak saptanan vorikonazol duyarlılığı da nispeten düşük olup, genelde dirençlilik oranı çalışmalarda $\leq$ %10 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada vorikonazol direnci %12 olarak belirlenmiştir. Ancak bir çalışmada neonatal yoğun bakım odasında bizim çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde %13,8 vorikonazole direnç saptanmış, hematoloji-onkoloji ve dermatoloji bölümlerinde bu çalışmadaki %88'den daha düşük olmak üzere %80'den az izolatın duyarlı olduğu gösterilmiştir (94). Literatürde <%10 (genelde 4,5) olarak bildirilen *C. krusei*'nin vorikonazol direnci bu çalışmada da %8,33 olarak saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar bizim bulgularımızla uyum içerisinde görünmektedir.

Flukonazole duyarlı 84 suş, aynı zamanda vorikonazole de duyarlı, flukonazole dirençli 4 suş (ikisi *C. krusei*, birer *C. albicans* ve *C. parapsilosis*) vorikonazole duyarlı bulunmuştur. Flukonazole dirençli suşlardan çoğunun potensi yüksek ve geniş bir spektrum aktivitesine sahip ama flukonazolden daha az aktif olan vorikonazole duyarlı olması bu konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalara benzemektedir (94). Flukonazole; hatta bazı suşları vorikonazole karşı azalmış duyarlılığa sahip, seyrek görülen türlerin zaman içinde immün sistemi baskılanmış hastalar açısından yaşamsal öneme sahip olabileceği bazı çalışmalarda vurgulanmıştır (94). Dolayısı ile bu özellikleri taşıyan izolatların ve hastaların belirli aralıklarla ciddi izleminin yapılması gerekmektedir.

Flukonazol ve vorikonazol arasında çapraz direnç ve kuvvetli bir korelasyon bulunduğu, flukonazole duyarlı tüm izolatların vorikonazole de duyarlı olduğu bildirilmiştir (112). Bu çalışmada flukonazol ve vorikonazol duyarlılığı ve direnci gösteren suşlar sırasıyla %84, %88, %16 ve %12 oranındadır. Bu sonuçlar suşlar arasında çapraz reaksiyon varlığını düşündürmektedir.

Bazı çalışmacılar antifungallere dirençli olarak saptadıkları suşların biyofilm üretimiyle anlamlı bir ilişkilerinin bulunmadığını bildirmişlerdir (102).

Bu çalışmada tüp adherans testi ile çeşitli derecelerde biyofilm oluşturan suşların 60'ı flukonazole ve vorikonazole duyarlı, 6'sı flukonazole ve vorikonazole dirençli; modifiye mikroplak testi ile suşların 13'ü flukonazole ve vorikonazole duyarlı, 5'i flukonazole ve vorikonazole dirençli; kongo kırmızılı beyin kalp infüzyon agar testi ile 65'i flukonazole ve 67'si vorikonazole duyarlı, 8'i flukonazole, 6'sı vorikonazole dirençli bulunmuştur. Her üç test ile de pozitiflik saptanan, flukonazol ve vorikonazole dirençli suşların güçlü bir patojeniteye sahip olma olasılığının yüksek olduğu düşünülebilir, ancak biyofilm oluşturan veya oluşturmeyen bazı suşlarda antifungal direnç ile ilgili çelişkili bulguların saptanması biyofilm ve antifungal direnç ilişkisinin anlamlılığı konusunda kuşkulara neden olmaktadır.

Sonuç olarak kandidoz patogenezinde önemli yeri olan ve biyofilm oluşturan mantarlar konusunda kapsamlı çalışmalara yer verilmesi, in vivo araştırmaların ve biyofilm ile ilişkili gen ve gen ürünlerinin analiz çalışmalarının hızlandırılması, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalara uygulanacak doğru ve erken tedavi açısından son derece yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Merz GW, Hay JR. Editors. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Vol. 4. Medical Mycology. New York: Oxford University Pres, Inc. ; 2005.
2. Murray P.R, Baron E.J, Pfaller M.A. Editors *Manual of Clinical Microbiology 9th ed.* Washington DC: Amerikan Society for Microbiology; 2007.
3. Arman D, Odabaşı Z. Editörler. İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Dizisi: Fungal İnfeksiyonlar ve Tedavisi Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2009.
4. William E.D, Peter GP. Editors. *Clinical Mycology.* New York: Oxford University Pres; 2003.
5. Richardson M D, Warnock D.V. *Fungal Infection, Diagnosis and Management 3th ed.* Oxford: Blackwell Science, 2003.
6. Kuştımur S. *Candida*'da virulans faktörleri. İçinde. Tümbay E, İnci R, Hilmioğlu S, Aydemir İ. Editörler. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, 4–6 Mayıs 1999, Kongre Kitabı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1999: 145–150.
7. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. *Candida*'ların patojenlik belirtgenleri. *Cerrahpaşa J Med.* 2000; **31**: 172–186.
8. Blankenship JR, Mitchell AP. How to build a biofilm: a fungal perspective. *Curr Opin Microbiol* 2006; **9**: 588–594.
9. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2004; **10**: 14–19.
10. Doluca M. *Candida* biyofilm infeksiyonlarında güncel bilgiler. 34. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Girne, 7–11 Kasım 2010, Kongre Kitabı, İstanbul, 2010; 44–46.
11. Yücesoy M, Karaman M. *Candida* türlerinin biyofilm üretimi ve antifungal duyarlılık paternleri. *Mikrobiyol bült.* 2004;**38**: 91–98.
12. Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, Wickes BL, Lopez-Ribot B. Investigation of multidrug efflux pumps in relation fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemoth* 2002;**49**: 973–980.
13. Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y. *Candida* Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Kongre Kitabı, Eskişehir: Ogü Basımevi; 2002.

14. Rippon JW. *Medical Mycology the pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1988; 532–582.
15. Kwon-Chung KJ, Bennet JE. *Medical Mycology*. Philadelphia. Lea&Febiger, 1992.
16. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Editors. *Principle and Practise of Infectious Disease 5th ed.*. New York: Churchill Livingstone; 2004.
17. Bialkova A, Subik J. Biology of the pathogenic yeast *Candida glabrata*. *Folia Microbiol.*2006; **51**, 3–20.
18. Boekhout T, Gueidan C, Hoog S, Samson R, Varga J, Walther G. Fungal taksonomy: New developments in medically important fungi. *Current Fungal Infection Reports* 2009;3: 170–178.
19. Broooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. *Jawetz, Melnick &Adelberg's Medical Microbiology 25th ed.*. USA: McGraw-Hill Companies Inc. ; 2010.
20. Budka D. Candida - Myth and reality. Erişim 02. 08. .2011. <http://www.nutritionlondon.net/13/CANDIDA---Myth-and-Reality.html>
21. Bachewich C. Role of hyp A in *Candida albicans*. Erişim 14.05.2011, The University of Saskatchewan.<http://www.usask.ca/biology/kaminskyj/collab.html>
22. Kaplan W. Public Health Image Library. 1969. Erişim. 14.05.2011. Centers for Disease Control and Prevention.<http://phil.cdc.gov/phil/details.asp>.
23. Nishimura K. Erişim. 14.05.2011. Chiba University Repository. <http://mitizane.ll.chiba-u.jp/meta-bin/mt-pdetail.cgi?cd=00034909>.
24. Willke AT, Çerikcioğlu N. *Candida Türleri*. İçinde Willke AT, Söyletir G, Doğanay M. Editörler. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2 Etkenlere Göre İnfeksiyonlar*. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002.
25. Deacon JW. *Fungal Biology 4th ed*. ABD: Blacwell Publishing; 2006.
26. Yiğit N, Benli M. Maya hücre duvar yapısının dinamikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi* [serial online]. 2005; **03** (03): 11–17. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050303.pdf
27. Walker MW. *Yeast Physiology and Biotechnology*. England: John Wiley and Sons Ltd.; 1998.
28. Latgé JP. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. *Mol Microbiol* 2007; **66** (2): 279–290.

29. Kuştimur S. *Candida* patogenezinde rol oynayan faktörler. *Mikrobiyoloji Bült.* 1994;**28** (2):175–181.
30. Gow NAR. Yeast-hyphal dimorphizm. In: Gow NAR, Gadd GM. Editors. *The Growing Fungus*. London: Chapman and Hall; 1995. pp. :403–422.
31. Culter JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu. Rev. Microbiol.* 1991; **45**: 187–218.
32. Çerikcioğlu N, Kotiloğlu E, Alaçam R. *Candida* acid proteinase: Its role in virulence. *Türk J. Dermatol.* 1995; **1–2**; 50–53.
33. Tobudic S, Kratzer C, Lassnigg A, Presterl E. Antifungal susceptibility of *Candida albicans* in biofilms. *Mycoses* [web page on the Internet]. 28 July 2011, Erişim Tarihi 08.08.2011, Wiley Online Library, [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1439-0507/earlyview](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1439-0507/earlyview).
34. Baillie GS, Douglas LJ. Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilms. *J Med Microbiol* 1999; **48**: 671–679.
35. Hawser SP, Baillie GS, Douglas J. Production of extracellular matrix by *Candida albicans* biofilms. *J Med Microbiol* 1998; **47**: 253–256.
36. Nikawa H, Nishimura H, Hamada T, Yamashiro H, Samaranayake LP. Effects of modified pellicles on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces. *Mycoses* 1999; **42**: 37–40.
37. Ramage G, Mowat E, Jones B, Williams C, Lopez-Ribot J. Our current understanding of fungal biofilms. *CRM*. 2009; **35** (4): 340–355.
38. Xu Y, Ambudkar I, Yamagishi H, Swaim W, Walsh TJ, O'Connell B. Histatin 3-mediated killing of *Candida albicans*: effect of extracellular salt concentration on binding and internalization. *Antimicrobial Agents and Chemother* 1999; **43**: 2256–2262.
39. Branchini ML, Pfaller MA, Rhine-Chalberg J. Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol* 1994;**32**: 452–456.
40. Andes D, Nett J, Oschel P, Albrecht R, Marchillo K, Pitula A. Development and characterization of an in vivo central venous catheter *Candida albicans* biofilm model. *Infect Immun* 2004; **72** (10): 6023–6031.
41. Katragkou A, Kruhlak MJ, Simitsopoulou M, Chatzimoschou A, Taparkou A, Cotten CJ et. al. Interactions between human phagocytes and *Candida albicans*

- biofilms alone and in combination with antifungal agents. *J Infect Dis*. 2010; **201** (12): 1941–1949.
42. Willke A. Kandidemi: nasıl değerlendirilmeli ne yapılmalı. *İnfeks Derg* 2007; **21**: 117–122.
43. Susever S. İnvazif mantar infeksiyonlarının tanımlanmasında moleküler yöntemlerin önemi; uygulanması ve geleneksel yöntemler ile karşılaştırarak değerlendirilmesi. Doktora tezi. İstanbul; 2006.
44. Wingard JR, Anaissie EJ. *Fungal Infections in the Immunocompromised Patient* New York: Taylor and Francis Group; 2005.
45. Horan T, Culver D, Jarvis W, Jarwis W, Emmori G, Banerjee S, Martone W, Thornsberry C. Pathogens causing nosocomial infections: preliminary data from the National Nosocomial Infections Surveillance System. *Antimicrob Newsletter* 1988; **5**: 65–67.
46. Sönmez E, Özerol Hİ, Şahin K. Hastane infeksiyonları ve infeksiyon kontrolünde klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının rolü. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1996; **3**(3): 245–256.
47. Yaylı G, Gürdal H, Duran A. Bir üniversite hastanesinde 1998–2000 yılları arasında saptanan hastane infeksiyonları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; **33**: 57–60.
48. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Hastane kaynaklı (nozokomiyal) mantar infeksiyonlarının epidemiyolojisi. *Cerrahpaşa J Med* 2001; **32**: 259–269.
49. Cox GM, Perfect JR. Fungal infections. *Curr Opin Infect Dis* 1993; **6**: 422–6.
50. Özcan Keçeli S. Tıbbi gereçlerle ilişkili *Candida* biyofilm ve enfeksiyonları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; **27**: 589–600.
51. Pfaller M, Messer S, Dikeman A. Species distribution of *Candida* bloodstream infection isolated by geographic regions. *Clin Infect Dis* 2004; **10** (Suppl 1):11–23.
52. Ener B. İnvaziv fungal infeksiyonların epidemiyolojisi. *Hastan İnfeks Derg* 2007; **11**: 5–7.
53. Ener B. Fungal infeksiyon etkenlerinin laboratuvar tanısı. *Hastan İnfeks Derg* 2007; **11**: 211–221.
54. Yeğenoğlu Y. İnvaziv mantar hastalıklarının mikolojik tanısı. *İst Tıp Fak Derg* 2007; **70**: 23–28.

55. Arslan A. *Candida* türlerinde subinhibitör konsantrasyonda antifungal ilaç uygulamalarının slime faktör oluşumuna etkileri. Yüksek lisans tezi. Afyonkarahisar; 2007.
56. http://konimex.com/apilab/img/strip/API_20_C_AUX_NEG.jpg
57. 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; **43** (11): 5768–5770.
58. Hilmioglu-Polat S. Sık görülen sistemik mikozlarda serolojik tanı. *İnfeks Derg* 2007; **21**: 63–67.
59. Eser K, Bennet JW. Editors. *The Mycota* Germany: Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co K, 2010.
60. Ener B. Fungal infeksiyonların tanı ve izlemindeki yenilikler. *ANKEM Derg* 2006; **20** (ek 2): 27–37.
61. Uzun Ö. Preemptif antifungal tedavi. *ANKEM Derg* 2007; **21** (ek 2): 220–223.
62. Arda B. İnvaziv mantar infeksiyonu tanısında kullanılan radyolojik ve serolojik testerle ilgili tanımlar. *ANKEM Derg* 2009; **23** (ek 2): 122–125.
63. Kuştımur S, Kalkancı A. Editörler. 2. Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19–21 Haziran 2001) Kongre Kitabı, Ankara: Sistem Ofset, 2001.
64. Kuştımur S. Antifungal duyarlılık testleri İçinde. Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Güneş kitabevi, Ankara, 1999; 1159–1166.
65. Voss A. Therapeutic approach to the patient with Candidemia. *Clin Microbiol Infect* 1999; **5**, 2S51-2S57.
66. Yeğenoğlu Y, Uzun M. Antifungal ilaçlar. İçinde. Bozkaya E. Editör. *İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitabı. Tıbbi Mikrobiyoloji 2*. İzmir: Nobel Kitabevleri, 2002. s:502-509.
67. Pauw B. Is there a need for new antifungal agents? *Clin Microbiol Infect* 2000; **6**: 23–28.
68. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Antifungallerin sistemik mantar enfeksiyonlarında kullanımı ve duyarlılık deneyleri: Genel yönlendirme. *Cerrahpaşa J Med* 2002; **33**: 261–280.

69. Arıkan S. Lipozomal nistatin, ekinokandinler ve sordarinler. İçinde. Kuştimur S, Kalkancı A. Editörler. 2. *Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19–21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara: Sistem Ofset, 2001. s: 149–154.
70. Mathema H, Cross E, Dun E, Park S, Bedel J, Slade B ve ark. Prevalence of vaginal colonization by drug-resistant *Candida* species in college-age women with previous exposure to over-the-counter azole antifungals. *CID* 2001; **33**: 22–26.
71. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. Terbinafin ile flukonazol kombinasyonunun *Candida albicans* kökenlerine karşı in vitro etkisi. *Turkish J Infect* 2003; **17** (1): 71–75.
72. Kasper DL, Fauci AS. *Harrison's Infectious Diseases*. USA: The McGraw Hill Companies Inc., 2010.
73. Pabuççuoğlu U. *Kandidiazis. Mikoşlar, Patogenez ve Patoloji*. İzmir: Güven ve Nobel Tıp Kitabevi, 2000.
74. Kalkancı A. Yeni antifungaller ve direnç mekanizmaları. İçinde. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27–30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı, Bodrum, 2003: 272–284.
75. Koç N. Ülkemizde antifungal direnç. İçinde. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27–30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı, Bodrum, 2003: 285–300.
76. Çerikçioğlu N. Antifungal duyarlılık testleri. İçinde. 7. *Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı*; 13–15 Nisan, 2006, İstanbul, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 54, 2006: 93–104.
77. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved Standard-third edition. CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, 2008.
78. Lee SC, Lo HJ, Fung CP, Lee N, See LC. Disk diffusion test and E-test with enriched Mueller- Hinton agar for determining susceptibility of *Candida* species to voriconazole and fluconazole. *J Microbiol Immunol Infect* 2009; **42**: 148–153
79. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved Standard-second edition.

- CLSI document M44-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, 2009.
80. Poyraz Ö. Fırsatçı enfeksiyon oluşturan mantarlar. *Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji*. Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları; 2006: 129–152.
 81. May JL, King A, Warrer CA. Fluconazole disk diffusion testing the routine laboratory. *J Antimicrob Chemother* 1997; **40**: 511–516.
 82. Espinel-Ingroff A. Standardized disk diffusion method for yeasts. *Clinical Microbiology Newsletter* 2007; **29**: 97–100.
 83. Kirkpatrick WR, Turner TM, Fothergill AW. Fluconazole disk diffusion susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1998; **36**: 3429–3432.
 84. Barry AL, Brown SD. Fluconazole disk diffusion procedure for determining susceptibility of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1996; **34**: 2154–2157.
 85. Lass-Flörl C. Invasive fungal infections in pediatric patients: a review focusing on antifungal therapy. *Expert Rev Anti-Infe* 2010; **8** (2): 127–135.
 86. Keskin K. Yeni bir antibiyotik duyarlılık testi: E Test. İçinde. Ağaçfidan A, Badur S, Külekçi G. Editörler. XXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, 7–10 Mayıs 1996, Kongre Kitabı, , İstanbul: Turgut Yayıncılık, 1996: 48–51.
 87. Rodriguez-Tudela JL, Berenguer J, Martinez-Suarez JV, Sanchez R. Comparison of a spectrophotometric microdilution method with RPMI–2 % glucose with the National Committee for Clinical Laboratory Standards Reference Macrodilution Method M27-P for in vitro susceptibility testing of amphotericin B, flucytosine, and fluconazole against *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; **40**: 1998–2003.
 88. Gökçe G, Çerikçioğlu N, Yağcı A. Acid proteinase, phospholipase, and biofilm production of *Candida* species isolated from blood cultures. *Mycopathologia*. 2007; **164** (6):265–269.
 89. Demirbilek M, Timurkaynak F, Can F, Azap Ö, Arslan H. Hastane kaynaklı *Candida* türlerinde biyofilm oluşumu ve antifungal duyarlılık paternleri. *Mikrobiyol Bült* 2007; **41**: 261–269.
 90. Arslan U, Fındık D. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. *İnfeks Derg* 2003; **17** (4): 471–481.

91. Kalkancı A, Yalınay Çırak M, Mansuroğlu H Kuştımur S. *Candida* türlerinde slaym faktör belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1999; 29: 183–185.
92. Gürdoğan K, Dizbay M, Aktaş F. Kan kültürlerinden izole edilen koagülaz negatif stafilokoklarda slime üretiminin dört farklı yöntemle araştırılması ve slime yapımı ile antimikrobiyal duyarlılık ilişkisi. *Flora* 1999; 4 (3): 195–199.
93. Kanafani ZA, Perfect JR. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *CID* 2008; 46 (1): 120–128.
94. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V et. al. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study, 1997 to 2007: a 10,5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol* 2010; 48 (4): 1366–1377.
95. Karaca N, Koç NA, Karagöz S. Kan ve vajen örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin slime aktiviteleri *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2001; 31: 224–226.
96. Kuzucu Ç, Çizmecı Z, Durmaz B. *Candida* türlerinde biyofilm ve fosfolipaz aktivitesinin saptanması. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2003; 60 (3): 73–76.
97. Ballal VM, Ballal M. Biofilm as virulence marker in *Candida* isolated from blood. *World Journal of Medical Sciences* 2007; 2 (1): 46–48.
98. Akyol V, Çerikçioğlu N. *Candida* parapsilosis klinik izolatlarının morfoloğiplendirmesi, genotiplendirmesi ve farklı morfoloğipleride bazı virölans faktörlerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44: 605–617.
99. Tumbarello M, Posteraro B, Trecarichi EM, Fiori B, Rossi M, Porta R ve ark. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *J Clin Microbiol* 2007; 45 (6): 1843–1850.
100. Birinci A, Çekiç Cihan Ç, Bilgin K, Acuner Ç, Durupınar B. *Candida* türlerinde slime üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; 35: 163–166.
101. Cevahir N, Demir M, Mete E, Kaleli İ. *Candida* suşlarında farklı yöntemlerle slime üretiminin araştırılması. *İnfeks Derg* 2003; 17 (1): 67–70.

102. Orhon H, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Tünger Ö, Arısoy Sivrel A. İnfeksiyon etkeni olan *Candida albicans* suşlarında slime üretimi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1998; **28**: 103–106
103. Hilmioğlu S, İlkit M, Çavuşoğlu C, Aydemir Ş, Tümbay E. *Candida* kökenlerinde slaym (slime) üretiminin üç ayrı yöntemle gösterilmesi ve slaym üretiminin kristal viyole reaksiyonu ile ilişkisi. *İnfeks Derg* 1999; **13** (2): 183–186.
104. Dolapçı İ, Tekeli A. Çeşitli *Candida* Türlerinde Slime faktörü yapımının araştırılması. *Mikrobiyol Bült* 2002; **36**: 323–328.
105. Yakupoğulları Y, Toraman Aşçı Z. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* kökenlerinde slime faktörü üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004; **34**: 178–181.
106. Ekşi F, Sözen E, Bayram A, Karşılıgil T, Balcı İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında slime üretimi ve hemolitik aktivitenin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2008; **38** (1): 27–32.
107. Kumar Girish CP, Menon T. Biofilm production by clinical isolates of *Candida* species. *Med Mycol* 2006; **44**: 99–101.
108. Gültekin B, Eyigör M, Tiryaki Y, Kırdar S, Aydın N. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarında antifungal duyarlılığın bazı virülans faktörlerinin araştırılması ve RAPD-PCR ile genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011; **45** (2): 306–317.
109. Zer Y. Yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen *Candida*'ların tiplendirilmesi, slime üretimi ve antifungal duyarlılıkları. Uzmanlık tezi. Gaziantep; 2001.
110. Yıldırım M, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Koldaş K, Yetener V, Balaban N. İnfeksiyon etkeni olarak izole edilen *Candida albicans* ve non-*albicans* suşlarındaki bazı virülans faktörlerinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2009; **39** (3–4): 62–68.
111. Arendrup MC, Park S, Brown S, Pfaller M, Perlin DS. Evaluation of CLSI M44-A2 disk diffusion and associated breakpoint testing of caspofungin and micafungin using a well-characterized panel of wild type and fks hot spot mutant *Candida* isolates. *Antimicrobial Agents and Chemother* 2011; **55** (5): 1891–1895.

112. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Meis JF, Gould IM, et. al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance study, 1997 to 2005: an 8,5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J. Clin. Microbiol.* 2007; **45**: 1735–1745.
113. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA, et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. *J. Clin. Microbiol.* 1998; **36**: 1886–1889.
114. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Meis JF, Gould IM, et. al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance study, 1997 to 2005: an 8,5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J. Clin. Microbiol.* 2007; **45**: 1735–1745.

ETİK KURUL KARARI



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



Sayı : 343

Tarih : 13.02.2011

Konu : Prof. Dr. Yıldız YEĞENOĞLU hk,

Sayın Prof. Dr. Yıldız YEĞENOĞLU
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi
İlgi : 25.01.2011 tarihli 101 sayılı yazınız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yük. Lis. Öğr. Didem ÖZPERÇİN'in yürüteceği 2011/231-475 dosya numaralı "Klinik Örneklerden Soyutlanan Candida Türlerinde Biyofilm Oluşumu Ve Bazı Antifungallere Duyarlılıklarının İncelenmesi " başlıklı tez çalışması kurulumuzun 04.02.2011 tarihli 03 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.
Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağiz ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	X	
	SİGORTA		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ		
	İLAN		
	YILLIK BİLDİRİM		
	SONUÇ RAPORU		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ		
	DİĞER		İndeks, Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 03	Tarih : 04.02.2011
	Prof. Dr. Yıldız YEGENOĞLU ve Yük. Lis. Öğr. Didem ÖZPERÇİN'in koordinatörlüğü ve sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen tez başvuru dosyası ve araştırma ile ilgili belgeler gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	İstanbul Üniversitesi İnsan Denekler Üzerinde Yürütülecek Bilimsel Araştırmalar ve Etik Değerlendirme Kurulları Yönergesi
---------------	---

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	EX	K	E	H X	EX	H	
Prof.Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E	K X	E	H X	EX	H	
Prof.Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	EX	K	E	H X	EX	H	
Prof.Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E	K X	E	H X	E	H X	T.Katılmadı.
Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	EX	K	E	H X	EX	H	
Prof.Dr. Pınar SAIĞ	Onkoloji	İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü	E	K X	E	H X	E	H X	T.Katılmadı.
Uzm.Dr. Ahmet Rıza URAS	Biyokimya	Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araş.Hast.Biyokimya	EX	K	E	H X	EX	H	
Doç.Dr. H. Hanzade DOĞAN	Deontoloji	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	K X	E	H X	E	H X	T.Katılmadı.
Prof.Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E	K X	E	H X	EX	H	
Doç.Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araş.Hast.İç Hast.1.Dahiliye Kliniği	EX	K	E	H X	EX	H	
Prof.Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Şişli Etfal E. ve Arş. Hst	EX	K	E	H X	E	H X	T.Katılmadı.
Prof.Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi	EX	K	E	H X	E	H X	T.Katılmadı.
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E	K X	E	H X	EX	H	
Prof.Dr. Demir TIRYAKI	Biyofizik	Emekli	EX	K	E	H X	EX	H	
M. Kerim AKMAN	İİBF İktisat bölümü	Özel (Ekonomist)	EX	K	E	H X	EX	H	

* :Araştırma ile İlişki
 ** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Didem	Soyadı	Özperçin
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	11/01/1985
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	42106535994
Email	didemozpercini2@gmail.com	Tel	05542766050

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Özel İstanbul Ar-El Koleji	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) İ.Ü. YABANCI DİL SINAV Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi		71,25

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	73,017	78,534	76,293
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Word	İyi
Microsoft Excel	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**Özel İlgi Alanları (Hobileri):**