

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

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA GLABRATA
SUŞLARININ
AMFOTERİSİN B, FLUKONAZOL VE ITRAKONAZOLE
İN VİTRO DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI**

157946

Dr. Hüseyin AVCILAR

**Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetmeliğinin Mikrobiyoloji Programı için öngördüğü
DOKTORA TEZİ Olarak Hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sevtap ARIKAN**

ANKARA

2004

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne:

Bu çalışma jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Programında Doktora Programı Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı:**Prof. Dr. Sevtap Arıkan
(Hacettepe Üniversitesi)****Üye:****Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi
(Hacettepe Üniversitesi)****Üye:****Prof. Dr. Ruhi Alaçam
(Hacettepe Üniversitesi)****Üye:****Prof. Dr. Sibel Ergüven
(Hacettepe Üniversitesi)****Üye:****Prof. Dr. Aydın Karaarslan
(Ankara Üniversitesi)****ONAY :**

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.



**Prof. Dr. Hakan ORER
Enstitü Müdürü**

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca bilgi ve yol göstericiliğinden istifade ettiğim Sayın Prof. Dr. Ayfer Günalp'e, Sayın Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi'ye, Sayın Prof. Dr. Rubi Alaçam'a, Tez DanıŐmanım Sayın Prof. Dr. Sevtap Arıkan'a, derslerini takip ettiğim değerli hocalarıma, benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen Mikoloji Laboratuvarı alıŐanları Uzman Dr. Sayın Banu Sancak'a, Labaratuvar teknisyeni Sayın Serpil zyaŐar'a içtenlikle teşekkür ederim.



ÖZET

Avcılar, H., Klinik örneklerden izole edilen *C. glabrata* suşlarının amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazole in vitro duyarlılığının araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2004. Son yıllarda *Candida* cinsi mantarlara bağlı gelişen enfeksiyonların görülme sıklığında artış kaydedilmiştir. *C. albicans*'ın görülme sıklığı azalırken non-*albicans Candida* türlerinin görülme sıklığında artış meydana gelmiştir. *C. glabrata*, non-*albicans Candida* türleri içinde en sık saptanan türlerdendir. *C. glabrata* için çeşitli antifungal ilaçlara saptanan duyarlılık oranları, diğer *Candida* türlerine göre farklı olup antifungal direnç oranları diğer *Candida* türlerine göre daha yüksektir. Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri'nde 1996-2003 yılları arasında tedavi gören olgulardan izole edilen 134 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazole in vitro duyarlılık durumları araştırılmıştır. Suşların 120'si (%89,5) erişkin, 14'ü (%10,5) çocuk hastalardan izole edilmiştir. Suşların izolasyonu ve tanımlanması standart mikolojik yöntemlerle gerçekleştirilmiş, antifungal duyarlılık testleri için NCCLS (M27-A2) referans mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. *C. glabrata* suşlarının 24 saat inkübasyon sonunda amfoterisin B MİK aralığı 0,5-4 µg/ml, MİK₅₀, 2 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml, 48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı 2-4 µg/ml, MİK₅₀, 2 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml bulunmuştur. *Candida glabrata* suşlarının, 24 saat inkübasyon sonunda, %97,1'nin flukonazole duyarlı (S), %2,9'nun doza bağlı duyarlı (S-DD) olduğu saptanmıştır. Bu inkübasyon süresinde flukonazole dirençli suşa rastlanmamıştır. *C. glabrata* suşlarının 48 saat inkübasyon sonunda %94'ü flukonazole duyarlı (S), %5,2'sinin doza bağlı duyarlı (S-DD) ve %0,8'inin ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır. *C. glabrata* suşlarının, 24 saat inkübasyon sonunda %20,9'u itrakonazole duyarlı (S), %73,1'i doza bağlı duyarlı (S-DD) ve %6'sı ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır. Kırksekiz saat inkübasyon sonunda suşların %0,7'si itrakonazole duyarlı (S), %62,2'si doza bağlı duyarlı (S-DD) ve %36,5'i ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar hastanemizden izole edilen *C. glabrata* suşlarında flukonazol direncinin çok nadir, itrakonazol direncinin ise yüksek olduğunu, itrakonazole dirençli suşların çoğunun ise flukonazole duyarlı olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Candida glabrata*, amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, in vitro duyarlılık.

ABSTRACT

Avçılar H., In vitro susceptibility of clinical isolates of *C. glabrata* to amphotericin B, itraconazole and fluconazole, Hacettepe University Health Sciences Institute PhD Thesis in Microbiology, Ankara, 2004. In recent years, there has been an increase in the incidence of fungal infections due to *Candida* species. While the incidence of *C. albicans* are decreasing, other *Candida* species are emerged as opportunistic pathogens. Among non *albicans* *Candida* species, *Candida glabrata* is the most frequently isolated species. The in vitro susceptibilities of antifungal drugs against *C. glabrata* were higher than other *Candida* species. In this study, the in vitro activity of amphotericin B, itraconazole and fluconazole against 134 *C. glabrata* strains were tested which were isolated from clinical samples of hospitalized patients at Hacettepe University, between 1996-2003. Of 134 isolates, 120 (89.5%) were recovered from adults while 14 isolates (10.5%) were isolated from children. The isolation and identification of the isolates were done by standard mycological methods. Microbroth susceptibility tests were done in accordance with NCCLS microdilution method (M27A-2). At 24 h, MIC range, MIC₅₀ and MIC₉₀ values for amphotericin B was 0,5-4 µg/ml, 2µg/ml and 4µg/ml respectively. At 48 h, MIC range, MIC₅₀ and MIC₉₀ values for amphotericin B was 2-4µg/ml, 2µg/ml and 4µg/ml respectively. At 24 h, 97.1% of the isolates were susceptible and 2.9% were dose dependent susceptible to fluconazole. None of them were found as resistant to fluconazole. At 48 h, 94% of the isolates were susceptible 5.2% were dose dependent susceptible and 0.8% were resistant to fluconazole. At 24 h, 20.9% of the isolates were susceptible, 73.1% were dose dependent susceptible and 6% were resistant to itraconazole. At 48 h, 0.7% of the isolates were susceptible 62.2% were dose dependent susceptible and 36.5% were resistant to itracxonazole. These results suggest that although *C. glabrata* strains that were isolated in our hospital were rarely resistant to fluconazole, resistance to itraconazole was found as high against them. Most of the isolates that were resistant to itraconazole were found as susceptible to fluconazole.

Keywords: *Candida glabrata*, amphotericin B, fluconazole, itraconazole, in vitro susceptibility.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER.ix
TABLolar... ..	.x
GİRİŞ1
GENEL BİLGİLER1
2.1. Tarihçe1
2.2. Sınıflandırma.. ..	.1
2.3. Morfolojik Ve Biyokimyasal Özellikler.....	.2
2.4. Epidemiyoloji.. ..	.3
2.5. Klinik Tablolar.. ..	.7
2.6. Patogenez.. ..	.12
2.7. Antifungal İlaçlar.....	.18
2.8. Tedavi.....	.27
2.9. Antifungal Duyarlılık Testleri.....	.29
2.10. Antifungal Direnç.....	.37
MATERYAL VE METOD47
3.1. Suşların İzole Edildiği Klinik Örnekler.....	.47
3.2. Candida glabrata Suşlarının Tanımlanması.....	.47
3.3. Antifungal Duyarlılık Testleri.....	.50
BULGULAR55
TARTIŞMA63
SONUÇLAR76
KAYNAKLAR78

KISALTMALAR

ABCD	Amfoterisin B kolloidal dispersiyon
ABCT	“ATP Binding Casette Transporters”
ABLC	Amfoterisin B Lipid Kompleks
AFD	Antifungal duyarlılık
AİDS	Acquired immunodeficiency syndrome
L-AMB	Liposomal Amfoterisin B
ATCC	“American Type Culture Collection”
BAL	Bronko alveolar lavaj
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BSA	“Bovin serum albumin” (sığır serum albumin)
C	Candida
°C	santigrad derece
CDR	“Candida Drug Resistance”
CgCDR1	“ <i>C. glabrata</i> Candida Drug Resistance”
CaMDR	“Candida albicans “Multi Drug Resistance”
CuSO ₄	Bakır sülfat
DB	“Dark brown” (Koyu kahverengi)
DM	Diabetes mellitus
DMSO	Dimetil sülfoksit
DTA	Derin trakeal aspirat
vDB	“very dark brown” (Çok koyu kahverengi)
DNA	Deoksi ribo nükleik asit
EF-3	Elongasyon faktör-3
ER	Endoplazmik retikulum
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

5-FU	5-florourasil
5-FC	5-Florositozin
GIS	Gastro intestinal sistem
HIV	Human immunodeficiency virus
HLP	“hemolysin-like protein” (hemolizin benzeri protein)
İg A	immün globulin A
İV	intra venöz
KDa	kilo dalton
Kİ	Kemik iliği
KOH	Potasyum hidroksit
LB	“Light brown” (Açık kahverengi)
MDR	“Multi Drug Resistance”
MFS	“Major Facilitators Superfamily”
MOPS	Morfolino propan sulfanik asit
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
µgr/ml	Mikrogram/mililitre
MT-	Metallotionin II gen kodu
<i>MTL</i>	“mating type-like” loci
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
OFK	Orofaringiyal kandidiyazis
R	“Resistant” (Dirençli)
RNA	Ribo nükleik asit
S	“Susceptible” (Duyarlı)
S-DD	“Susceptible-dose dependent” (Doza bağlı duyarlı)
SAP	Sekretuvar aspartil proteinaz

SLAD	“ <i>Solid synthetic low ammonia dextroz nitrojen starvation medium</i> ”	
V	volüm	
W	weight	
Wh	“White”	(Beyaz)



TABLOLAR DİZİNİ

	1. Sayfa
2.1. Ergosterol biyosentez yolu.....	22
2.2. Klinik direnci etkileyen faktörler	39
2.3. Antifungal ilaç direncinin oluşmasında rol oynayan moleküler mekanizmalar.....	42
3.1. <i>C. glabrata</i> suşlarının izole edildiği örnekler.....	47
3.2. ID 32 C (BioMerieux, Fransa) kitinde bulunan substratlar	49
3.3. Mayalar için NCCLS tarafından önerilen test yöntemi ve parametreleri (NCCLS M27-A)	50
3.4. Mikroplak çukurlarındaki üreme miktarının okunma skorları	53
3.5. <i>Candida</i> türlerinde direnç sınır değerleri.....	54
4.1. Kalite kontrol suşlarının 24 ve 48 saatteki MİK dağılımları.....	55
4.2. <i>Candida glabrata</i> suşlarının amfoterisin B için saptanan MİK değerleri	55
4.3. <i>Candida glabrata</i> suşlarının amfoterisin B için saptanan MİK dağılımları.....	55
4.4. <i>Candida glabrata</i> suşlarının flukonazol için saptanan MİK değerleri ve direnç oranları.....	56
4.5. <i>Candida glabrata</i> suşlarının flukonazol için saptanan MİK dağılımları	56
4.6. <i>Candida glabrata</i> suşlarının itrakonazol için saptanan MİK değerleri ve direnç oranları.....	58
4.7. <i>Candida glabrata</i> suşlarının itrakonazol için saptanan MİK dağılımları.....	58
4.8. <i>Candida glabrata</i> suşlarının flukonazol duyarlılık sonuçlarının itrakonazol duyarlılık sonuçlarıyla karşılaştırılması (24 saat)	59
4.9. <i>Candida glabrata</i> suşlarının flukonazol duyarlılık sonuçlarının itrakonazol duyarlılık sonuçlarıyla karşılaştırılması (48 saat)	59
4.10. <i>Candida glabrata</i> suşlarının erişkin ve çocuk hastalarda saptanan itrakonazol duyarlılık profili (24 saat).....	60

- 4.11. *Candida glabrata* suşlarının erişkin ve çocuk hastalarda saptanan itrakonazol duyarlılık profili (48 saat).....60
- 4.12. *Candida glabrata* suşlarının izole edildiği klinik örneklerle göre itrakonazol duyarlılık profili 24 saat).....61
- 4.13. *Candida glabrata* suşlarının izole edildiği klinik örneklerle göre itrakonazol duyarlılık profili (48 saat).....62



1. GİRİŞ

Candida glabrata, sağlıklı bireylerin normal florasında bulunabilen ve insanlarda enfeksiyonlara yol açabilen maya cinsi bir mantardır. Son yıllarda immünsupresif tedavi ve geniş spektrumlu antifungal ilaçların tıpta kullanımının artmasına bağlı olarak *C. glabrata*'ya bağlı gelişen mukozal ve sistemik enfeksiyonlar belirgin olarak artmış, bir çok merkezde *C. glabrata* enfeksiyonları, *Candida albicans* enfeksiyonlarından sonra ikinci veya üçüncü sırada yer almaya başlamıştır. *C. glabrata*, bütün organ ve sistemlerde enfeksiyona yol açabilir. İdrar yolu enfeksiyonlarında, yenidoğan fungemilerinde ve immünsupresif hastalarda önemli bir enfeksiyon etkenidir (33, 112).

C. glabrata enfeksiyonlarını diğer *Candida* cinsi mantarlara bağlı enfeksiyonlarla karşılaştıran sınırlı sayıda araştırma vardır. Virulans faktörleri ile ilgili çok az şey bilinmektedir. Konak savunma mekanizmalarının *C. glabrata*'ya karşı etkileri ile ilgili veriler de kısıtlıdır (33).

Candida glabrata'nın dimorfik formu yoktur. Patojen halde ve kommensal olarak bulunduğu bölgelerde sadece blastokonidyum formunda bulunur. Başta flukonazol olmak üzere birçok antifungal ilacın *C. glabrata* için saptanan MİK düzeyleri yüksektir. Bu nedenle *C. glabrata*'ya bağlı enfeksiyonların tedavileri sorunludur ve mortalite oranları yüksektir (33).

Bu çalışmanın amacı, *C. glabrata* suşlarının antifungal ilaçlara değişen oranlarda dirençli olabilme özelliği göz önüne alınarak, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri'nde tedavi gören olgulardan izole edilen *C. glabrata* suşlarının antifungal ilaçlara duyarlılık profilini belirlemek, direnç oranlarını saptamak amacıyla planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Candida glabrata psödohif oluşturmama sebebi ile yıllarca *Torulopsis cinsi* mantarlar içinde sınıflandırılmıştır. *Torulopsis cinsi* ilk defa 1894 yılında tanımlanmıştır. 1978 yılında *C. glabrata*'nın psödohif formu oluşturduğu saptanmış, bunun sonucu olarak *Torulopsis glabrata*, *Candida* cinsi mantarlar içinde yeniden sınıflandırılmış ve *Candida glabrata* olarak isimlendirilmiştir. Diğer *Candida* türlerinden kesin ayırımı küçük subunit rRNA analizi ile yapılmaktadır. *C. glabrata*'nın elektroforetik karyotipleme sonucu 28 ayrı tipi tesbit edilmiştir (33, 112).

2.2. Sınıflandırma

Candida glabrata, maya cinsi bir mantar olup Ascomycetes sınıfında yer almaktadır. Saccharomycetales takımında ve Saccharomycetaceae ailesinde sınıflandırılmaktadır (33, 42).

2.3. Morfolojik Ve Biyokimyasal Özellikler

Candida glabrata monomorfik yapıda maya cinsi bir mantardır. Mikroskopik olarak küçük blastokonidyumlar şeklinde gözlenir. *Candida glabrata* 37°C ve üzerindeki sıcaklıklarda ve bazı özel koşullarda psödohif yapabilir. Csank ve ark. (20) *C. glabrata*'nın nitrojenden fakir katı besiyerinde psödohif oluşturduğunu göstermişlerdir. Nitrojenden fakir besiyeri olarak *Solid synthetic low ammonia dextrose nitrogen starvation medium* (SLAD) kullanılmıştır. Bu besiyeri glukoz %2 (w/v), amino asit içermeyen "yeast nitrogen base" 1.7 gr ve agar %2 (w/v) oranında karıştırılarak hazırlanmış, 37 ° C'de bir gecelik inkübasyondan sonra *C. glabrata* suşlarının psödohif oluşturduğu saptanmıştır. Besiyerine nitrojen kaynağı olarak amonyum sülfat tekrar eklendiğinde, besiyerinde maya formunda üreme olduğu gösterilmiştir (20, 33, 85, 112, 121).

C. glabrata, Sabouraud dekstroz agarda yumuşak, krem renkli, parlak, düzgün, küçük koloniler yapar. Kolonileri diğer *Candida* cinsi mantarların kolonilerinden küçük olması dışında belirgin bir farklılık göstermez. Çapı 1-4 µm olan blastokonidyumları; çapı 4-6 µm olan *C. albicans* blastonidyumlarından

mikroskopik olarak belirgin ölçüde küçüktür. *Chrom agarda* biyokimyasal reaksiyonlarının sonucunda oluşturduğu renge göre diğer *Candida* cinslerinden ayrılabilir. Bu besiyerinde *Candida glabrata* suşları pembe mor renk oluştururken, *C. albicans* mavi-yeşil renkli koloniler oluşturur. *C. glabrata* haploid genoma sahipken diğer *Candida* cinsi mantarlar diploid genoma sahiptir (33, 112).

Tıbbi önemi olan *Candida* türleri birbirlerinden biyokimyasal ve moleküler testlerle ayrılabilir. *C. albicans* birçok şekeri fermente ve asimile ederken, *C. glabrata* sadece glikoz ve trehalozu fermente ve asimile eder. Şeker kullanımına göre *Candida* cinsi mantarlar birbirleriyle karşılaştırılıp tür düzeyinde tanımlanabilirler. Bu esasa dayanarak hazırlanan API 20C, ID32C, Uni-Yeast-Tek, and Yeast Ident gibi birçok tanımlama kiti geliştirilmiştir (33, 112).

2.4. Epidemiyoloji

Candida cinsi mantarlar doğada yaygın olarak bulunur, memeli ve kuşların sindirim sisteminde, toprak ve çeşitli bitkilerin üzerinde canlılıklarını devam ettirirler. Bunun yanı sıra insanların mukokutanöz membranlarında normal flora elemanı olarak bulunurlar. İnsanlarda en çok oral kavitede, sindirim sisteminde, solunum sisteminde ve genito üriner sistem florasında bulunurlar. *C. albicans* en çok izole edilen normal flora elemanı iken *C. glabrata* ikinci yada üçüncü sıklıkta izole edilmektedir (28, 34).

Yüzeyel kandidiyazisi olan hastalardan ortak kullanım alanları (plaj,havuz gibi) yolu ile sağlıklı kişilere *Candida* bulaşabilir. *Candida*, insanlarda doğum esnasında vertikal yol ile ve doğum sonrasında diğer kaynaklar ile mukozal yüzeylerde kolonize olur. Hastane ortamlarında kolaylıkla yaşama imkanı bulur ve hastane enfeksiyonlarında öncelikli olarak izole edilen etkenler arasında yer alırlar (34, 122, 126).

Candida türlerine bağlı en sık görülen enfeksiyonlar mukozal enfeksiyonlardır. Orofarenks, ösofagus, vajina ve üriner sistem mukozasında enfeksiyonlar en fazla görülmektedir. Oral mukozada en sık karşılaşılan etken *C. albicans* iken, en sık karşılaşılan non-*albicans Candida* türü ise, *C. glabrata*'dır (1, 34).

Candida türlerine bağlı kandidemi ve invaziv mikozlarda son 20 yılda belirgin artış görülmüştür. *Candida* enfeksiyonları 1980'li yıllarda 1000 hastada 2.0 oranında görülürken 1990'lı yıllarda bu oran 3,8'e çıkmıştır. Özellikle *Candida* türlerine bağlı nozokomiyal mantar hastalıklarında belirgin artış olmuştur. Bugün tüm nozokomiyal hastalıkların %10-15'i, nozokomiyal mantar hastalıklarının %85'i, nozokomiyal kan enfeksiyonlarının %8-10'u *Candida* türlerine bağlıdır. Nozokomiyal mantar hastalıkları içerisinde en sık görülen enfeksiyonlar üriner sistem enfeksiyonları olup ikinci sırada kandidemiler yer almaktadır (20, 34, 46, 59, 129).

1980'de nozokomiyal kan enfeksiyonlarının %5,4'ü mantar türlerine bağlı gelişirken 1990'da bu oran %9,9'a ulaşmıştır. *Candida* türleri bütün kan enfeksiyonlarının %5-10'undan sorumludur. *Candida* türleri koagülaz(-) *stafilokok*, *Staphylococcus aureus* ve enterokoklardan sonra 4. sıklıkta kan kültürlerinden izole edilmektedir (20, 45, 46, 122).

Kandidemilerde en çok *C. albicans* izole edilmekte, diğer kandidemi izolatlarını *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* oluşturmaktadır. Önceleri %60-70 oranında izole edilen *C. albicans*'ın izolasyon oranı bugün %40 lar seviyesine inmiştir. *C. glabrata*, kandidiyazislerden ikinci ya da üçüncü sıklıkta sorumlu etkidir. *Candida* türlerine bağlı gelişen enfeksiyon sıklığı, hastalığın yerine, konak faktörlerine, hastaneden hastaneye, hasta yaşına ve ülkeden ülkeye değişebilmektedir (1, 28 ,33, 45, 46).

C. glabrata kan kültürlerinden en çok izole edilen ikinci *Candida* türüdür. Çocukluk yaş grubunda erişkinlere nazaran daha az sıklıkta saptanmaktadır. Hastanede yatma süresinin uzaması, antimikrobiyal ilaç kullanımı, kemoterapi, cerrahi ve antifungal profilaksi, *C. glabrata*'ya bağlı kandidemi ve invaziv mikozların sistemik hastalık oranlarını arttırmıştır. Azol grubu antifungal ilaçlarla yapılan profilaksi sonucunda *C. albicans*'a bağlı enfeksiyonlar azalırken bu ilaçlara dirençli *C. krusei* ve *C. glabrata* enfeksiyonlarında artış meydana gelmiştir (28, 96).

Bugüne dek dünyada farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda, enfeksiyon etkeni olarak *C. glabrata*'nın görülme sıklığının dikkat çeken oranlarda olduğu göze çarpmaktadır.

Pfaller ve arkadaşları 1992-2001 yılları arasında yürütülen 167 merkezin katıldığı bir çalışmada 3683 kan izolatinin 674'ünün (%18.3) *C. glabrata* olduğunu saptamışlardır (89). 2001-2002 yılları arasında ARTEMİZ çalışma grubunun yaptığı çalışmada ise invaziv mikozlardan soyutlanan 3997 *Candida* suşunun 601'i (%15) *C. glabrata* olarak bulunmuştur (91-92). SENTRY çalışma grubunun ABD, Kanada, Avrupa ve Güney Amerikada kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerini araştırdıkları çalışmada *C. glabrata*, örneklerden %15 oranında izole edilmiştir(91-92,). Pfaller ve ark., tüm dünyada 200'den fazla merkezden, kan kültürlerinden ve normalde steril olan vücut bölgelerinden izole edilen 6970 *Candida* izolatinin 949'unu (%13,6) *C. glabrata* olarak saptamıştır (97). Viskoli ve arkadaşları tarafından, 1992-1994 tarihleri arasında 30 merkezde, kanser hastalarında yapılan prospektif çalışmada *C. albicans* %49, *C. glabrata* %24 oranında izole edilmiştir (123).

Hajjeh ve ark. 1998-2000 yılları arasında ABD 'de kandidemileri araştıran epidemiyolojik çalışmada *C. albicans*'ı %45, *C. glabrata*'yı %24 oranında kan kültürlerinden izole etmişlerdir (40) .

Takakura ve ark. Japonya'da kan enfeksiyonlarında yaptıkları süreyans çalışmasında *C. albicans*'ı %41, *C. parapsilosis*'i %23 ve *C. glabrata*'yı %18 oranında izole etmişlerdir (118) .

NEMİS çalışma grubu, 1993-1995 yılları arasında 7 cerrahi yoğun bakım ünitesi ve 6 neonatal yoğun bakım ünitesinde kandidemiler için yaptıkları prospektif çalışmada *C. albicans*'ı %55, *C. glabrata*'yı %16 oranında kan kültürlerinden izole etmiştir. Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde *C. albicans* %48, *C. glabrata* %24 oranında saptanmıştır. Neonatal yoğun bakım ünitesinde *C. albicans* %63, *C. parapsilosis* %29 ve *C. glabrata* %6 oranında izole edilmiştir. Yoğun bakım ünitelerinde kandidemi görülme prevalansı 9,8/1000 olarak saptanmıştır (99) .

C. glabrata'ya bağlı gelişen kandidemi ve sistemik hastalıklar yüksek mortalite oranlarına sahiptir (1). Kandidemilerde mortalite oranı 1983-1986 yılları arasında %38, 1997-2001 yılları arasında ise %49 olarak saptanmıştır (40). Nozokomiyal kan enfeksiyonlarında mortalite oranı %38-75 arasında değişmektedir (99). Hajjeh ve ark. çalışmalarında *Candida* türlerine bağlı kandidemilerde toplam

mortalite oranını %36 olarak bulurken, non-*albicans Candida* mortalitesini %33, *C. albicans* mortalitesini %24, *C. glabrata* mortalitesini %36, *C. tropicalis* mortalitesini %40 ve *C. parapsilosis* mortalitesini %18 oranında bulmuşlardır (99). Viscoli ve ark kanser hastalarında *Candida* türlerine bağlı gelişen kandidemilerde toplam mortalite oranını %39 olarak bulmuşlardır (123) .

İnsanlardaki *Candida* enfeksiyonları endojen kaynaklı ve ekzojen kaynaklı enfeksiyonlar şeklinde gelişmektedir. İnsandan insana direkt bulaş sonucunda da enfeksiyonlar görülebilmektedir (28).

İnsanlardaki *Candida* enfeksiyonları üç şekilde oluşmaktadır:

a-Endojen kaynaklı b-Ekzojen kaynaklı c- İnsandan insana direkt bulaş

a-En çok görülen şekil olan endojen kaynaklı *Candida* enfeksiyonları, konağın oral ve gastrointestinal sistem florasında yer alan mayanın aşırı üremesi sonucunda meydana gelir. Gastrointestinal sistem en önemli enfeksiyon kaynağıdır. Gastrointestinal sistemin mukoza bütünlüğü bozulduğunda *Candida* türleri hematojen yolla yayılarak diğer organları enfekte ederler. Antikanser ilaçlar, radyoterapi, kemoterapi, büyük cerrahi operasyonlar mukozal bariyerin bozulmasına neden olurlar. *Candida* türleri sağlam mukozal bariyeri de geçerek enfeksiyona yol açabilirler. Antibiyotik tedavisi sonucu normal gastrointestinal sistem florası bozulur ve *Candida* kolonizasyonu meydana gelir (28).

b-*Candida* enfeksiyonları ekzojen kaynaklı da olabilir. Kullanılan kateterler, prostetik medikal cihazlar, bebeklerde anne ve bakıcı elleri, biberonlar enfeksiyon için uygun kaynaklardır. Hastanede çalışan sağlık personelinin elleri ve kontamine materyaller de kaynak olabilirler. Koç ve ark. hastanelerindeki bir *C. glabrata* salgınının kaynağını bebeklerin kullandığı biberonlar olarak saptamışlardır (54).

NEMİS çalışma grubu kandidemilerin kaynağına yönelik olarak yaptıkları araştırmada, *Candida* kolonizasyonunu tesbit amacıyla yoğun bakım ünitesine yatan hastaların idrar ve dışkılarından, ayrıca yoğun bakım ünitesinde çalışan personelin ellerinden örnek almışlardır (99). Bu çalışmada, cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların dışkı örneklerinde %50, neonatal yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların dışkı örneklerinde %30 oranında *Candida* kolonizasyonu saptanmıştır. *C. albicans* cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların dışkı örneklerinde %26.5

oranında, neonatal yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların dışkı örneklerinde %6 oranında saptanmıştır. *C. glabrata* cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların dışkı örneklerinde %7,7 oranında, neonatal yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların dışkı örneklerinde %1,5 oranında saptanmıştır (99).

Aynı çalışmada cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların idrar örneklerinde %23,3 oranında *Candida* kolonizasyonu saptanmıştır. İdrar örneklerinde *C. albicans* %14 oranında izole edilirken, *C. glabrata* %5,6 oranında izole edilmiştir (99).

Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde çalışan sağlık personelinin ellerinden alınan örneklerde %33,1, neonatal yoğun bakım ünitesinde çalışan sağlık personelinin ellerinden alınan örneklerde ise %28.6 *Candida* kolonizasyonu saptanmıştır (99).

c-İnsandan insana direkt bulaşma nadir görülmektedir. Yenidoğanda oral kandidiyazis hastalığı, vertikal yolla anneden bebeğe doğum sırasında bulaşma sonucunda meydana gelir. Ayrıca genital kandidiyazisi olan eşler arasında da bulaşma olabilir (126).

Son 10 yılda non-*albicans Candida* enfeksiyonlarının artışına yol açan bazı risk faktörleri saptanmıştır. Bu risk faktörleri arasında, intra vasküler kateter kullanımı, parenteral nütrisyon, üriner kateter varlığı, birden fazla bölgede *Candida* kolonizasyonu, antibiyotik kullanımı, nötropeni, cerrahi, böbrek yetmezliği, steroid kullanımı, uzun süreli hastanede kalış, diare, GIS kanaması, antifungal profilaksi, kemoterapi, mekanik ventilasyon ve ileri yaş yer almaktadır (28).

2.5. Klinik Tablolar

2.5.1. Mukozal Enfeksiyonlar

Semptomatik *Candida* enfeksiyonu özellikle *Candida* ile kolonize olan bireylerde ortaya çıkar. *Candida*'ya bağlı en sık görülen mukozal enfeksiyonlar orofarengeyal, özofagiyal ve vajinal kandidiyazistir. *C. albicans* bu enfeksiyonlardan en sık sorumlu olan etkidir. *C. glabrata* daha az oranda (%5-8) bu enfeksiyonlardan sorumlu olup kandidiyazislerden ikinci veya üçüncü sıklıkta izole edilmektedir. Son yıllarda immünsupresif hastalarda gelişen mukosal

kandidiyazislerde, geçmişe nazaran daha yüksek oranda *C. glabrata* izole edilmektedir. *C. glabrata*'ya bağlı mukozal enfeksiyonların az sayıda olmasının sebebi henüz tam bilinmemektedir. *C. glabrata*'nın adezyon ve kolonizasyonunu etkileyen virulans faktörlerine ilişkin çalışmaların bu konuda aydınlatıcı olacağı düşünülmektedir (1, 33).

a-Orofarengeyal Kandidiyazis(OFK): HIV seronegatif şahıslarda *C. glabrata*'ya bağlı OFK nadirdir. Non-*albicans Candida* türlerinin etken olduğu OFK ve özofagiyal kandidiyazislerin sıklığını araştıran epidemiyolojik araştırmaların sayısının az olması nedeniyle bu konudaki bilgiler sınırlıdır. Bu sebeple, *C. glabrata*'ya bağlı gelişen semptomatik orofarengeyal kandidiyazisin (OFK) oranı tam bilinmemektedir (33).

OFK'li olgularda *C. glabrata*'nın tek başına izolasyonu nadirdir. Olguların çoğunda *C. glabrata* *C. albicans*'la beraber izole edilmektedir. OFK'in birçok klinik formu vardır. En sık görülen formu akut psödomembranoz kandidiyazistir. OFK'in genellikle asemptomatik olan eritamatöz formu da görülebilir. OFK sıklıkla HIV enfeksiyonlarında ilk ortaya çıkan klinik bulgudur. AIDS'li hastaların %80-90' nında hastalığın herhangi bir safhasında OFK gelişmektedir. OFK'li hastalarda en sık izole edilen etken *C. albicans*'tır (%70). Bir çalışmada *C. tropicalis* %6.7 ve *C. glabrata* %6.6 oranlarında izole edilmiştir. AIDS'li hastalarda *C. glabrata*'ya bağlı OFK'in oranı %10 dan daha düşüktür (33).

b-Özofagiyal Kandidiyazis: *Candida cinsi* mantarlar, özofajite en sık sebep olan organizmalardır. *Candida*'nın gastrointestinal kanalda orofarinksten sonra en sık yerleştiği bölge özofagustur. *Candida* özofajitlerinin prevalansında son yıllarda AIDS sıklığındaki artışa paralel olarak artış saptanmıştır. AIDS hastalarında yaklaşık olarak %10-15 oranında *Candida* özofajiti gelişmektedir. *Candida*, genellikle özofagus yüzeyinden veya oral sekresyonlardan izole edilmektedir (1, 33).

Özofajitli hastalardan en sık izole edilen tür *C. albicans* olup bunu *C. glabrata* ile birlikte diğer non- *albicans Candida* türleri izlemektedir. *C. glabrata*'ya bağlı özofajit nadirdir. Özellikle primer özofagiyal lenfomalı ve AIDS'li hastalarda, *C. glabrata*'ya bağlı özofajit enfeksiyonları gelişmektedir. OFK olgularda olduğu

gibi, izole edilen *C. glabrata* suşları genellikle *C. albicans* suşları ile birlikte saptanmaktadır (1, 33).

Özofagiyal kandidiyazis patogeneğinde konak ve mantara ait faktörlerin rolü tam olarak bilinmemektedir. HIV seronegatif hastalarda diabetes mellitus (DM), karaciğer sirozu, steroid tedavisi, malignansi, ventilatöre bağı olma ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının patogeneğinde rolü olduğı düşünölmektedir. Özofagiyal kandidiyazis, HIV pozitif olgularda AIDS'in ilk bulgusu olabilmesi açısından da önem taşımaktadır (1, 33).

c-Vulvovajinal Kandidiyazis: Sağlıklı erişkin kadınlarda altta yatan bir hastalık olmadan da sporadik olarak *Candida* vajiniti gelişebilir. *Candida* vajiniti atakları genellikle hafif ve orta şiddetli olup, etken çoğunlukla *C. albicans*'tır. *C. glabrata*'ya bağı vajinitler yüksek vajinal pH varlığında gelişir ve nadiren de olsa bakteriyal vajinitlerle beraber olabilir. Vulvovajinal kandidiyazis etkeni olarak *C. albicans* %84, *C. glabrata* %5.5-11.7, *C. tropicalis* %4.7-5.3 oranlarında kültürlerden izole edilmektedir (115, 124). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, vajinal akıntı şikayeti ile başvuran 316 hastanın 65'nin kültüründe maya üremesi saptanmıştır. *C. albicans* %53,9, *C. glabrata* %26,2, *C. inconspicua* %4,6, *C. famata* %4,6 ve *C. kefyr* %3,1 oranlarında kültürlerden izole edilmiştir (81).

Son on yıl içerisinde non-*albicans Candida* türlerine bağı vajinitlerde artış saptandığı dikkati çekmektedir ve bu olgularda en çok *C. glabrata* izole edilmektedir. Ancak bu artışın bildirilerin artışına bağı bir artış mı yoksa gerçek bir artış mı olduğı bilinmemektedir. Non-*albicans Candida* türlerine bağı vajinitlerdeki artışın sebebinin muhtemelen, oral ve topikal azol grubu antifungal ilaçların kullanımında meydana gelen artış olduğı düşünölmektedir. Topikal antifungal ilaçların yaygın kullanımı ve proflaktik olarak uzun süreli düşük doz flukonazol kullanımının bu artışa neden olmuş olabileceğı görüşleri mevcuttur. Bunun dışında HIV infeksiyonlarının da non-*albicans Candida* vajinitlerinin artmasında rolü olduğı ileri sürölmektedir. Klinik çalışmalar sonucunda *C. glabrata* için bazı risk faktörleri tanımlanmıştır. Bu risk faktörleri, hastaların yaşlı olması ve diabetes mellitusdur (33).

C. glabrata vajinitlerinin klinik bulguları, *C. albicans* vajinitlerinin bulgularına benzer. Semptomatik *C. glabrata* vajinitlerinde *C. albicans* vajinitlerine göre daha az vajinal akıntı görülmektedir. Bunun sebebi, *C. glabrata*'nın hif formunun bulunmaması olabilir. İnflamasyon azlığına bağlı olarak *C. glabrata* vajinitleri daha az ağrılıdır. Hastalar yanma hissinden yakınırırlar. Vulva ve vestibuladaki inflamatuvar reaksiyonlar *C. albicans* enfeksiyonuna benzer. *C. glabrata* vajinitlerinde yaygın eritem olup nadiren kazeöz akıntı gözlenir (33).

Candida vajinitlerinin yaklaşık olarak %10'u komplikedir. Komplike vulvovajinal kandidiyazis enfeksiyonları genellikle tekrarlayan ağır bir tablodur. Komplike vulvovajinit vakalarından genellikle non-*albicans* *Candida* türleri sorumludur. Bu olgularda sıklıkla altta yatan kontrol edilemeyen DM veya immünsüpresif bir hastalık vardır. *C. glabrata*'ya bağlı gelişen vajinitler de komplike seyredabilen enfeksiyonlardır (33, 95).

C. glabrata vajinitlerinin tanısı, diğer *Candida* türlerine bağlı vajinitlerin tanısından daha zordur. Bunun sebebi *C. glabrata*'nın psödohif ve hif oluşturmamasıdır. KOH ile yapılan direkt mikroskopik incelemede, birçok tomurcuklanan maya hücresi görülürken, hif görülmez (33).

d-Üriner Sistem Enfeksiyonları: Son 20 yılda *Candida* türlerinin neden olduğu üriner sistem enfeksiyonlarında belirgin bir artış gözlenmiştir. Günümüzde hastanede yatan hastalarda gelişen üriner sistem enfeksiyonlarının yaklaşık olarak %10'u *Candida cinsi* mantarlara bağlı olarak gelişmektedir. OFK ve vajinal *Candida* enfeksiyonlarında etkenlerin %90'ı *C. albicans* %10'u non-*albicans* *Candida* türleri iken üriner sistem enfeksiyonlarının %50'si non-*albicans* *Candida* türlerine bağlı olarak gelişmektedir. Non-*albicans* *Candida* türleri içinde en sık etken olan tür *C. glabrata*'dır. *C. glabrata*, üriner sistem enfeksiyonlarının %20'sinden sorumludur. Sık olmamakla beraber üriner sistem enfeksiyonları polimikrobiyal olup *C. glabrata* ile birlikte *C. albicans* veya bir bakteri bulunabilir (33, 114).

Kaufman ve ark, 1991-1993 yılları arasında yaptıkları prospektif, çok merkezli sürveyans çalışmasında, idrarında mantar izole edilen 861 hastada *C. albicans*'ı %51,8, *C. glabrata*'yı %15,6, *C. tropicalis*'i %7,9, *C. parapsilosis*'i %4,1 ve *C. krusei*'yi %1 oranlarında saptamışlardır (51).

C. glabrata'ya bağlı gelişen üriner enfeksiyonlar ile ilgili epidemiyolojik risk faktörleri kesin olarak belirlenememiştir. Bununla beraber; *C. glabrata*'ya bağlı gelişen üriner sistem enfeksiyonları, altta yatan DM hastalığı ve üriner kateterle sıklıkla ilişkilidir. *C. albicans*'a bağlı üriner sistem enfeksiyonları gibi *C. glabrata* üriner enfeksiyonları da daha çok yaşlı, hastanede yatan, debilize, kateterize ve yakın zamanda antibakteriyal ilaç tedavisi almış olgularda ortaya çıkmaktadır (33).

C. glabrata'ya bağlı gelişen üriner sistem enfeksiyonları, diğer *Candida cinsi* mantarlarınkine benzer bir klinik tabloya sahiptir. Hastaların çoğu asemptomatiktir. Kateterize hastalarda alt üriner sistem enfeksiyonu gelişirse semptom mevcut olabilir. Asendan enfeksiyon gelişme riski son derece düşüktür ve üriner obstrüksiyon, yabancı cisim veya stend varlığında görülebilir. *C. glabrata* çok nadiren asendan pyelonefrite ve hematojenöz kandidiyazise neden olabilir. Renal kandidiyazis genellikle üriner kandidiyazisin asendan yolla yayılması ile gelişir (33).

C. glabrata'ya bağlı gelişen üriner enfeksiyonların tanısı genellikle kültür ile konulmaktadır. Direkt mikroskopisinde hifal şekiller görülmeden tomurcuklanan maya hücrelerinin tesbiti *C. glabrata* enfeksiyonunu düşündürmelidir (33).

2.5.2. Sistemik Enfeksiyonlar:

Son yıllarda tanı ve tedaviye ilişkin tıp alanında görülen gelişmeler, daha önceki yıllarda fatalitesi yüksek olan hastalıkların morbidite ve mortalitesini azaltmış, ancak başta *Candida cinsi* olmak üzere mantarlara bağlı gelişen nozokomiyal enfeksiyonların artmasına yol açmıştır. *Candida* hemen her anatomik bölgede enfeksiyon yapabilen bir mantar olup, uygun konak koşullarında sistemik seyreden ve mortalitesi yüksek olan klinik tablolara yol açabilir (33).

C. glabrata'ya bağlı gelişen sistemik enfeksiyonlara zemin hazırlayan risk faktörlerini araştıran az sayıda epidemiyolojik çalışma vardır. Bilinen risk faktörleri, *C. albicans* için olanlarla benzerlik taşımaktadır. Bu risk faktörleri arasında, yoğun bakım ünitelerinde *C. glabrata* kolonizasyonu, kemik iliği transplantasyonu, uzamış hospitalizasyon, immünsüpresyon, antifungal ilaç kullanımının artması ve antimikrobiyal ilaç alımı yer almaktadır. Araştırmacılar, bazı hastanelerde *C. glabrata* enfeksiyonlarının insidansındaki artışın, flukonazol kullanımı ile ilişkili

olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durumun, *C. glabrata*'nın antifungal ilaçlara olan azalmış duyarlılığı nedeniyle özel önemi vardır (33).

Kandidemi, düşük düzeyde ateş ile seyreden bir klinik tablodan fulminan septik şok tablosuna kadar değişik klinik tablolar gösterebilir. Dissemine kandidiyazise özgü patognomonik semptom ve bulgular yoktur. *C. glabrata*'ya bağlı gelişen sistemik enfeksiyonlardaki klinik tablo, diğer *Candida türleri* ile olana benzerdir. Genel durumu gittikçe kötüleşen, antibakteriyal tedaviye cevap vermeyen ve kan kültüründe bakteri üremesi saptanamayan hastalarda *C. glabrata* enfeksiyonu da akla gelmelidir. *C. glabrata* enfeksiyonları *C. albicans* enfeksiyonlarına göre daha yüksek mortalite oranlarına sahiptir. *C. glabrata*'ya bağlı sistemik enfeksiyonlarda %50 oranlarında mortalite saptanmaktadır (33, 59).

2.6. Patogenez

Candida cinsi mantarlar normal florada kommensal olarak bulunurlar ve konağın immün sisteminin normal işlev görmediği durumlarda enfeksiyona sebep olurlar. Enfeksiyon patogenezinde birçok virülans faktörü rol oynar. Bu virülans faktörleri, en çok görülen tür olan *C. albicans*'ta ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Günümüzde bu virülans faktörlerinin diğer *Candida cinsi* mantarların enfeksiyonlarındaki rolü ile ilgili moleküler çalışmalar artarak devam etmektedir. *C. glabrata*'nın virülans faktörleri ile ilgili çalışmalar henüz sınırlı sayıdadır. Son yıllarda virülans faktörlerinin genetik kodları da çözülmeye başlamıştır. *Candida cinsi* mantarların; adherans, hif ve psödohif oluşturma, fenotipik değişim (*switching*), proteinaz, fosfolipaz, lipaz aktivitesi ve antijenik modülasyon gibi virülans faktörleri vardır (16, 24, 33, 41, 79).

2.6.1. Adherans (Adezyon)

Adherans, epitelyal ve endotelyal hücelere bağlanabilme yeteneğidir. *Candida cinsi* mantarlar, konak hücre ve dokularına bağlanabilme yeteneğine sahiptir. Bu konu, in vivo ve invitro koşullarda ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Son yıllarda bu konuyla ilgili olarak hayvan modellerinde de çalışmalar yapılmaktadır. In vitro çalışmalar *Candida*'nın birçok materyale bağlanabilme yetisi olduğunu göstermiştir. *Candida*, eksfoliyel olan yüzeyel mukoza hücrelerine, yanak mukoza hücrelerine, vajinal mukoza hücrelerine, üriner epitel hücrelerine, dermal yüzeyel

hücrelere, doku kültür hücrelerine, hayvan doku hücrelerine (oral ve gastrointestinal sistem hücrelerine), medikal polimer kateterlere ve plastik yüzeylere bağlanabilmektedir. Hayvan ve insanlardaki deneysel çalışmalar, adherans yeteneği fazla olan *Candida* suşlarının patojenite yeteneğinin fazla olduğunu göstermiş, mutant *Candida* suşlarının, adherans yeteneğinde azalma olduğu ve patojenite yeteneğinin az olduğu tespit edilmiştir. Adezyon yeteneği çeşitli çevre ve konak faktörlerinden etkilenmektedir. Büyüme evresi, besiyeri, hücre yüzey hidrofobisitesi, konağın immün ve hormonal durumu adezyon yeteneğini etkilemektedir (17, 24, 30, 44, 53, 101).

Candida hücre yüzeyine tutunduktan sonra kolonize olmakta ve enfeksiyon gelişiminin ilk basamağını oluşturmaktadır. Adezyon yeteneği diğer virülans faktörlerince de desteklenmekte ve sonuçta enfeksiyon gelişmektedir. Karşılaştırmalı adezyon çalışmalarında, vasküler endotelial hücrelere adezyon yeteneğinin *C. albicans* için en güçlü, *C. glabrata* için ise en zayıf olduğu bulunmuştur (17, 24).

C. glabrata'nın in vitro olarak insan epitel hücrelerine kuvvetli bir şekilde bağlanabildiği gösterilmiştir. Bu bağlanmada, *C. glabrata*'nın hücre duvarında bulunan adezin yapısındaki “*glucan-cross-linked cell-wall protein*” rol almaktadır. Bu protein epitel hücre membranındaki karbonhidrata bağlanarak adezyonu sağlamaktadır. Cormack ve ark. yaptıkları çalışmada, bu proteini kodlayan EPA1 genini delesyona uğrattıklarında, mutant *C. glabrata* suşlarının insan epitel hücrelerine adezyon yeteneğinin %95 azaldığını göstermişlerdir (18).

2.6.2. Fenotipik Değişim (*switching*)

Fenotipik değişim (*switching*) olayı ilk defa *C. albicans* suşlarında tanımlanmıştır. Çevresel koşullar değiştiğinde *C. albicans*'in genotipik yapısını değiştirmeden fenotipik morfolojik yapısını hızlı bir şekilde değiştirmesi olayıdır. Bu değişim, mantarın farklı çevre koşullarına uyum sağlamasına yardımcı olmaktadır. Fenotipik değişim sonucunda farklı koloni şekilleri ortaya çıkmaktadır (14, 20, 61).

C. glabrata suşları, besiyerlerinde renk farklılığı ve koloni farklılığı esasına dayanan iki farklı tip fenotipik değişim (*switching*) gözlenmektedir (61).

Farklı renkte koloni oluşturma: *C. glabrata*, CuSO₄ içeren besiyerinde beyaz (Wh), açık kahverengi (LB), koyu kahverengi (DB) ve çok koyu kahverengi (vDB) olmak üzere dört farklı tip koloni oluşturmaktadır.

Yüksek fenotipik değişim (*switching*) sonucunda farklı morfolojide koloni oluşturma: *C. glabrata* yüksek fenotipik değişim (*switching*) sonucunda geri dönüşümlü olarak düzgün (*smooth*) ve düzensiz buruşuk görünümlü (*irregüler wrinkled*) koloniler oluşturabilmektedir.

C. glabrata'da oluşan fenotipik değişim (*switching*), *metallotionin* (MT-II) ve hemolizin benzeri protein (*hemolysin-like protein*) (HLP) gen bölgelerinin ekspresyon miktarına bağlı olarak regüle edilmektedir. *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans*'da fenotipik değişim (*switching*) oluşmasında rol oynayan üç “*mating type-like*” (*MTL*) (*MTL1*, *MTL2*, and *MTL3*) gen bölgelerinin *C. glabrata*'da da olduğu son yıllarda gösterilmiştir (120).

Fenotipik değişimin (*switching*) virülanstaki rolü tam olarak bilinmemekle beraber, virülansı arttırdığı düşünülmektedir (120).

2.6.3. Hidrolitik Enzimler

Hücre dışına salınan hidrolitik enzimler, bakterilerin, protozoaların ve mantarların enfeksiyon oluşturmalarında önemli rol oynamaktadır. Birçok mikroorganizma değişik miktarlarda bu hidrolitik enzimleri salgılamaktadır. Bilinen üç büyük grup ekstraselüler hidrolitik enzim vardır (71, 78, 84, 122).

- a) Proteinazlar
- b) Fosfolipazlar
- c) Lipazlar

Bütün proteinazlar proteinlerdeki peptit bağlarını (CO-NH) hidroliz eder. Bu bağları yıkarken değişik özgülüğe ve mekanizmalara sahiptirler. Katalitik mekanizmalarına göre 4 farklı grup proteinaz vardır. 1- Sekretuar aspartil proteinaz 2- Serin proteinaz, 3- Sistein proteinaz , 4- Metaloproteinaz (71, 78).

1-Sekretuar Aspartil Proteinaz (SAP): Sekretuar aspartil proteinaz doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Bir çok biyokimyasal yolda rolü vardır. HIV

aspartil proteinaz ve insanda bulunan renin ve pepsin, başlıca sekretuar aspartil proteinazlardır. SAP'lar mantarlarda da yaygın olarak bulunmaktadır. SAP varlığı en çok *C. albicans*'ta çalışılmıştır. İnvitro olarak *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*'in ekstraselüler proteinaz ürettiği gösterilmiştir. *C. glabrata* suşlarının SAP salgıladığına dair literatürde tek yayın vardır. Chakrabarti ve ark. Hindistan'da yapılan ve 1991 yılında yayınlanan çalışmada, toplam 290 *Candida* izolatının SAP üretimi, “*yeast carbon base*” (%2,34), “*yeast extract*” (%0,2) ve sığır serum albumin (%0,4) (BSA) içeren besiyeri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmaya alınan 10 *C. glabrata* izolatından beş tanesinin belirgin şekilde, bir tanesinin belirgin olmayan şekilde SAP ürettiği, dört suşun ise SAP üretmediği bulunmuştur (25, 31) .

C. albicans'ta SAP proteinlerini kodlayan 10 gen bölgesi tesbit edilmiş, diğer patojen *Candida türlerinin* de SAP genlerine sahip olduğu gösterilmiştir. *C. tropicalis*'de dört, *C. parapsilosis*'de iki, *C. dubliniensis*'de en az dokuz SAP geni tesbit edilmiştir (71, 78).

SAP proteinleri 35-50 kDa büyüklüğündedir. Matür enzimde aspartat proteinaz içeren üç korunmuş bölge ve bunun dışında üç boyutlu yapıyı destekleyen dört adet sistein bölgesi vardır. *C. albicans*'da tesbit edilen 10 SAP gen ürününün hepsi de ekstraselüler proteolitik aktiviteye sahiptir. Optimal olarak çalıştıkları pH aralıkları genellikle birbirlerinden farklıdır. SAP 1-3, düşük pH'larda (pH: 2-5 arasında) optimal olarak çalışırken SAP 4-6 daha yüksek pH'larda (pH: 3-7) optimal olarak çalışmaktadır. Genel olarak SAP proteinleri pH: 2-7 arasında aktivite göstermektedir (71, 78).

SAP sentezi nükleusta başlamakta, sentezlenen mRNA sitoplazmaya geçmekte ve yaklaşık olarak 60 aa'lık preproprotein, granüllü ER de sentezlenmektedir. Sinyal peptidaz ile N terminaldeki sinyal peptit çıkartılmakta ve proenzim golgi cisimciğine transfer edilmektedir. Burada Kex 2 proteinaz ile Lys-Arg prosesi gerçekleşmektedir. Enzim sekretuar veziküllere paketlenmekte, plazma membranına taşınmakta ve hücre duvarıyla birleşerek salgılanmaktadır (71, 78).

SAP genleri, farklı morfolojik şekillerde eksprese edilmektedir. Bu sebeple SAP üretimi ile diğer virülans faktörleri arasında ilişki vardır. SAP proteinleri, *Candida albicans*'ın konak hücrelerine adezyon yeteneğini arttırmaktadır. Kuvvetli

SAP üreten *C. albicans* suşlarının insan yanak mukoza hücrelerine, az miktarda SAP üreten suşlardan daha kuvvetli tutunduğu ve daha güçlü olarak kolonize olduğu gösterilmiştir. Hif oluşumu, *Candida*'nın patojenite faktörlerinden biri olup mantarın konak hücresine adezyon ve penetrasyonunu arttırmaktadır. SAP 4-6 gen ekspresyonlu proteinazların, *Candida*'nın hifal formu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. *Candida* çevresel streslerde fenotipik yapısını değiştirmektedir. SAP 1-3 genlerinin *Candida* suşlarında fenotipik değişim (*switching*) ile ilişkili olduğu da saptanmıştır (71, 78).

C. albicans ile yapılan çalışmalarda SAP üretiminin çok miktarda olduğu suşların, daha patojen olduğu tesbit edilmiştir. Oral ve vajinal *Candida* enfeksiyonu olan olgularda asemptomatik taşıyıcılara göre daha fazla proteolitik aktivite gösterilmiştir. Öte yandan SAP gen mutantları daha az virülan ve fagositoza daha duyarlı bulunmuştur (71, 78).

SAP proteinleri konakta bulunan birçok proteini nitrojen kaynağı olarak kullanıp parçalamakta ve *Candida* türlerinin daha kolay invaze olmasını sağlamaktadır. Müsin ve sekretuar immün globulin A (İg A) gibi yüzeyel mukoza proteinlerini parçalayarak *C. albicans*'ın tutunma ve penetrasyonunu arttırmakta ve konak koruyucu bariyerini ortadan kaldırmaktadır. Özellikle İg A'nın parçalanması sonucu toksin ve enzimlerin nötralizasyonu engellenmekte ve *Candida*'nın yanak epitel hücrelerine tutunması kolaylaşmaktadır. SAP proteinleri ayrıca keratin , kollajen, vimentin gibi ekstraselüler matriks proteinlerini, konak savunmasında görevli tükruk laktoferrini, laktoperoksidaz, katepsin D, kompleman, alfa 2 makroglobulin ve interlökinleri de parçalamaktadır (71, 78).

2- Fosfolipaz: Mikroorganizmalar konak hücrelerini enfekte ederken bir çok farklı mekanizma işleyiş gösterir. Bu mekanizmalardan birisi, hücre membranlarında bulunan proteinlerin ve fosfolipidlerin hidrolize olması sonucu hücreye penetrasyondur. Fosfolipidler, hayvan, bitki, mantar ve bakteri hücre membranlarının major komponentlerinden biridir. Fosfolipazlar, membran fosfolipidlerini hidrolize eden enzimlerdir. Gliserofosfolipidlerdeki bir veya birden fazla ester bağı kırarlar. Spesifik olarak kırdıkları fosfolipid bağlarına göre

Fosfolipaz A1, Fosfolipaz A2, Fosfolipaz B, Fosfolipaz C, Fosfolipaz D, lizofosfolipaz ve lizofosfolipaz trans açılaz olarak sınıflandırılırlar (36, 83).

Fosfolipaz enzimi, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Rickettsia rickettsii*, *Toxoplasma gondii* ve *Entamoeba histolytica* gibi birçok bakteri ve protozoada gösterilmiştir. Mantarlardan da, *Candida* cinslerinin, *Aspergillus* ve *Cryptococcus*'ların fosfolipaz salgıladığı saptanmıştır (36).

Yumurta sarısı kullanılarak hazırlanan “egg-yolk” besiyerinde yapılan ilk çalışmalarda *Candida* cinslerinin %79 oranında fosfolipaz ürettikleri bulunmuştur. Bu besiyerinde *Candida* türlerinden *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*'in fosfolipaz salgıladığı gösterilemezken, Fidel ve ark. (36)'nın belirttiğine göre Clancy ve ark. kolorimetrik yöntemleri kullanarak yaptıkları bir çalışmada, bu non-*albicans Candida* türlerinin de değişik oranlarda fosfolipaz salgıladığı bulunmuş, bu çalışmada *C. glabrata* suşlarının % 41 oranında fosfolipaz salgıladığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada non-*albicans Candida* türlerindeki fosfolipaz üretiminin *C. albicans*'la karşılaştırıldığında %10 daha az olduğu tesbit edilmiş, *C. glabrata* ve diğer non-*albicans Candida* türlerindeki fosfolipaz aktivitelerinin yumurta sarılı agar besiyerinde saptanamamasının miktarının az olması (%10 daha az) nedeniyle olabileceği düşünülmüştür (36).

2.6.4. Hif ve Psödohif Oluşturma

Birçok *Candida* türü, tomurcuklanan maya hücrelerinin (blastokonidyum) yanısıra yavru maya hücresinin ana maya hücresinden kopamaması sonucu oluşan, uzun, tübüler, hife benzeyen ve psödohif denilen yapılar oluşturur. Psödohif ve hif arasındaki en önemli fark, psödohifin boğumlar içermemesi ve konturlarının düzensiz olmasıdır. *C. glabrata* bazı özel koşullar dışında psödohif oluşturmaz (5). Csank ve ark *C. glabrata*'nın nitrojenden fakir katı besiyerinde psödohif oluşturduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada, nitrojenden fakir besiyeri olarak “Solid synthetic low ammonia dextrose nitrogen starvation medium” (SLAD) kullanılmıştır. Bu besiyeri glukoz %2 (w/v), amino asit içermeyen “yeast nitrogen base” 1.7 gr ve agar %2 (w/v) oranında karıştırılarak hazırlanmış, 37°C’de bir gecelik inkübasyondan sonra *C. glabrata* suşlarının psödohif oluşturduğu

saptanmıştır. Besiyerine nitrojen kaynağı olarak amonyum sülfat tekrar eklendiğinde, besiyerinde maya formunda üreme olduğu gösterilmiştir (14, 20, 85).

Maya formu *Candida albicans*'ın patojen olmayan morfoloji olup konakta kommensal halde bulunduğu durumlarda saptanır. *Candida albicans*'ın patojen morfoloji hif formu olup yüzey invazyonu yolu ile mukokütanöz ve dissemine kandidiyazis gelişiminden sorumlu olduğu düşünülen şekildedir. *C. albicans*'ın hif oluşturma yeteneği bir virülans faktörü olarak kabul edilmekte olup, hif, mantara, dokulara penetrasyon ve konak immün sisteminden kaçma yeteneği kazandırmaktadır. Hifal formun *C. glabrata* virulansındaki rolü bilinmemektedir (24).

2.7. Antifungal İlaçlar

2.7.1. Polyenler

Amfoterisin B, polyen grubu antifungal ilaçlardan olup ilk defa 1955 yılında *Streptomyces nodosus*'dan izole edilmiştir. En geniş spektrumlu polyen grubu antifungal ilaçtır. Amfoterisin B hayatı tehdit eden pek çok sistemik fungal enfeksiyonların tedavisinde halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Amfoterik özellikte bir madde olup asit ve bazik ortamda çözülebilen tuzlar yapar. Hidrofobik ve hidrofilik yan bağları vardır. Amfoterisin B suda çok az çözünür. Bu sebeple sodyum deoksikolat ile kararlı kolloidal süspansiyonları oluşturularak suda çözünürlüğü artırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan formülasyonu 1960'dan beri klinik kullanımdadır (29, 39, 80, 116).

Polyen grubu antifungal ilaçlar membran sterollerini ile kompleksler yaparak antifungal etki oluştururlar. Mantar membranındaki ergosterol ile etkileşen amfoterisin B, hücre membranında delikler oluşturup zar permeabilitesini artırır. Yüksek ilaç konsantrasyonunda mantar hücre membranında 40-150 nm çaplı porlar oluşturur. Bu porlardan hücre içindeki potasyum, magnezyum, glukoz ve diğer moleküller hücre dışına kaçar ve olay hücrenin ölümü ile sonuçlanır (29, 80, 116).

Fungisidal aktiviteye sahip olan amfoterisin B'nin etki spektrumu oldukça geniş olup patojen mantarların çoğuna etkilidir. *Candida* türlerine, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporotrichum spp.*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans* ve *Candida lusitanae*

suşlarının çoğuna etkilidir. *Scedosporium*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* gibi küflerde ve *Trichosporon beigeli*, *Candida lusitanae*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus neoformans* gibi maya mantarlarında amfoterisin B'ye primer intrinsik direnç gözlenebilir. *Candida glabrata* ve *Candida krusei* gibi non *albicans Candida* türlerinde ise amfoterisin B'ye farklı düzeylerde direnç saptanabilmektedir (29, 80, 116).

Amfoterisin B'nin gastrointestinal emiliminin iyi olmaması sebebi ile oral kullanımı mümkün değildir. Terapötik aralığı dardır. Topikal ve İV olarak kullanılır. İV dozu genellikle 0,5-1,5 mg/kg/gün şeklindedir.

İnfüzyon şeklinde verilen amfoterisin B'nin; ateş, myalji, döküntü, titreme bulantı kusma gibi yan etkileri vardır. Bu etkilerini azaltmak için difenilhidramin, parasetamol gibi maddelerle infüzyondan 30 dak. önce premedikasyon yapılır. Amfoterisin B'nin en önemli toksik etkisi nefrotoksisitedir. Bunun dışında infüzyona bağlı tromboflebit gelişimine neden olabilir (29, 80, 116).

Amfoterisin B'nin etki spektrumunun geniş, ancak terapötik aralığının dar, toksik etkilerinin yüksek ve çok lipofilik olması sebebi ile günümüzde lipid formülasyonları geliştirmiştir. Bugün kullanımda olan 3 lipid formülasyonu vardır (29, 63, 80, 116, 117, 119).

a) Amfoterisin B Lipid Kompleks (ABLC-Abelcet): ABLC amfoterisin B'nin dimiristoil fosfatidil-kolin ve dimiristoil fosfatidil-gliserol ile kompleks oluşturmasıyla elde edilen kurdele şeklinde yapılardır. Partikül çapı 1,6-11 µm'dir. İlacın nefrotoksik etkisi belirgin olarak azalmıştır. ABLC, 5mg/kg/gün dozunda kullanılır ve bu dozda klasik amfoterisin B ile in vivo ve in vitro olarak eşdeğer etkiye sahiptir (63, 119).

b) Amfoterisin B Kolloidal Dispersiyon (ABCD-Amphocil): ABCD, amfoterisin B'nin sodyum kolesteril sülfat ile disk benzeri yapı oluşturmasıyla elde edilmiş lipid formülasyonudur. Çapı 122 nm, kalınlığı 4 nm olan disk şeklinde bir yapıya sahiptir. İlacın toksik etkileri klasik amfoterisin B'ye göre daha az, etki spektrumu amfoterisin B ile aynıdır. İnfüzyona bağlı yan etkileri diğer lipidli amfoterisin B bileşiklerinden daha fazladır. ABCD'nin plazma seviyeleri klasik

amfoterisin B'ye göre daha düşük, yarı ömrü daha uzun, dağılım hacmi daha fazladır. Önerilen günlük doz 3-6 mg/kg/gün'dür (63, 119).

c) Liposomal Amfoterisin B (L-AMB-Ambisome): L-AMB, amfoterisin B'nin hidrojenlenmiş soy fosfatidil-kolin, di-stearoil-fosfatidil-gliserol ve kolesterol ile kompleks yapı oluşturmasıyla elde edilmiş, gerçek liposom içeren şeklidir. İlacın toksik etkileri klasik amfoterisin B'ye göre daha az, etki spektrumu amfoterisin B ile aynıdır. L-AMB'nin diğer lipid formulasyonlu ilaçlara göre plazma ilaç seviyeleri daha yüksek ve daha uzun sürelidir. L-AMP 3-5 mg/kg/gün dozunda kullanılır (63, 119).

Nistatin, *Streptomyces noursei*'den izole edilen polyen grubu bir başka antifungal ilaçtır. Oral kullanıldığında sistemik etki göstermemesi, parenteral kullanıldığında ise ciddi toksik etkilerinin görülmesi sebebi ile sadece topikal formu kullanılmaktadır. Nistatinin, amfoterisin B için olduğu gibi toksisitesi ana ilaca göre belirgin ölçüde azalmış ve sistemik kullanılabilen 'dimiristoil fosfatidil kolin' içeren lipozomlara bağlanmış bileşiği geliştirilmiş ancak bu bileşiğin gelişimi ile ilgili çalışmalar klinik kullanım aşamasına ulaşamadan sonlanmıştır (7, 80).

Nistatin de diğer polyen antifungal ilaçlar gibi hücre membranındaki ergosterole bağlanarak etkisini gösterir. Hücre membranının permeabilitesini bozarak hücre içindeki potasyum, magnezyum, şeker ve diğer metabolitlerin hücre dışına kaçmasına neden olur.

Nistatinin etki spektrumu amfoterisin B'inki gibi geniştir. *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus türleri*, *Trichosporon*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor* ve *Absidia türleri* gibi küf ve mayaların çoğuna in vitro etkili olup spektrumu birçok mantar cinsi ve türünü kapsamaktadır. Amfoterisin B'ye yanıt vermeyen bazı invaziv *Candida* enfeksiyonlarında lipozomal nistatinin etkili olabileceğine dair veriler elde edilmiştir (7, 80).

Nistatin intestinal sistemden minimal düzeyde emilmesi nedeni ile gastrointestinal sistemde gelişen *Candida* kolonizasyonunun tedavisinde oral olarak kullanılmaktadır. Uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımına bağlı olarak intestinal flora bozulmakta, bu da intestinal *Candida* kolonizasyonunu arttırmaktadır. Ruiz-Sanchez ve ark. tarafından yayınlanan bir olgu raporunda 8

yaşında bir kız çocuğunda üst solunum yolu enfeksiyonu gelişmiş ve geniş spektrumlu antibiyotik ile tedavi edilmiştir. Bu hastada daha sonra *C. albicans*'a bağlı intestinal kandidiyazis gelişmiştir. Hasta 8 saatte bir 500.000 IU oral nistatin ile 10 gün boyunca tedavi edilmiş ve tedaviye yanıt alınmıştır (105).

2.7.2. Primidin Analöğü (Flusitozin) (5-FC)

Flusitozin bu grubun tek üyesi olup, florlanmış pirimidin analöğüdür. Hücreye sitozin permeaz enzimi ile alınır ve sitozin deaminaz enzimi ile deaminasyonla 5-florourasile dönüştür. 5-FU'den oluşan bileşikler DNA ve RNA sentezini bozarak, hücre bölünmesini ve protein sentezini inhibe eder.

Flusitozin 1968'den bu yana kandidiyazis tedavisinde kullanılmaktadır. Flusitozin'in *Candida* ve *Cryptococcus neoformans* gibi birçok maya üzerine inhibitör etkisi vardır. 5-FC ye karşı primer direnç oranları çok yüksektir. Bu sebeple 5-FC amfoterisin B ve flukonazol gibi antifungal ilaçlarla kombine olarak tedavide kullanılmaktadır. Toksik etkileri, yüksek primer ve sekonder direnç oranları sebebi ile flusitozin az tercih edilen antifungal ilaçlardan biri olmaktadır. Primer direnç, tüm *Candida türleri* içinde en çok *C. albicans*'ta görülmekte olup %10-15 oranındadır (80, 90, 113).

Pfaller ve ark. tüm dünyada 200'den fazla merkezden topladıkları 8803 *Candida* izolatının flusitozin duyarlılığını, NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) tarafından önerilen mikrodilüsyon yöntemini kullanarak çalışmışlardır. Bu izolatların MİK₉₀ değeri 1µgr/ml ve flusitozine %95'i duyarlı, %2'si orta düzeyde duyarlı (İ) ve %3'ü de dirençli (R) olarak bulunmuştur. Ayrıca flusitozinin tüm *Candida türleri* içinde en çok *C. glabrata*'ya etkili olduğu bulunmuş, 1267 *C. glabrata* suşunun MİK₉₀ değeri 0,12 µgr/ml ve suşların %99'u flusitozine duyarlı olarak saptanmıştır (90).

Pfaller ve ark.'nın 2004'de yayınladıkları ve 601 *C. glabrata* suşunun 7 sistemik antifungal ilaca (amfoterisin B, flusitozin, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol, kaspofungin) duyarlılığını araştırdıkları çalışmada flusitozinin MİK₉₀ değeri 0,12 µgr/ml olarak bulunmuş ve suşların %99.2'sinin flusitozine duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, flukonazole dirençli olduğu

saptanan *C. glabrata* suşlarının tümünün flusitozine duyarlı olduğu bulunmuştur (91).

2.7.3. Azoller

Azoller, hem yüzeysel hem de derin mikozların tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta olan antifungal ilaçlardır. Mantar hücre membranının önemli bir komponenti olan ergosterol sentezini, sitokrom P-450'ye bağlı lanosterol demetilaz enzimini inhibe ederek engellerler (Tablo:1) . Bugün kullanılmakta olan azoller, azol halkasında iki ya da üç nitrojen bulunmasına göre ikiye ayrılırlar. Azol halkasında iki nitrojen bulunduran imidazoller, ketakonazol, mikonazol ve klotrimazolü içermektedir. Azol halkasında üç nitrojen bulunduran triazololler ise flukonazol ve itrakonazoldür. İmidazoller genellikle yüzeysel mikozların tedavisinde kullanılırken, triazololler sistemik mikozların tedavisinde kullanılmaktadırlar (39, 80, 112, 127).

Tablo 2.1. Ergosterol biyosentez yolu.

Gene Name	Enzim	Sterol Ara maddeleri	İnhibitör maddeler
		Squalen	
ERG 1	Squalen epoksidaz	↓	Alilaminler, Tiokarbamatlar
		2,3-Oksidosqualen	
ERG 7	Lanosterol sentaz	↓	
		Lanosterol	
ERG 11	Lanosterol C-14) demetilaz.	↓	Azoller
ERG 24	C-14 Sterol redüktaz	↓	Morfolinler
ERG 25 ERG X ERG Y	C-4 Sterol demetilaz enzimleri	↓	
		Zimosterol	
ERG 6	C-24 Sterol metil transferaz	↓	
		Fekosterol	
ERG 2	C-8 Sterol isomeraz	↓	Morfolinler
		Episterol	
ERG 3	C-5 Sterol desaturaz	↓	
ERG 5	C-22 Sterol desaturaz	↓	
ERG 4	C-24 Sterol redüktaz	↓	
		Ergosterol	

1944'de ilk azol bileşiği rapor edildikten sonra 1958'de ilk azol antifungal ilaç klinik kullanıma sunulmuştur. İlk sistemik triazololler olan flukonazol ve itrakonazol 1990 ve 1992'de kullanıma girmiştir.

Flukanazol ve itrakonazol klinik olarak etkin ve güvenli olmaları sebebi ile çok farklı mantarlarca oluşturulan invaziv fungal enfeksiyonların tedavisinde önemli ölçüde başarı sağlamışlardır. Ancak yaygın kullanılmaları, azollere direnç gelişimi problemini ortaya çıkarmıştır.

Flukonazol ve itrakonazole direnç gelişmesi yeni arayışlara sebep olmuş ve bugün üçüncü kuşak azol antifungal ilaçlar geliştirilmiştir. Bu ilaçlar vorikonazol, posakonazol ve ravukonazoldür. Bu triazololler benzer etkiye sahip olmakla birlikte bazı flukonazol ve/veya itrakonazole dirençli mantarlara güçlü antifungal etki göstermektedirler (127). Ancak azoller arası çapraz direncin görülebilmesi nedeniyle flukonazol ve/veya itrakonazole dirençli bazı suşlar yeni triazolollere de dirençli veya az duyarlı olarak bulunmaktadır (13, 66, 80, 82, 93, 113).

Pfaller ve ark. tüm dünyada 200'den fazla merkezden topladıkları 6970 *Candida* izolatının vorikonazol ve ravukonazol duyarlılığını NCCLS mikrodilüsyon yöntemini kullanarak çalışmışlardır. Çalışmaya alınan *Candida* izolatlarının vorikonazol ve ravukonazole duyarlılığının yüksek olduğu bulunmuştur. Vorikonazol ve ravukonazolün MIK_{90} değeri $0,25 \mu\text{gr/ml}$ bulunurken *Candida* suşlarının %98'i için MIK değeri $1 \mu\text{gr/ml}$ ve altında saptanmıştır. Vorikonazol ve ravukonazole en duyarlı tür *C. albicans* (MIK_{90} , $0,03 \mu\text{gr/ml}$) olarak belirlenirken, *C. glabrata*, duyarlılığı en az olan tür olarak bulunmuştur. Bu çalışmadaki 949 *C. glabrata* suşunun MIK_{90} değeri $1-2 \mu\text{gr/ml}$ arasında saptanmıştır (97).

Pfaller ve arkadaşları Kuzey Amerika, Latin Amerika, Avrupa ve Asya-Pasifik'ten 60'dan fazla merkezden topladıkları 3997 *Candida* izolatının yedi sistemik antifungal ilaca (amfoterisin B, flusitozin, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol, kaspofungin) duyarlılığını NCCLS mikrodilüsyon yöntemini kullanarak çalışmışlardır. Bu çalışmadaki 601 *Candida glabrata* suşunun vorikonazol MIK_{50} değeri $0,25 \mu\text{gr/ml}$, MIK_{90} değeri $1 \mu\text{gr/ml}$ ve suşları %92,8'inin MIK değeri $1 \mu\text{gr/ml}$ 'nin altında olduğu bulunmuştur. *C. glabrata* suşlarının ravukonazol MIK_{50} 'si $0,25 \mu\text{gr/ml}$, MIK_{90} 'ı $1 \mu\text{gr/ml}$ ve suşların %92,8'inin

MİK'nin ise 1 µgr/ml altında olduğu saptanmıştır. *C. glabrata* suşları için posakonazol MİK₅₀ değeri 0,5 µgr/ml, MİK₉₀ değeri 2µgr/ml ve suşların %85,4'ünün MİK değeri ise 1 µgr/ml altında olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada yeni triazoller içinde *C. glabrata*'ya en etkili olan bileşiğin vorikonazol olduğu sonucuna varılmıştır (91).

2.7.4. Duvar Sentez İnhibitörleri

Mantar hücre duvarı mannan, kitin, α-glukan ve β-glukan polimerlerine sahiptir. Bu yapıların doğada sadece mantar hücresinde bulunmaları sebebi ile antifungal tedavide ideal ilaç hedefidirler. Hücre duvar yapılarının sentezini inhibe eden birçok madde bilinmektedir (80, 113).

a) β-Glukan Sentez İnhibitörleri (Ekinokandinler): Duvardaki β-glukan yapısını inhibe eden üç grup madde vardır.

1-Akulesinler

2-Ekinokandinler (Kaspofungin,mikafungin,anidulafungin)

3-Papulokandinler.

Bunlardan sadece ekinokandin grubundaki maddeler antifungal tedavide kullanılabilirler. Bu gruptan silofungin ile ilgili klinik çalışmalar toksik etkiler nedeniyle sonlandırılmıştır. Yeni, suda çözünen ekinokandinler olan anidulafungin ve mikafunginin (FK 463) Faz 3 çalışmaları devam etmektedir (38,48). Kaspofungin ise Türkiye dahil bir çok ülkede klinik kullanıma girmiştir (60, 80, 113).

Ekinokandinler, *Candida* ve *Aspergillus* türlerine fungisidal aktivite gösteren lipopeptitlerdir. Mannan ve nükleik asit sentezi bozulmadan β-(1-3) glukan sentezini, muhtemelen glukan sentetaz enzimini inhibe ederek engellerler. Hücre duvarında kitin miktarının artmasına bağlı olarak hücre duvarı kalınlaşır. Mantar hücresi, oluşan tomurcukların hücreden ayrılamamasına bağlı olarak hızla yıkıma gider (7, 80, 113).

Kaspofungin, *Candida* türlerine, *Aspergillus* türleri *Histoplasma capsulatum* *Blastomyces dermatitis*, *Coccidioides immitis*, *Sporothrix schenckii* ve *Pneumocystis*

carinii'ye etkilidir. *Cryptococcus neoformans* ekinokandinlere doğal dirençli, *Fusarium* ve *Trichosporon* suşları ise dirençli veya az duyarlıdır (7, 38).

Pfaller ve arkadaşları Kuzey Amerika, Latin Amerika, Avrupa ve Asya-Pasifikten 60'dan fazla merkezden topladıkları 3997 *Candida* izolatının yedi (amfoterisin B, flusitozin, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol, kaspofungin) sistemik antifungal ilaca duyarlılığını NCCLS mikrodilüsyon yöntemini kullanarak çalışmışlardır. Bu çalışmada 601 *Candida glabrata* suşunun kaspofungine duyarlılığı da çalışılmıştır. Bu çalışmada kaspofungin *Candida glabrata* suşları üzerine en etkili ilaç olarak bulunmuştur (MIK₅₀ 0,03 µgr/ml, MIK₉₀ 0,06µgr/ml) ve suşların %100'nün MİK değeri ise 1 µgr/ml'nin altında saptanmıştır (91).

b) Kitin Sentez İnhibitörleri:Nikkomisinler: *Streptomyces tendae* tarafından üretilen peptid yapıda maddeler olup hücreye dipeptid permeaz yolu ile girer ve duvarda bulunan kitin biyosentezini inhibe ederler. Bunun sonucunda hücre parçalanarak ölür. Nikkomisinler maya ve küflere karşı zayıf etkinlikte bulunurken, dimorfik mantarlara etkili bulunmuştur. Koksidiyomikoz ve blastomikozda çok iyi düzeyde etkili, ancak histoplazmozda orta düzeyde etkili bulunmuştur. *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* ve *Fusarium* türleri nikkomisine dirençli bulunmuştur. *C. albicans* ve *C. parapsilosis* nikkomisine orta düzeyde duyarlı bulunurken, diğer *Candida* türleri, (*C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. glabrata*) nikkomisine dirençli bulunmuştur (62).

2.7.5. Alilaminler

Hücre membranında bulunan ergosterol biyosentezini bozarak etki gösterirler. Ergosterol biyosentez yolundaki skualen epoksidaz enzimini inhibe ederler (Tablo 2.1). Böylece ergosterol biyosentezi erken basamakta inhibe olur. Hücrede skualen birikmesine bağlı olarak hücre bütünlüğü bozular. Terbinafin ve naftifin bu gruptaki bilinen iki antifungal ilaçtır. Terbinafin patojen mantarların çoğuna etkili olup dermatofitlere, küflere, dimorfik mantarlara ve bazı mayalara etkilidir. İlk çalışmalarda *Candida albicans*'a düşük düzeyde etkili olduğu bulunmuşsa da daha sonraki çalışmalarda daha iyi düzeyde etkinlik spektrumu

saptanmıştır. Terbinafin özellikle dermatofitlere karşı yüksek düzeyde etkinlik gösterir (80, 113).

Ryder ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada 259'u *C. albicans* olan toplam 350 *Candida* izolatu NCCLS M27-A yöntemi kullanılarak test edilmiş, *C. albicans* ve *Candida parapsilosis* terbinafine yüksek düzeyde duyarlı, *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii*, *Candida humicola* ve *Candida lusitanae* suşlarının orta düzeyde duyarlı, *Candida glabrata*, *Candida krusei* ve *Candida tropicalis* ise dirençli olarak bulunmuştur. *Cryptococcus laurentii* ve *Cryptococcus neoformans* suşları ise terbinafine yüksek düzeyde duyarlı bulunmuştur (72).

2.7.6. Protein Sentez İnhibitörleri: Sordarinler

Protein sentezi antimikrobiyal ilaçların en önemli hedeflerinden biridir. Elongasyon faktör-3 (EF-3) mantarlarda protein sentezinde görevli olup, memeli hücrelerinde bulunmaz. Sordarinler EF-3'ü etkileyerek mantarlarda protein sentezini inhibe ederler. Halen üzerinde çalışılan birçok sordarin molekülü vardır. Yapılan çalışmalarda *Pneumocystis carinii* ve küf mantarları (*Aspergillus*) üzerine güçlü etkinlikleri olduğu gösterilmiştir. *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis* ve *Coccidioides immitis* gibi dimorfik mantarlara etkilidirler. *Fusarium* spp., *Pseudallescheria boydii* ve *Rhizopus arrhizus*'a ise etkili değildir. Sordarinler *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* ve *Cryptococcus neoformans* suşlarına değişen düzeylerde etkilidir. *Candida parapsilosis* ve *Candida krusei* suşları ise sordarinlere duyarlı değildir (43, 80, 113).

2.7.7. Griseofulvin

İlk defa 1939 yılında *Penicillium* cinsi mantarlardan izole edilmiştir. Suda çok az çözünür. Oral alımdan sonra saç ve deride bulunan keratinize hücrelerde depolanır. Yemeklerle alımı emilimini azaltır. Griseofulvin polimerize mikrotübül yapısına bağlanarak fungal mitozu inhibe eder. Özellikle dermatofit grubu mantarlara etkinliği vardır. Daha etkili ve daha az toksik ilaçların kullanıma girmesiyle birlikte griseofulvinin klinik kullanımı yaygınlığını kaybetmiştir (80, 113).

2.8. Tedavi

2.8.1. Orofaringiyal kandidiyazis (OFK): Günümüzde, OFK, özefagiyal ve vajinal kandidiyazis tedavisinde kullanılan birçok antifungal ilaç mevcuttur. *C. glabrata*'ya bağlı enfeksiyonların tedavisinde bu ilaçların karşılaştırmalı etkinlik çalışmaları sınırlı sayıdadır. Tedavide seçilecek ilacın türü, dozu ve tedavi süresi kesinlik kazanmamıştır. Kullanılan antifungal ilaçların etkinliği ve hastanın tedaviye verdiği cevap, HIV'li hastalarda kanserli hastalara göre daha düşüktür (33, 112, 55).

C. glabrata'nın etken olduğu OFK vakalarında antifungal ilaçların etkinliği ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Oral kandidiyazisde kullanılan topikal polyen ilaçların (nistatin) yerini bugün azol grubu antifungal ilaçlar almış, *C. glabrata*'ya bağlı OFK'in tedavisinde azoller kullanılmaya başlanmıştır.

Yeni azol grubu antifungal ilaçlar olan triazoller (flukanazol, itrakonazol), yüksek etkinlik ve güvenlik profillerine sahiptir. Bu ilaçlar son yıllarda özellikle AIDS'li hastalarda gelişen kötü prognozlu OFK vakalarında yaygın olarak kullanılmakta, 50-100 mg/gün dozunda uygulanan flukonazol tedavisi ile başarılı sonuçlar alınmaktadır (33).

Itrakonazol, yeni geliştirilen bir triazol olup geniş spektrumlu antifungal etkinliğe sahiptir. Diğer azoller gibi aynı mekanizma ile etki ederek fungal ergosterol sentezini inhibe etmektedir. Flukonazolden farklı olarak *non-albicans Candida türlerine*, özellikle *C. glabrata* ve *C. krusei*'ye daha güçlü etkinliğe sahip olabilir. Ancak azoller arası çapraz direnç nedeniyle flukonazole dirençli suşların bir kısmı itrakonazol ve diğer yeni triazollere de dirençli veya az dirençlidir. Son yıllarda yapılan prospektif, randomize karşılaştırmalı bir çalışmada itrakonazol 200 mg /gün ve flukonazole 100 mg/gün tedavileri OFK'lı benzer etkinlikte bulunmuştur (33).

2.8.2. Özofagiyal Kandidiyazis: *C. glabrata* özofajitlerinin tedavisinde genellikle *C. albicans* enfeksiyonu olan olgularda uygulanan antifungal ilaçlar ve protokoller uygulanmaktadır (33, 112).

Bugün, özofagiyal kandidiyazis tedavisinde en sık uygulanan ilaç oral ve intravenöz flukonazoldür. Oral flukonazol; ketakonazole göre daha yüksek güvenlik profiline sahiptir ve gastrik absorpsiyonu daha yüksek orandadır. Özofagiyal

kandidiyazis tedavisinin sistemik enfeksiyonlarına benzer şekilde İV yapılması gerektiğine dair görüşler yaygındır (33).

İtrakonazol ile yapılan çalışmalarda da yüksek mikolojik kür oranlarına ulaşılmıştır. *Candida* ösofajitlerinde intravenöz amfoterisin B solusyonları da düşük dozda uygulanabilmektedir. *C. glabrata* ve diğer *Candida* suşlarında azol grubu antifungal ilaçlara direnç varsa, yüksek doz intravenöz amfoterisin B tercih edilmelidir (33).

2.8.3. Vulvovajinal Kandidiyazis: *C. glabrata* vajinitli olguların, uygulanan konvansiyonel topikal ve oral antifungal tedaviye yanıt oranları tam bilinmemektedir. Çünkü hastalar önce birinci basamak sağlık merkezlerine başvurmakta ve bu merkezlerde antifungal tedavi uygulanmakta, birinci basamak merkezlere başvuran ve tedavi edilen olguların tam sayısı bilinmemektedir. Yayınlanan çalışmalarda yer alan hastalar ikinci ve üçüncü basamak sağlık merkezlerine başvuran hastalardır (33 ,69, 112).

İn vitro duyarlılık çalışmalarında bütün azol grubu antifungal ilaçların MİK düzeyleri *C. glabrata* suşlarında, *C. albicans* suşlarına göre daha yüksek bulunmaktadır. Bugün vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde genel olarak terkonazol, itrakonazol, ketakonazol ve flukonazol gibi antifungal ilaçlar kullanılmaktadır. En sık uygulanan antifungal ilaç flukonazoldür (96).

2.8.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları: Üriner kateter varlığında gelişen asemptomatik kandidüri, üriner kateter değiştirilirse veya çıkarılırsa genellikle kendiliğinden iyileşir. Bu olgularda asendan enfeksiyona bağlı sepsis gelişmesi son derece nadirdir. Ancak böbrek transplantasyonu geçiren, nötrepenik olan veya üriner cerrahi geçirmiş veya geçirecek olan olgularda kandidüri asemptomatik bile olsa tedavi edilmelidir. *C. glabrata*'ya bağlı semptomatik üriner sistem enfeksiyonu amfoterisin B ile genellikle başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. Enfekte eden suşun duyarlılık durumuna bağlı olarak flukonazol ile de başarılı sonuçlar alınmaktadır (10, 33, 112).

2.8.5. Sistemik Enfeksiyonlar (kandidemi): Sistemik *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde amfoterisin B altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak amfoterisin B'nin başta nefrotoksisite olmak üzere, ateş, myalji, döküntü,

titreme, bulantı, kusma gibi ağır toksik ve yan etkileri vardır. Flukonazol tedavisinde %2 oranında hepatotoksisite, hipokalemi, ateş gibi yan etkiler görülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda flukonazol tedavisinin, kandidemi gelişen nütropenik ve nütropenik olmayan hastalarda amfoterisin B kadar etkin olduğu bulunmuştur. Flukonazol daha iyi tolere edilen ve daha az yan etkiye neden olan bir tedavi seçeneğidir (33, 112).

2.9. Antifungal Duyarlılık (AFD) Testleri

Son 20 yıl içerisinde tanı ve tedavi alanlarındaki ilerlemeler, başta AIDS olmak üzere immün sistemi baskılayıcı hastalıkların artması, organ transplantasyonu ve kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi sonucunda, mantar enfeksiyonlarının insidansında önemli oranda artış gözlenmiştir. Mantar enfeksiyonları, immün sistemi baskılanmış olgularda en önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir. Malignite tanısı almış olguların post mortem otopsilerinde, hastaların yarısından fazlasının *Candida* türleri ile, yaklaşık 1/3'ünün *Aspergillus* türleriyle ve artan oranlarda *Cryptococcus* ve *Fusarium* türleri ile enfekte oldukları saptanmaktadır (6, 102, 103, 131).

Mantar enfeksiyonlarındaki artış ile birlikte özellikle son 10 yıl içerisinde antifungal ilaçların sayısında da artış meydana gelmiştir. Sistemik ve lokal kullanımda olan amfoterisin B, nistatin, imidazoller, triazoller, flusitozin, griseofulvin gibi klasik ve göreceli olarak eski antifungal ilaçlara ek olarak daha geniş spektrumlu yeni triazoller, ekinokandinler gibi birçok yeni antifungal ilaç geliştirilmiş ve amfoterisin B nin daha az toksik olan lipid formülasyonları geliştirilmiştir. Bazı ilaçlar ise henüz araştırma aşamasındadır (98).

Bu gelişmelerin sonucunda, aşağıdaki sebeplerle in vitro antifungal duyarlılık testlerinin uygulanması gerekliliği ortaya çıkmıştır (102, 131).

- 1-İnvaziv fungal enfeksiyonların artması
- 2-Antifungal tedavide farklı tedavi seçeneklerinin ortaya çıkması
- 3-Fungal etkenlerin spektrumunda değişiklik olması
- 4-Antifungal ilaç direncinin tesbit edilmesi; primer direnç varlığının fark edilmesi ve bazı suşlarda sekonder direncin ortaya çıkışı

5-İn-vitro duyarlılık sonucu ve in-vivo yanıt arasındaki uyumun belirlenmesinin gerekliliği

İdeal bir in-vitro duyarlılık testi aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (98):

1-İki ve daha fazla antifungal ilacın relatif aktivitelerini güvenilir bir şekilde ölçebilmeli,

2-Sonuçları in-vivo aktivite ile uyumlu olmalı,

3-Tedavi sonuçlarını ön görebilmeli,

4-Duyarlı bir popülasyonda direnç gelişimini belirleyebilmeli,

5-Yeni geliştirilen ilacın terapötik potansiyelini saptayabilmeli,

5-Laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği yüksek olmalı,

6-Hızlı sonuç verebilmeli,

7-Kolay uygulanabilir olmalı ve

8-Ucuz olmalıdır.

2.9.1. Antifungal Duyarlılık Testlerinin Yapılış Amaçları:

Antifungal duyarlılık testleri üç amaçla yapılmaktadır (4, 98, 102, 131).

1-Epidemiyolojik araştırmalar: Her merkezde izole edilen mantar suşlarının periyodik olarak antifungal ilaçlara (amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve flusitozin) karşı duyarlılıklarının tesbit edilmesi ve epidemiyolojik veri elde edilmesi amacı ile yapılır. Her merkezin farklı mantar cinsi ve türleri için kendi direnç oranlarını belirlemesi, akılcı ampirik antifungal tedavinin seçilmesinde faydalı olur.

2-İlaç geliştirme çalışmaları: Yeni ilaçların in-vitro aktivitelerinin saptanmasında ve in-vitro in-vivo korelasyonunun saptanmasında AFD tesleri kullanılır.

3-Tedaviye yön vermek: AFD testlerinin bakterilerde olduğu gibi rutin olarak her izolata uygulanması önerilmemektedir. Antifungal duyarlılık testleri uygulanmadan önce mantar izolatının doğru tanımlaması yapılmalıdır.

AFD testlerinin uygulanması özellikle aşağıdaki durumlarda önerilmektedir.

1-Derin infeksiyonlardan soyutlanan, invaziv kandidiyazis vakalarından izole edilen *Candida* cinsi mantarlara,

2-Özellikle *albicans* dışı *Candida* türlerine,

3-AİDS'li olgularda görülen rekürren orofaringiyal kandidiyazisten izole edilen *Candida* suşlarına,

4-Tedaviye yanıt alınamayan fungal enfeksiyon durumunda (98).

2.9.2. AFD Testlerinin Gelişimi

ABD'de 1982 yılında antifungal duyarlılık testlerini geliştirmek ve standart yöntem oluşturmak amacıyla NCCLS tarafından bir alt komite kurulmuştur. Bu komite 1992 yılında “*Proposed*” (M27-P) (73) , 1995 yılında “*Tentative*” (M27-T) (74) , 1997 yılında “*Approved*” dokümanını (M27-A) (75) ve 2002 yılında “*Approved*” dokümanının yeni ve ikinci versiyonunu yayınlamıştır (76). Bugün mayalardaki antifungal duyarlılık testleri yaygın olarak NCCLS tarafından yayınlanan M27-A2 dokümanındaki referans yönteme göre yapılmaktadır (102) (Tablo 3.3). Komite, küf mantarlarının antifungal duyarlılık testleri için de 1997'de “*Proposed*” dokümanını (M38-P) ve daha sonra da M38-A dokümanını yayınlamıştır (56, 77, 102).

2.9.3. AFD Testlerinde Kullanılan Yöntemler:

Günümüzde AFD testi olarak makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemleri referans yöntem olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler dışında agar difüzyon, E test, EUCAST yöntemi, “*flow sitometri*”, disk difüzyon ve kolorimetrik yöntemler de araştırılmaktadır (8, 102, 103).

Mayaların antifungal ilaçlara olan duyarlılığını test etmek amacıyla kullanılan yöntemler genel olarak 3 grup altında toplanabilir.

1-Dilüsyon temeline dayanan yöntemler: Bu grupta temel olarak başlangıçta referans yöntem olarak kabul edilen makrodilüsyon yöntemi ile daha sonra geliştirilen ve referans yöntem olarak kabul edilen mikrodilüsyon yöntemleri vardır (102).

Makrodilüsyon yöntemi uygulama zorluğu, zaman alıcı olması ve fazla malzeme gerektirmesi gibi dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajlar nedeni ile daha ekonomik olan, “**mikrodilüsyon yöntemi**” NCCLS tarafından referans yöntem

olarak kabul edilmiştir ve artık daha sık uygulanmaktadır. NCCLS tarafından bu yöntemde kullanılan parametreler standardize edilmiştir.

NCCLS tarafından geliştirilen referans mikrodilüsyon yönteminde, çeşitli nedenlerden ötürü bazı parametrelerde değişiklik yapılması önerilmiştir. Besiyeri olarak RPMI 1640 yerine, %2 glukoz içeren RPMI 1640 kullanılması 24 saatte daha iyi üreme sağladığı bildirilmiştir (131). Bunun dışında amfoterisin B duyarlılık testleri için besiyeri olarak %2 glukoz eklenmiş '*Antibiotic Medium 3*' kullanılması önerilmiş, bu besiyerinin dirençli suşları ayırmada RPMI 1640 besiyerinden daha başarılı olduğu öne sürülmüştür. Bu besiyeri ile test edilen suşların MİK aralığının RPMI'lı besiyeri ile elde edilene göre belirgin derecede genişlediği, özellikle dirençli suşları duyarlı suşlardan ayırmada daha başarılı olabileceği öne sürülmüştür (6).

NCCLS tarafından standardize edilen mikrodilüsyon yöntemi temel alınarak bazı modifiye yöntemler de geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin bir kısmı, sonuçların değerlendirilmesi açısından referans yöntemine göre farklılıklar göstermektedir.

EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) yöntemi: NCCLS tarafından yayınlanan M27 A standart mikrodilüsyon yöntemini esas alarak hazırlanmış, ancak bazı modifikasyonlar yapılmış bir yöntemdir. Mikrodilüsyon esasına dayanır. Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Testleri Komitesine bağlı Antifungal Duyarlılık Testleri Altkomitesi'nce "*Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*" 2002 yılında geliştirilmiştir. Bu testte inkübasyon periyodu 48 saat yerine 24 saat olarak kabul edilmiş, besiyeri olarak RPMI 1640 yerine, %2 glikoz eklenmiş RPMI 1640, inokulum miktarı $0,5-2,5 \cdot 10^3$ cfu/ml yerine $0,5-2,5 \cdot 10^5$ cfu/ml olarak önerilmiştir. Azol antifungal ilaçlar ve flusitozin için, üremenin görsel değil spektrofotometrik olarak %50 oranında inhibe edildiği en düşük konsantrasyon MİK okuma noktası olarak kabul edilmiştir. EUCAST yönteminde laboratuvarlar arası uyum %94 olarak saptanmıştır. Kandan izole edilen 109 *Candida* suşu için amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve flusitozinin test edildiği bir duyarlılık çalışmasında NCCLS mikrodilüsyon ile EUCAST mikrodilüsyon yöntemleri

arasında %80.7 ile %100 (ortalama %92) arasında değişen oranlarda korelasyon gözlenmiştir (8, 22, 23, 32).

MİK Sonuçlarının Spektrofotometre ile Okunması: MİK sonuçları EUCAST yönteminde olduğu gibi bulanıklığın görsel değerlendirilmesi yerine, spektrofotometrik olarak saptanması ile de belirlenebilmektedir. Spektrofotometrik okuma yapıldığında, antifungal ilaç içeren kuyucukların absorbansları, kontrol kuyucuğunun absorbansı ile karşılaştırılır. Bu yöntemde amfoterisin B için üremenin olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu MİK 90 olarak kabul edilir. 5-FC ve azoller için ise optik dansitenin kontrol kuyucuğuna göre %80 azaldığı kuyucuk MİK değeri olarak kabul edilir. Görsel okuma ile spektrofotometrik okuma arasında %100 ile %98 oranında uyum olduğu belirlenmiştir (102, 131).

MİK Sonuçlarının İndikatör Madde Yardımı ile Değerlendirilmesi: Alamar mavisi, XTT,MTT ve tetrazolium tuzları gibi indikatör maddeler kullanılarak renk değişikliğine dayalı değerlendirmeler de yapılmaktadır. Alamar mavisinin kullanıldığı yöntemde, normalde mavi olan ayraç üreme olduğunda pembeye dönüşmektedir. Bu yöntemde pembe renge değişme göstermeyen en düşük ilaç konsantrasyonu içeren mavi renkli kuyucuk MİK-0 değeri olarak kabul edilmektedir. Kolorimetrik yöntemle, üremenin görsel olarak değerlendirildiği NCCLS mikrodilüsyon yöntemi arasında %84 ile %95 arasında uyum saptanmıştır (102).

Mikrodilüsyon yönteminin kullanıldığı ticari kitler: Son yıllarda dilüsyon yöntemini temel alan Candifast, İntegral Systems Yeasts, Fungitest, ATP Fungus, Mycostandard, Mycototal gibi hazır kitler geliştirilmiştir. Bu kitler az sayıda ilaç konsantrasyonunu içermekte olup referans yöntemle korelasyonunu araştıran çalışmalar sınırlı sayıdadır (102) .

Fungitest mikrodilüsyon temeline dayalı ticari bir kittir. Bu yöntemde iki negatif, iki pozitif kontrol kuyucuğu ile birlikte, kullanılmakta olan altı antifungal ilaca dirençli ve duyarlı suşları ayırt edebilecek iki konsantrasyonun dehidrate halde bulunduğu kuyucuklar içerir. Bu yöntemle referans mikrodilüsyon yöntemi arasında *Candida* ve *Cryptococcus neoformans* suşları için karşılaştırmalı duyarlılık

çalışmaları yapılmıştır. NCCLS ve Fungitest yöntemleri arasında çeşitli antifungal ilaçlar için %76-100 arasında değişen uyum oranları tesbit edilmiştir (26, 131).

2-Difüzyon Temeline Dayalı Yöntemler: Disk difüzyon yöntemi ve Etest bu temele dayanan yöntemlerdir.

Disk difüzyon yöntemi: Rutin kullanım için elverişli olup şu anda NCCLS tarafından flukonazol için *Candida* türlerinde kullanılmak üzere standardize edilmiş bir disk difüzyon yöntemi mevcuttur (M44A). Ucuz ve uygulaması kolay bir yöntemdir. Bu yöntemde 25 mikrogram flukonazol emdirilmiş diskler ve glukoz ve metilen mavisi eklenmiş Mueller Hinton agar besiyeri olarak kullanılmaktadır. Disk difüzyon yönteminin referans yöntemle özellikle flukonazol için çok iyi korelasyon gösterdiği bildirilmektedir. Barry ve ark. yaptığı bir çalışmada %97 korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Testin dezavantajı doza bağlı duyarlı suşlar ile gerçek dirençli bazı suşları ayırt edememesidir (6, 12, 68, 131).

Etest yöntemi: Bu yöntemde antifungal ilaç emdirilmiş test stripleri kullanılır. Yöntem kolay uygulanabilen, ek malzeme gerektirmeyen, MİK değerlerini saptayabilen fakat pahalı olan bir yöntemdir. Besiyeri olarak %2 glukozlu RPMI 1640, ‘antibiotik medium 3’ veya ‘‘Casitone’’ agar besiyeri kullanılmaktadır. Etest yöntemi ile referans yöntem arasında %95-97 arasında değişen uyum oranları saptanmıştır (68, 102).

3-‘‘Flow cytometry’’

Bu yöntemde, DNA ‘ya bağlanabilen vital boyalar ile ölü ve canlı hücreler birbirlerinden ayrılabilir. Antifungal ilaca bağlı olarak membran hasarı olan hücrelerde boyalar hücre içine girer, DNA’ya bağlanır ve floresans verir. Yöntem bu flörosansın ‘‘flow cytometry’’ cihazında ölçülmesine dayanır. Yöntem kısa sürede sonuç vermesi ve çok hassas olması sebebi ile avantajlı olmakla birlikte, gereken teçhizatın her laboratuvarında sağlanamaması nedeniyle yaygın kullanım alanı bulamamaktadır (102).

2.9.4. *Candida* Türlerinde Antifungal İlaçlar için Direnç Sınır Değerleri

Candida türleri fırsatçı mikozlara en sık sebep olan mantardır. Bu nedenle antifungal duyarlılık testlerinin en çok uygulandığı ve klinik yanıt ile korelasyonun en çok araştırıldığı mantar cinsidir. Bu testlerde *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazol ile yeni kullanıma giren ve geliştirilen ilaçların aktivitesi araştırılmaktadır (11, 75, 102, 103).

Amfoterisin B: Amfoterisin B için elde edilen MİK değerleri, test edilen *Candida türlerinin* hepsinde benzerdir ve elde edilen MİK aralığı çok dardır. Bu bulgu, NCCLS yönteminin dirençli suşları duyarlı suşlardan ayırmada yetersiz kaldığını düşündürmüştür. Sonuç olarak amfoterisin B için MİK direnç sınır değerleri kesin olarak belirlenememiştir. Bugün kabul gören görüş *Candida* izolatlarında amfoterisin B direncinin nadir olduğudur. Klinik yanıtızlığın konağın bağışıklık sistemi ile ilgili faktörlerin düzelmemesinden kaynaklanma olasılığının yüksek olduğu düşünülmektedir. Ayrıca *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. lusitaniae* gibi non-*albicans* suşlarda amfoterisin B için yüksek MİK değerleri ve azalmış duyarlılık saptanmaktadır (75, 102, 132).

Flukonazol: Amfoterisin B'nin aksine *Candida* suşları için saptanan flukonazol MİK değerleri geniş bir aralıkta dağılmakta, dirençli ve duyarlı suşların birbirinden ayrılmasına olanak sağlamaktadır. Flukonazol için elde edilen direnç sınır değerleri daha çok orofarengeyal kandidiyazisli olgulardan izole edilen suşlar için saptanmıştır. İnvaziv kandidiyazis için elde edilen veriler daha sınırlı olup bu değerlere benzerlik göstermektedir. *C. krusei* flukonazole doğal dirençli bir *Candida* türüdür. *C. krusei* için elde edilen MİK değerlerinin yorumlanmasında direnç sınır değerleri kullanılmaz (2, 75, 102, 132).

İtrakonazol: İtrakonazol için de *Candida* suşlarına uygulanması önerilen direnç sınır değerleri belirlenmiştir. Bu değerler sadece orofaringiyal kandidiyazis enfeksiyonları için elde edilen veriler esas alınarak hazırlanmıştır. Azoller arası çapraz direnç sebebi ile flukonazole dirençli olan *Candida* suşlarının bir kısmında itrakonazole direnç veya azalmış duyarlılık görülebilmektedir (75, 102, 132).

2.9.5. AFD Testlerinin Klinik Yansımaları

İnvitro olarak yapılan AFD testleri, in vivo koşullarda antifungal ilaçla karşılaşan mantarın, kompleks ve dinamik biyolojisini göz önüne almaz. Bu nedenle, AFD test sonuçları değerlendirilirken bazı kriterler göz önünde bulundurulmalıdır (98, 102, 103).

1- Belirlenen MİK değeri bir tahmindir. MİK fiziksel ve kimyasal bir ölçüm değildir. Uygulamada laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası farklılıklar duyarlılık testlerinin en büyük sorunu olup uygulayan kişiye bağlı değişkenlik gösterir. Bu değişkenler inokulum miktarı, ısı, inkübasyon süresi, test şekli ve direnç sınır değeri tesbitidir (102).

2-a- Klinik sonucun belirlenmesinde konağa ait faktörler, özellikle bağışıklık sisteminin durumu duyarlılık test sonuçlarından daha önemlidir.

b- İlacın farmakokinetiği: İlacın dozu, penetrasyonu, stabilitesi, proteinlere bağlanması, ilaç-ilaç etkileşimleri, ilacın kan düzeyi klinik sonuca etkisi olan parametrelerdir.

c- Uygun hasta bakımı ve enfeksiyonun yeri klinik yanıt etkiler.

d- Enfeksiyon etkeni olan mantarın virulans faktörleri klinik yanıt etkiler.

3-Yapılan çalışmalar in vitro duyarlılıkla, in vivo yanıt arasında korelasyon olduğunu göstermiştir. Bu konudaki çalışmalarda daha çok flukonazol ve itrakonazol için mukozal kandidiyazisli olgular incelenmiştir. Bir *Candida* suşu in vitro olarak flukonazol/itrakonazole duyarlı ise tedavide %60-98 oranlarında başarı sağlanmakta, in vitro olarak flukonazol/itrakonazole dirençli ise %0 ile %76 oranlarında tedaviye yanıt saptanmaktadır (37, 104).

Antibakteriyel duyarlılık testleri ve bakteriyel enfeksiyonların yanıtı ile ilgili 30 yılı aşkın süredir yapılan çalışmalarda ‘‘90-60’’ kuralı olarak adlandırılan bir kural belirlenmiştir. Bu kurala göre, tedavi için enfeksiyon etkeni olan suşun duyarlı olduğu bir antibiyotik kullanıldığında klinik yanıt şansı yaklaşık %90 iken, etken suşun dirençli olduğu bir antibiyotik kullanıldığında klinik yanıt şansı yaklaşık % 60’dır. Yapılan çalışmalarda, mantarlar için de, özellikle *Candida* suşlarına bağlı

gelişen enfeksiyonlarda, azollerle yapılan tedavilerde, bu kuralın geçerli olduğu saptanmıştır (132).

4-İn vitro duyarlılık testinde mantarın antifungal ilaca duyarlı olması tedavinin başarılı olacağını göstermez. İn-vitro sonuç sadece uygun tedavinin seçilmesinde yardımcıdır.

5- İn-vitro olarak direnç tesbit edilmesi bir çok olgu için tedavide başarısızlığı işaret eder ve klinik başarısızlık ile koreledir.

2.10. Antifungal Direnç

Günümüzde oral ve özofagiyal kandidiyazisli olgularda çeşitli azol türevleri ve polyen antifungal ajanlara karşı direnç geliştiğine dair birçok yayın mevcuttur. Bugün, dirençli suşlarla invaziv fungal enfeksiyonlar gelişebilmekte ve bunların tedavisi son derece güç olmaktadır (33).

Candida glabrata suşları diğer *Candida* türü suşlarla karşılaştırıldığında bir çok ilaç için daha yüksek MİK değerlerine sahip olduğu görülmüştür. *Candida glabrata* için saptanan flukonazol ve itrakonazol MİK değerleri, özellikle *C. albicans* için saptananlardan çok yüksektir. *Candida glabrata* azoller ve amfoterisin B dahil birçok antifungal ilaca doğal olarak daha az duyarlıdır (33).

C. glabrata suşlarının flukonazole karşı hem primer hem de sekonder dirençli olduğuna dair yayınlar vardır. Ancak en çok tesbit edilen direnç tipi sekonder antifungal dirençtir. *C. glabrata*'ya karşı gelişen sekonder direncin sebebi bilinmemektedir. *C. glabrata*'nın haploid yapıda genomunun olmasının bu direnç gelişiminde katkısının olabileceği düşünülmektedir. *C. glabrata*'nın itrakonazol ve ketokonazole karşı sekonder direnç oranı %15'den azdır (33).

Flukonazole karşı direnç özellikle AIDS'li hastalarda gelişen orofarengeyal kandidiyazis ve özofagiyal kandidiyazis tablolarında tesbit edilmektedir. Ayrıca, dirençli suşlara fungemili ve vulvo vajinal kandidiyazisli olgularda da rastlanmaktadır.

Polyen grubundaki amfoterisin B ve nistatin gibi antifungal ilaçlara direnç gelişmesi azollere göre nadir rastlanılan bir durumdur. Amfoterisin B'ye karşı dirence özellikle immün sistemin baskılandığı kanser hastalarında rastlanmaktadır.

Daha önce polyen ve azol tedavisi ve/veya kemoterapi alan hastalarda, amfoterisin B'ye direnç gelişme riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu tedavilerin mantar hücre membranında değişiklik yaparak dirence neden olduğu düşünülmektedir.

Pseudallescheria boydii, *Scedosporium*, *Fusarium* spp., *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* gibi küflerde ve *Trichosporon beigelii*, *Candida lusitanae*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus neoformans* gibi maya mantarlarında amfoterisin B'ye karşı primer intrinsik dirence rastlanmaktadır (29, 80, 116). Sekonder ilaç direncine özellikle kemoterapi alan kanser hastalarında ve transplant hastalarında rastlanmaktadır. HIV pozitif olup, uzun süreli azol proflaksisi alan hastalardan izole edilen bazı *C. albicans* suşlarında da amfoterisin B direnci saptanabilmektedir. *C. glabrata* suşlarında amfoterisin B' ye karşı direnç tesbit edilmemiştir. Ancak, elde edilen amfoterisin B MİK seviyeleri *C. albicans*'a göre daha yüksektir (29, 33, 80, 116).

Primer flusitozin direncine *C. albicans* suşlarında, non-*albicans Candida* türlerinde, *Aspergillus* türlerinde, *Cryptococcus neoformans*'da ve bazı dimorfik mantarlarda yüksek oranlarda rastlanmaktadır. Sekonder flusitozin direncine de özellikle flusitozinin tek ilaç olarak kullanıldığı hastalarda ve immünsuprese olan hastalarda rastlanmaktadır.

Candida türlerinde 5-FC'e hem primer hem de sekonder direnç saptanmıştır. 5-FC direnci başta *C. albicans* olmak üzere *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis* türlerinde yaygındır. Flusitozine karşı direnç en çok *C. albicans* suşlarında tesbit edilmiştir. *C. albicans*'larda 5-FC'e %10 primer direnç, %30 sekonder direnç saptanmıştır. Bu türlerin aksine 5-FC direnci *C. glabrata* suşlarında nadirdir. *C. glabrata* suşlarının çoğunluğu 5-FC ye karşı duyarlıdır. 5-FC, *C. glabrata* enfeksiyonlarında yaygın şekilde kullanılmamaktadır (33, 125) .

Antifungal direnç temel olarak iki grupta incelenir:

A-Klinik direnç

B-İn-vitro direnç: Primer (intrinsik) ve sekonder direnç olmak üzere iki alt gruptan oluşur (33, 58, 64, 125).

2.10.1. Klinik Direnç

Uygun antifungal tedavinin kullanılmasına rağmen fungal enfeksiyonun tedaviye yanıt vermemesi veya fungal enfeksiyonda ilerleme, şiddetinde artma görülmesi durumudur. Fungal enfeksiyonlarda tedavinin başarılı olması sadece uygun ve duyarlı antifungal tedavi uygulanmasına bağlı değildir. Bunun dışında tedavinin uygulandığı konağa özgü faktörler, tedavi edilmeye çalışılan mantara ait faktörler ve kullanılan antifungal ilaca ait özellikler de tedavinin başarısını etkiler. Özellikle konağın immün durumu, hasta uyumu, konakta persistant (inatçı) enfeksiyon odağının olup olmaması, kateter olup olmaması, ilacın enfeksiyon bölgesine yeterli dağılmaması tedavinin başarısını etkilemektedir (125). Klinik dirençte rol oynayan mekanizmalar Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2. 2. Klinik direnci etkileyen faktörler.

Mantara özgü faktörler	İlaca özgü faktörler	Konak faktörleri
İlaç duyarlılığı	İlacın fungistatik özelliği	İmmünite
Hücre tipi	Doz	Enfeksiyon bölgesi
Maya/hifal yapı	Farmakokinetik özellikler	Enfeksiyonun şiddeti
Fenotipik değişim (<i>switching</i>) varlığı	Absorbsiyon	Yabancı materyal kateter.
Serotip	Dağılım	Apse varlığı
Genomik stabilite	Metabolizma	Hasta uyumsuzluğu
Biofilm oluşumu	İlaç etkileşimleri	

2.10.2. İn-vitro Direnç

İn-vitro direnç, a- primer direnç ve b- sekonder direnç olarak ikiye ayrılır. Primer direnç, intrinsik direnç olarak da bilinir. Mikroorganizmanın; *C. krusei*’de olduğu gibi ilaca doğal olarak dirençli olması durumudur. *C. krusei* flukonazole doğal dirençlidir. Sekonder direnç ise mikroorganizmanın antifungal ilaca daha önceden dirençli olmadığı halde daha sonradan direnç geliştirmesi durumudur. Geçmişte nadir olarak görülen sekonder direnç, bugün AIDS’li hastalarda gelişen

orofaringiyal ve esöfagiyal kandidemilerde en önemli sorunlardan biridir (33, 58, 125).

a-Primer dirençte (intrinsik direnç) rol oynayan mekanizmalar şunlardır:

1-Duyarlı suşlar yerine daha dirençli suşların yerleşmesi (*C. krusei*, *C. glabrata*, *C. albicans*)

2- Genetik alterasyonla (değişiklik) endojen suşların dirençli hale gelmesi

3- Endojen suşların geçici gen ekspresyonu ile geçici olarak dirençli hale gelmesi (epigenetik direnç)

4- Hücre mantar tipinde değişiklik olması: maya hif değişimi, fenotipik değişim

5-Mantar populasyonunun değişime uğraması

Duyarlı suşlar yerine daha dirençli suşların yerleşmesi: Konak immün sistemi ve floradaki endojen mantarlar dirençli suşların yerleşmesine engel olurken, immün yetmezliği olan ve antifungal ilaç alan hastalarda endojen flora dirençli suşlarla yer değiştirmektedir. Günümüzde azol antifungal ilaçların tedavide ve antifungal proflekside yoğun olarak kullanılması, doğal dirençli *C. krusei*, *C. glabrata* ve *C. albicans* suşlarının hasta populasyonunda artmasına neden olmuştur (125).

Genetik alterasyonla endojen suşların dirençli hale gelmesi: Mikroorganizmalarda düşük düzeyde, (10^{-6} , 10^{-8}) oranlarında genetik mutasyon ihtimali vardır. Maya hücreleri de genetik mutasyon sonucu daha dirençli hale gelmektedir. Primer olarak antifungal ilaca dirençli olmayan bir suş antifungal ilacın uzun süreli kullanılmasına bağlı olarak dirençli hale geçebilir. Dirençli suşlar da doğal seleksiyon sonucu konakta baskın hale gelebilir.

Bir hipoteze göre, antifungal ilaç direnç sebebi olmayıp duyarlı suşların ortadan kalkmasına neden olduğu için populasyonda dirençli suşların dominant hale geçmesine yol açmaktadır. Bir başka deyişle, duyarlı suşlar doğal seleksiyona uğramakta, dirençli suşlar hakim hale gelmektedir (125).

Gen ekspresyonu ile geçici olarak dirençli hale gelme (epigenetik direnç): Bazı *Candida* suşları ortamda antifungal ilaç bulunduğu anda, duyarlı olduğu ilaca

karşı geçici olarak dirençli hale gelmektedir. Bu fenomene epigenetik direnç denir. Maya hücresi geçici olarak gen ekspresyonuna uğramakta, hücre fenotipini değiştirmektedir. Ortamdaki antifungal ilaç çekildiğinde dirençli fenotip tekrar duyarlı fenotipe dönüşmektedir (125).

Mantar hücre tipinde değişiklik olması: *C. albicans* birçok farklı hücre tipine ve bu farklı hücre tipleri farklı antifungal ilaç duyarlılıklarına sahiptir. *C. albicans* yüzeyindeki karbonhidrat yüzey belirteçlerine göre iki farklı serotipe ayrılır. *C. albicans* B serotipleri A serotiplerine göre azollere (ketakonazol) daha duyarlı iken 5-FC'e daha dirençlidir.

C. albicans dimorfik bir mantar olup hem maya hem de hif formuna sahiptir. Tomurcuklanan maya hücreleri daha çok kommensal maya formunu oluştururken, hif formu daha çok mantarın patojen olduğu durumlarla ilişkilidir. Azoller, terapötik sınırlarda hif oluşumunu engellemektedir. Ancak duyarlı suşların mı yoksa dirençli suşların mı hif oluşturabildiği bilinmemektedir. Azollere dirençli suşların hif oluşturduğu, bu sebeple daha patojen olduğu, buna karşılık duyarlı suşların ise hif oluşturmadığı düşünülmektedir. Bunun dışında *C. albicans*'larda maya –hif dönüşümü yanında fenotipik değişim (switching) de görülmektedir. *C. albicans* birçok farklı maya formunda bulunabilmekte ve farklı gen ekspresyonlarına bağlı olarak, farklı hücresel yapılar oluşmaktadır. Bu yapılar farklı azol antifungal ilaç duyarlılığına sahip olabilmektedir (125).

Mantar popülasyonunun değişime uğraması: Mantar hücre popülasyonunda antifungal ilaç direnci sabit değildir. Aynı konakta aynı koloni içindeki benzer suşlarda farklı antifungal ilaç duyarlılıkları mevcut olabilmektedir. Bu farklılıklar, genomik instabiliteye veya genomik farklılıklara bağlıdır. Birçok hücre mutasyon sonucu direnç geliştirebilmektedir (125).

b-Sekonder Dirençde Rol Oynayan Moleküler Mekanizmalar:

Mantar hücresinde ilaç direncine sebep olan birçok moleküler mekanizma tanımlanmıştır (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Antifungal ilaç direncinin oluşmasında rol oynayan moleküler mekanizmalar.

1-İlaç alımında değişiklik
2-İlacın hücre içinde işlenmesinde değişiklik Modifikasyon Degradasyon
3-Hedef enzimde değişiklik Nokta mutasyonu Enzimin fazla salgılanması Gen çoğalması Gen değişmesi ve mitotik rekombinasyon
4-Ergosterol biyosentezindeki diğer enzimlerde değişiklik
5-Efluks (atım) pompaları ABC taşıyıcıları MFS taşıyıcıları

Azol grubu antifungal ilaçlara karşı oluşan sekonder dirençde aşağıdaki mekanizmalar rol oynamaktadır.

1- İlaç alımında değişiklik: Hücre içine ilaç alımındaki bozulma sık rastlanılan mekanizmaların başında gelmektedir. Azoller hücre içine tam bilinmeyen bir mekanizma ile, muhtemelen pasif difüzyonla alınmaktadır. Hücre içi ilaç konsantrasyonu, hücre içi alım mekanizmaları ile ilacı hücre dışına atan efluks pompalarının arasındaki denge sonucu belirlenmektedir. İlacın hücre içine alımına ilişkin araştırmalar, işaretli ilaçlarla çalışılarak yapılmaktadır.

Hücre membranındaki sterol kompozisyonu da, hücre içindeki ilaç akümülesyonunu etkilemektedir. Bir çok çalışma göstermiştir ki membran ergosterol kompozisyonu diğer membran sterollerinin miktarını arttırmakta veya azaltmaktadır. Bu değişiklik hücre membran permeabilitesini ve akışkanlığını değiştirmektedir. Bu

geçirgenlikteki değişiklik hücre içine azol antifungal alımını da etkilemektedir (125).

2- İlacın hücre içinde işlenmesinde değişiklik: Hücre içi ilaç yıkım ve modifikasyonu, birçok bakteri ve ökaryotik hücrede önemli ilaç direnç mekanizmalarından biridir. Mantarlarda antifungal ilaçların yıkım ve modifikasyonuna dair çok az çalışma vardır. Azoller *C. albicans* suşlarında hücre içi yıkım ve modifikasyona uğramazlar. Ancak dirençli suşlar ve non-*albicans Candida* suşları için bu konuda çalışma yoktur (125).

3- Hedef enzimde değişiklik: İlaç direncinde önemli mekanizmalardan biri de hedef enzimdeki veya aynı biyokimyasal yoldaki diğer enzimlerdeki modifikasyonlar ve değişikliklerdir. Azoller için hedef biyokimyasal yol, ergosterol biyosentez yoludur. (Tablo 1) Bu yoldaki enzimlerdeki değişiklikler azol antifungal ilaçlara direnç gelişmesine neden olmaktadır (125).

Azoller için en önemli hedef enzim ERG-11 geni tarafından kodlanan lanasterol demetilaz enzimidir. Bu enzimdeki bozulmalar 14 α -metil sterollerin; özellikle 14 α -metil fekosterol ve diol 14 α -metil ergosta-8,24-dien-3 β , 6 α -diol bileşiklerinin birikmesine neden olur. Azollere maruz kalan mantar hücrelerinde 14 α -metil steroller birikir. Biriken 14 α -metil steroller hücre membran akışkanlığının bozulmasına neden olur. 14 α -metil steroller, mantar hücresinin, konağın oksijen bağımlı mikrobisidal öldürme sistemlerine olan hassasiyetini artırır.

Azol direncinde en önemli enzim olan lanasterol demetilaz enziminin geni olan ERG-11 deki birçok genetik değişiklik azol direncine neden olur (19, 65).

***Hedef enzimde gen mutasyonu:** ERG-11 de bugüne kadar yedi değişik nokta mutasyonu tanımlanmıştır. Bu nokta mutasyonlarının enzimin aktif bölgesinde bulunan “*heme*” molekülünde de yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğu düşünülmektedir. *C. glabrata* ile yapılan mutasyon çalışmalarında ERG-3 ve ERG-11 genleri delesyona uğratılmış suşların flukonazol, itrakonazol ve amfoterisin B'ye artmış direnç geliştirdiği saptanmıştır (35, 49).

***Enzimin fazla salgılanması:** Farklı klinik izolatlarda ERG-11 geninin fazla ekspresyonu tesbit edilmiştir. Bu aşırı ekspresyonun tek başına dirence neden

olmadığı; fakat diğer direnç mekanizmalarını etkileyerek, örneğin efluks pompalarını etkileyerek dirence neden olabileceği düşünülmektedir.

***Gen çoğalması:** Gen çoğalması ve mitotik rekombinasyonlar azol direncine neden olmaktadır. Önemli direnç mekanizmalarından biri de ERG-11 geninin amplifikasyonu, yani çoğalmasıdır. Genin birçok kopyasının oluşması, enzim ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır. Flukonazole dirençli *C. glabrata* suşlarında yüksek lanastorol demetilaz enzim seviyelerine rastlanmıştır. Bu suşlarda ERG-11 gen ve ERG-11 mRNA seviyelerinin de yüksek olduğu saptanmıştır (67). Reeding ve ark. OFK'lı bir hastada izole ettikleri *C. glabrata* suşunda flukonazole direnç geliştiğinde CgCDR1, CgCDR-2 ve CgERG 11 gen ürünlerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir (13, 15, 100).

***Gen delesyonu:** Bazı *C. glabrata* suşlarında ERG-11 geninin delesyona uğradığı ve suşların flukanazole dirençli olduğu tesbit edilmiştir. Bu suşların oksidatif öldürme mekanizmalarına ($H_2 O_2$) daha hassas olduğu bulunmuştur (49).

4-Ergosterol biyosentez yolundaki diğer enzimlerdeki değişiklik: Diğer enzimlerde olan değişiklikler de antifungal ilaç direncine neden olmaktadır. Bu yolda görevli enzimlerin genleri birçok maya hücresinde tanımlanmış ve klonlanmıştır. Ergosterol biyosentez yolunda bulunan C-5 sterol desatüraz enzimini kodlayan ERG-3 genindeki (Tablo 1) mutasyonlar da azol direncine neden olmaktadır (35, 49, 128).

5- Efluks (atım) pompa sistemi: Hücre içi ilaç konsantrasyonun yetersiz olması antifungal ilaç direncinde en önemli mekanizmalardan biridir. Hücreye pasif difüzyon ile giren antifungal ilaçlar, hücre dışına aktif efluks (atım) proteinleri ile pompalanmaktadır. Antifungal ilaçlara dirençli olan suşlarda hücre içi ilaç akümüülasyonunun düşük olduğu, duyarlı kökenlerde ise ilaç akümüülasyonunun yüksek olduğu bulunmuştur. Azol antifungal ilaçlara doğal dirençli *C. krusei*'de membrandaki ergosterol yapımında ve yapısında bir değişiklik olmadığı halde hücre içi ilaç akümüülasyonunun düşük olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmalar sonucu hücre ilaç konsantrasyonunun enerji bağımlı efluks pompalarına bağlı olarak azaldığı tesbit edilmiştir (70, 108, 110, 125).

Mantar hücrelerinde ilaç direncinde rol alan iki tip efluks pompa sistemi tanımlanmıştır:

i-ATP Bağlayıcı Kaset Ailesi (ATP Binding Cassette Transporters) (ABCT)

ii-Majör Kolaylaştırıcı Aile (Major Facilitators Superfamily) (MFS)

Her iki pompa tipi de diğer ökaryotik hücrelerde ilaç direncine neden olmaktadır. ABCT proteinleri genellikle hücreye toksik olan hidrofobik (lipofilik) moleküllerin hücreden atılmasında ve hücreye gerekli esansiyel maddelerin taşınmasında rol alır. MFS proteinleri de yine hücreye toksik olan maddelerin atılmasında, benomyl, metotreksat, tetrasiklin ve flukonazol gibi ilaçlara direnç gelişiminde rol alır (125).

Saccharomyces cerevisiae'de bugüne kadar ABCT proteinlerini kodlayan 30 gen tesbit edilmiştir. Bu proteinler benzerliklerine göre 6 aileye gruplanmış olup bunlardan bazıları MDR, CFTR, YEF, PDR olarak adlandırılmıştır. *Candida cinsi* mantarlarda PDR ailesinden efluks pompaları tanımlanmış bu efluks pompa proteinlerini kodlayan 5 gen bölgesi bulunmuştur. Bunlar azol ilaç direncinde rol almaları nedeni ile CDR (Candida Drug Resistance) (CDR1 – CDR5) olarak isimlendirilmiştir. Özellikle CDR1 geni fazla eksprese olduğunda antifungal ilaçlara direncin arttığı, CDR1 delesyonuna uğrayan mutantlarda da azol grubu antifungal ilaçlara duyarlılığın arttığı bulunmuştur (15, 47, 87, 88, 111).

Sanglard ve arkadaşları iki farklı AIDS hastasından izole ettikleri duyarlı ve dirençli *C. glabrata* suşlarında, flukonazol akümüülasyonunun duyarlı suşlarda yüksek, dirençli suşlarda ise düşük olduğunu tesbit etmişlerdir. Bu dirençli *Candida glabrata* suşlarında CDR-1 (CgCDR-1) delesyona uğratıldığında suşlar duyarlı hale gelmektedir. Duyarlı hale gelen *Candida glabrata* suşlarına vektörle CDR-1 geni verildiğinde suşlar tekrar dirençli forma geçmektedir (111).

MFS ailesi proteinleri de yapısal olarak birbirinden farklı bileşiklerin taşınmasında rol alırlar. Bu aileye ait protein genleri *Candida albicans*'ta tanımlanmış ve *Candida albicans* "Multi Drug Resistance" CaMDR olarak

isimlendirilmiştir. CaMDR daha çok hücre içi flukonazol akümülyasyonunu azaltarak ilaç direncine neden olmaktadır. CDR1 ve CDR2 birçok azol antifungal ilacın hücre içi akümülyasyonunu azaltırken MDR sadece flukanazol akümülyasyonunu azaltmaktadır (58).

Polyen direnci hakkında sınırlı sayıda çalışma vardır. Membrandaki ergosterol miktarının azlığı en önemli direnç sebebidir. Ayrıca farklı sterol yapılarının olması, membran ergosterolünün maskelenmesi de polyen direncine neden olabilir (38).

Polyen direncinin genetik temeline dair de sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. *C. albicans* suşlarında ERG-3 geninin kodladığı C-5 sterol desaturaz (Tablo 1) enziminin eksikliğinde membranda ergosterol miktarı azalmakta ve amfoterisin B'ye direnç gözlenmektedir. *C. albicans* ve *Cryptococcus neoformans* suşlarında ERG-2 geninin kodladığı C-8 sterol izomeraz enzim defektinde de amfoterisin B'ye direnç gözlenmekte, amfoterisin B membranda por oluşturamamaktadır (125, 109).

Flusitozin karşı gelişen primer direncin sebebi ilacın hücre içine alımında görevli *sitozin permeaz* enzimidaki defektir. Sekonder direnç, genellikle primidin sentez yolunda görev yapan *sitozin deaminaz* ve *urasil fosforibozil transferaz* enziminin aktivitesinin düşmesine bağlı oluşur. *C. glabrata* türlerinde flusitozin direncinin sebebi genellikle sitozin permeaz enzim aktivitesinin az olması iken *C. albicans* türlerinde direnç sebebi genellikle sitozin deaminaz ve urasil fosforibozil transferaz enzim aktivitelerinin düşmesidir (38, 110, 125).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, *C. glabrata* suşlarının antifungal ilaçlara değişen oranlarda dirençli olabilme özelliği göz önüne alınarak, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri'nde tedavi gören olgulardan izole edilen *C. glabrata* suşlarının antifungal ilaçlara duyarlılık profilini belirlemek amacıyla planlandı. Çalışmaya, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı'nda ve Klinik Patoloji Laboratuvarı'nda 1996-2003 yılları arasında izole edilen ve usulüne uygun şekilde saklanan 134 *C. glabrata* suşu alındı. Suşların 120'si (%89,5) erişkin, 14'ü (%10,5) çocuk hastalardan izole edilmiştir (3).

3.1. Suşların İzole Edildiği Klinik Örnekler

Çalışmaya alınan suşların izole edildiği klinik örnekler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. *C. glabrata* suşlarının izole edildiği örnekler.

Örnek	N	%
İdrar	53	39,6
Vajinal akıntı	31	23,1
Oral lezyon sürüntüsü	12	9,0
Pü	11	8,2
Balgam/DTA/BAL	10	7,5
Kan	8	6,0
Deri lezyonu	3	2,2
Parasentez sıvısı	2	1,5
Torasentez sıvısı	1	0,8
Kemik iliği aspirasyonu	1	0,8
BOS	1	0,8
Diren lümeni	1	0,8
Toplam	134	100

3.2. *Candida Glabrata* Suşlarının Tanımlanması

C. glabrata suşları germ tüp oluşturmama özelliği, koloni morfolojisi, mısırlu tween 80 besiyerinde psödohif oluşturmayan, küçük yuvarlak maya

hücrelerinin görülmesi ve ID32C kiti (BioMerieux, Fransa) kullanılarak saptanan asimilasyon reaksiyonlarının sonuçlarına göre tanımlandı.

3.2.1. Germ tüp testi: Saf kültürü elde edilen maya izolatu, çeşitli hastalardan elde edilen 0,5 ml'lik serum içinde homojenize edildi. 37°C'de 4 saatlik inkübasyondan sonra lam-lamel arası direkt preparatı hazırlandı ve 40x objektif ile ışık mikroskopunda incelendi. Maya hücrelerinin blastospordan köken aldığı yerde daralma olmayan, duvarları birbirine paralel, tüp şeklinde çimlenme borusu oluşturan suşlar germ tüp pozitif (+), oluşturmayanlar germ tüp negatif (-) olarak kabul edildi. Germ tüp negatif suşlara tür düzeyinde tanımlama amacıyla mısır unlu tween 80 besiyerinde morfolojik inceleme ve asimilasyon testleri uygulandı (57).

3.2.2. Mısır unlu tween 80 besiyerinin hazırlanması ve izolatların besiyerine ekimi: Mısır unlu Tween 80 besiyeri aşağıdaki formüle göre hazırlandı (27).

Mısır unlu Tween 80 Besiyeri:

Mısır unu.....	40gr
Agar	20gr
Tween 80.....	10ml
Distile su.....	1000ml

Saf kültürü elde edilen maya suşu, mısır unlu tween 80 besiyerine, yuvarlak öze yardımıyla besiyerinin merkezinden geçecek şekilde, yukarıdan aşağıya doğru çizgi şeklinde ekildi. Daha sonra bu ekim çizgisinin üzerinden zig zag şeklinde ekim yapılarak koloniler seyreltildi ve plak 30 °C'de inkübe edildi. 48-72 saatlik inkübasyondan sonra ışık mikroskopu altında 10x ve 40x objektif ile incelendi. Psödohif oluşturmayan küçük blastosporların varlığı, *C. glabrata* tanımlaması lehine kabul edildi (27).

3.2.3. Asimilasyon testleri:Bu amaçla, ID32C (BioMerieux, Fransa) ticari tanımlama kiti kullanıldı. Bu test kiti tek kullanımlık plastik striplerden oluşmaktadır. Plastik striplerin her birinde, içinde substrat madde bulunan 32 çukurcuk bulunmaktadır. Bu 32 çukurdan 29 unda karbonhidrat, organik asitler ve amino asitler, birinde sikloheksimit, birinde eskülin bulunurken, son çukur negatif

kontrol olarak değerlendirilmektedir. Test kitinde bulunan substratlar ve substrat miktarları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. ID 32 C (BioMerieux, Fransa) kitinde bulunan substratlar.

Test	Substrat	(mg/çukur)	Test	Substrat	(mg/çukur)
1.GAI	D-Galaktoz	0,70	1.SOR	D-Sorbitol	2,72
2.ACT	Sikloheksimit(aktidion)	0,014	2.XYL	D-ksiloz	0,70
3.SAC	D-Sakkaroz (sükroz)	0,66	3.RİB	D-Riboz	0,70
4.NAC	N-Asetil-Glukozamin	0,64	4.GLY	Gliserol	0,82
5.LAT	Laktik asit	0,64	5.RHA	L-Ramnoz	0,68
6.ARA	L-Arabinoz	0,70	6.PLE	Palatinoz	0,66
7.CEL	D-Cellobiyoz	0,66	7.ERY	Eritritol	1,44
8.RAF	D-Rafinoz	2,34	8.MEL	D-Melibiyoz	0,66
9.MAL	D-Maltoz	0,70	9.GRT	Sodyum Glukoronat	0,76
10.TRE	D-Trehaloz	0,66	10.MLZ	D-Melezitoz	0,66
11.2KG	Potasyum 2-Ketoglukonat	1,09	11.GNT	Potasyum Glukonat	0,92
12.MDG	Meti- α D-Glukopiranozid	1,92	12.LVT	Levulinikacid	0,48
13.MAN	D-Mannitol	0,68	13.GLU	D-Glukoz	0,78
14.LAC	D-Laktoz	0,70	14.SBE	L-Sorboz	0,70
15.İNO	İnositol	0,70	15.GLN	Glukozamin	0,68
16.(0)	Kontrol	-	16.ESC	Eskulin	0,069

ID32C(BioMerieux, Fransa) kiti ile asimilasyon testlerinin yapılması için, saf kültürü elde edilen maya izolatı %0,9’luk serum fizyolojik içinde homojenize edildi ve 2 Mc Farland bulanıklığa ayarlandı. Test kitinin 5 ml’lik solusyonuna pipetle 250 mikrolitre konup vortekslenerek homojen karışım sağlandı. Karışımdan, substratları içeren stripin 32 kuyucuğuna 135’şer mikrolitre konuldu ve 30°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Sonuçlar bilgisayar ortamında tanımlama programı yardımı ile değerlendirildi. *C. glabrata* sadece trehaloz ve glikozu asimile eden asimilasyon profili ile tanımlandı.

3.3. Antifungal Duyarlılık Testleri

Candida glabrata suşlarının amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazole antifungal duyarlılıkları, ‘National Committee for Clinical Laboratory Standards’

(NCCLS) tarafından önerilen (M27A-2) mikrodilüsyon yöntemiyle çalışıldı. Amfoterisin B ve itrakonazolün 16-0.03 µgr/ml, flukonazolün ise 128-0,25 µgr/ml arasında değişen çift kat sulandırılmaları 96 çukurlu U tabanlı mikroplaklarda hazırlandı. Testte *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşları kalite kontrolü amacıyla kullanıldı (75).

a-NCCLS M27-A2 Mikrodilüsyon Yöntemi

NCCLS tarafından NCCLS M27-A2 Mikrodilüsyon yönteminde kullanılan parametreler Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Mayalar için NCCLS tarafından önerilen test yöntemi ve parametreleri (NCCLS M27-A) .

Yöntem	Mikrodilüsyon	
Besiyeri	RPMI 1640, L-glutaminli, Sodyum bikarbonatsız, MOPS ile Tamponlanmış, pH: 7'ye ayarlanmış	
İnokulum	0,5-2,5 10 ³ cfu/ml	
Sıcaklık	35° C	
Süre	<i>Candida</i>	48 saat*
	<i>C. neoformans</i>	72 saat
MİK değeri	Amfoterisin B	skor (0)**
	Azoller ve flusitozin	skor (2) ***

* Yapılan bazı hayvan çalışmalarında bazı *Candida* suşları için saptanan 24 saat MİK değerinin 48 saat MİK değerine kıyasla klinik yanıtı daha iyi yansıttığı saptanmıştır.

**Üremenin tamamen engellendiği en düşük konsantrasyon

***Üremenin üreme kontrol çukuruna göre %50 azaldığı en düşük konsantrasyon

1-Antifungal ilaç dilüsyonlarının hazırlanması ve mikroplaklara dağıtılması:Bu amaçla besiyeri olarak L-glutaminli, sodyum bikarbonatsız, morfolinopropansulfanik asit (MOPS) (Sigma-Aldrich Co.-USA) ile tamponlanmış RPMI 1640 (Sigma-Aldrich Co.-USA) (pH=7.0) besiyeri kullanıldı. Besiyerinin hazırlanması için, 10,4 gr RPMI 1640 toz besiyeri, bir litre distile su içinde eritildi ve 34,53 gr morfolinopropansulfanik asit (MOPS) ile tamponlandı. Besiyerinin pH'sı %40'lık NaOH ile pH:7,0'ye ayarlandı ve besiyeri 0,45 mikrometre por çaplı membran filtrelerden süzülerek sterilize edildi. Hazırlanan bu besiyeri, test yapılana kadar +4°C'de saklandı (75).

Antifungal ilaç dilüsyonlarının hazırlanmasında kullanılacak stok ilaç solusyonları mikroplakların hazırlanmasından önce hazırlandı. Bu amaçla amfoterisin B ve itrakonazol dimetilsülfoksit içinde 1280 µgr/ml, flukonazol ise suda 5120 µgr/ml konsantrasyonunda çözülerek solusyonları hazırlandı ve bu stok solusyonlar kullanılana dek -70 °C 'de saklandı (75).

Amfoterisin B ilaç dilüsyonlarının hazırlanması için on adet 50 mililitrelik steril falkon tüpü A'dan K'ya kadar işaretlendi. Tüplere RPMI 1640 besiyerinden A:39,5ml B:5ml, C:15ml, D:5ml, E:7,5ml, F:17,5ml, G:5ml, H:7,5ml, I:17,5ml, K:5ml olacak şekilde dağıtıldı. Daha önceden hazırlanmış olup -70°C'de saklanan, 1280 µg/ml konsantrasyonundaki amfoterisin B stok ilaç solusyonu 0,5 mililitre A falkon tüpüne eklendi. Vortekslenerek karışması sağlanan A tüpünden B'ye 5ml, C'ye 5ml aktarıldı. Vortekslenerek karıştırılan C tüpünden D'ye 5ml, E'ye 2,5ml, F'ye 2,5ml aktarıldı. Vortekslenerek karıştırılan F tüpünden G'ye 5ml, H'ye 2,5, I'ya 2,5ml aktarıldı. Vortekslenerek karıştırılan I tüpünden de K'ya 5ml aktarıldı. Daha sonra falkon tüplerindeki ilaç solusyonları mikroplakların ilk 10 çukuruna dikey olarak 50'şer µl olarak dağıtıldı.

Itrakonazol ilaç dilüsyonlarının hazırlanmasında, amfoterisin B ilaç dilüsyonlarının hazırlanmasındaki yöntem kullanılmış olup farklı olarak A falkon tüpüne 1280 µg/ml konsantrasyonundaki itrakonazol stok ilaç solusyonu eklenmiştir. Böylece amfoterisin B ve itrakonazol için 16-0.03 µg/ml arasında değişen çift kat seri sulandırım içeren mikroplak çukurları elde edilmiş oldu. Maya

süspansiyonu da eklendiğinde mikroplakların son sulandırılmaları 8-0,015 µg/ml arasında olacaktır (75).

Flukonazol ilaç dilüsyonlarının hazırlanması için de on adet 50 mililitrelik steril falkon tüpü A'dan K'ya kadar işaretlendi. Tüplere RPMI 1640 besiyerinden A:19,5ml B:5ml, C:15ml, D:5ml, E:7,5ml, F:17,5ml, G:5ml, H:7,5ml, I:17,5ml, K:5ml olacak şekilde dağıtıldı. Daha önceden hazırlanmış olup -70°C'de saklanan, 5120 µgr/ml konsantrasyonundaki flukonazol stok solusyonundan 0,5 mililitre A falkon tüpüne eklendi. Vortekslenerek karışması sağlanan A tüpünden B'ye 5ml, C'ye 5ml aktarıldı. Vortekslenerek karıştırılan C tüpünden D'ye 5ml, E'ye 2,5ml, F'ye 2,5ml aktarıldı. Vortekslenerek karıştırılan F tüpünden G'ye 5ml, H'ye 2,5, I'ya 2,5ml aktarıldı. Vortekslenerek karıştırılan I tüpünden de K'ya 5ml aktarıldı. Daha sonra falkon tüplerindeki ilaç solusyonları mikroplakların ilk 10 çukuruna dikey olarak 50'şer mikrolitre olarak dağıtıldı. Böylece flukonazolün 128-0,25 µg/ml arasında değişen çift kat seri sulandırılmaları elde edildi. Maya süspansiyonu da eklendiğinde mikroplakların son sulandırılmaları 64-0,125 µg/ml arasında olacaktır (75).

Mikroplakların üreme kontrol olarak kullanılacak 11. çukuruna ilaç içermeyen RPMI 1640 besiyerinden 50 mikrolitre, besiyeri kontrol olarak kullanılacak 12. çukuruna da yine ilaç içermeyen RPMI 1640 besiyerinden 100 mikrolitre kondu. Hazırlanan antifungal ilaç mikroplakları, üzerlerine ilaç ismi ve hazırlanma tarihi yazılarak test yapılana dek -70°C'de saklandı.

2-Testte kullanılacak inokulum süspansiyonunun hazırlanması: Daha önce izole edilmiş ve -20°C'de, %10 gliserollü beyin kalp infüzyon buyyonu içinde saklanmakta olan suşlar, test yapılmadan önce Sabouroud dekstroza en az iki kez pasajlandı. Testte, *C. glabrata* klinik suşlarının ve kalite kontrol suşlarının (*Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida parapsilosis* ATCC 22019) 24 saatlik pasajları kullanıldı. Bu suşlar 5 ml'lik serum fizyolojik solusyonu içine beş koloni aktararak homojenize edildi. Elde edilen süspansiyonun konsantrasyonu spektrofotometrik olarak $\approx 10^6$ blastokonidya/ml olacak şekilde ayarlandı. Spektrofotometrik olarak bulanıklığı ayarlanan *C. glabrata* suşları ve referans suşlar 4,75 ml RPMI 1640 solusyonu içeren küçük tüplere 250 mikrolitre olarak

aktarıldı ve böylece 1/20 kez sulandırılmış oldu. İlk sulandırım tekrar 4,9ml RPMI 1640 solusyonu içeren küçük tüplere 100 mikrolitre aktarılıp ikinci bir kez 1/50 oranında sulandırıldı. Böylece toplam 1/1000 kez sulandırılan *C. glabrata* suşlarının son inokulum konsantrasyonu $0,5-2,5 \times 10^3$ cfu/ml olarak ayarlanmış oldu. Suşlar antifungal ilaç içeren mikrop plakların ilk 11 çukuru ve yatay olarak 50'şer mikrolitre olarak dağıtıldı ve plaklar 37°C'de inkübasyona bırakıldı (75). Her bir suş her bir antifungal ilaç plağında iki kez çalışıldı.

3-Mikrop plakların okunması Mikrop plaklar 24 ve 48 saatlik inkübasyondan sonra görsel olarak okundu. Plaklar önce bulanıklığın homojenize olması için çalkalandı ve daha sonra ışık altında büyütmeli ayna üzerine yerleştirilerek değerlendirildi. Okuma sırasında önce besiyeri kontrolü olarak kullanılan 12. sterilite kontrol çukuru ve üreme kontrolü olan 11. çukur değerlendirildi. Besiyeri kontrol çukurunun berrak olduğu ve üreme kontrol çukurunda yeterli üreme sağlandığı durumda test değerlendirilmeye uygun bulundu ve 11. (üreme kontrol) çukurun bulanıklığı ile diğer çukurların bulanıklığı kıyaslanarak MİK değerleri okundu. Her bir çukurda görülen bulanıklık üreme kontrol çukuruna göre değerlendirilerek 0 ile 4 arasında skorlandı. (Tablo 3.4) Bulanıklık 11. çukurla aynı ise skor 4 olarak skorlandı. Bulanıklık 11. çukura göre hafif (%75-80) üreme azalmışsa skor 3; bulanıklık 11. çukura göre belirgin (%50) azalmışsa skor 2; bulanıklık 11. çukura göre çok azalmış(%25-50) üreme ve bulanıklık hafif var ise skor 1; hiç bulanıklık yok ve görsel olarak tamamen berrak ise skor 0 olarak kabul edildi (75).

Tablo 3.4. Mikrop plak çukurlarındaki üreme miktarının okunma skorları.

(0) Çukurdaki besiyeri tamamen berrak, hiç bulanıklık yok
(1) Üreme kontrol çukuruna kıyasla hafif bulanıklık var
(2) Üreme kontrol çukuruna kıyasla bulanıklıkta belirgin azalma
(3) Üreme kontrol çukuruna kıyasla bulanıklık hafif azalmış
(4) Bulanıklık üreme kontrol çukurundaki bulanıklığına benzer

4-Sonuçların değerlendirilmesi: Sonuçlar minimum inhibitör konsantrasyon değerleri saptanarak değerlendirildi. MİK değerleri 24 ve 48 saatlik

inkübasyon sonunda saptandı. Amfoterisin B için üremeyi tamamıyla inhibe eden en düşük konsantrasyon (MİK-0), flukonazol ve itrakonazol için ise üremeyi, üreme kontrol çukuru göre %50 azaltan en düşük konsantrasyon, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlendi (75).

Flukonazol ve itrakonazol için NCCLS tarafından önerilen direnç sınır değerleri göz önüne alınarak *C. glabrata* suşlarının adı geçen antifungal ilaçlara direnç oranları saptandı. (Tablo 3.5). Amfoterisin B için henüz direnç sınır değerlerinin kesinlik kazanmamış olması nedeniyle, sadece elde edilen MİK değerlerinin dağılımı belirlendi.

Tablo 3.5. *Candida* türlerinde direnç sınır değerleri.

MİK (µg/ml)			
Antifungal	Duyarlı (S)	Doza bağlı duyarlı (S-DD)	Dirençli (R)
Flukonazol	≤8	16-32 *	≥64
İtrakonazol	≤0,125	0,25-0,5 **	≥1

* Flukonazol için duyarlı kategorisinde MİK değerlerine sahip *Candida* suşları için düşük ilaç dozları ile ulaşılan 30 µg/ml'lik kan konsantrasyonları tedavi için yeterli olur. Doza bağlı duyarlı (S-DD) kategorisine giren *Candida* suşlarının tedavisi için ise daha yüksek kan konsantrasyonlarına gereksinim duyulmakta ve flukonazol plasma konsantrasyonu 40-60 µg/ml'ye ulaşıldığında klinik yanıtı ulaşılmaktadır. Bu konsantrasyonlara ulaşmak için de böbrek fonksiyonları normal olan hastalarda, flukonazolün 400-800 mg/gün dozunda verilmesi gerekmektedir (75).

**İtrakonazol için duyarlı kategorisinde MİK değerlerine sahip *Candida* suşları için düşük ilaç dozları tedavi için yeterli olurken, doza bağlı duyarlı (S-DD) kategorisine giren *Candida* suşlarının tedavisi için daha yüksek plasma konsantrasyonlarına gereksinim duyulmaktadır. Bu suşlara bağlı gelişen enfeksiyonlarda optimal klinik yanıt için itrakonazol plasma konsantrasyonunun 5µg/ml'nin üzerinde olması gerekmektedir (75).

4. BULGULAR

C. krusei ATCC 6258 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 kalite kontrol suşları için 24 ve 48 saatte amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazol için saptanan MİK aralıkları Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Bu değerlerin NCCLS tarafından belirlenmiş aralıklar içinde olduğu doğrulanmıştır.

Tablo 4.1. Kalite kontrol suşlarının 24 ve 48 saatteki MİK dağılımları.

	C.parapsilosis ATCC 22019		C.krusei ATCC 6258	
	24 saat (µg/ml)	48 saat (µg/ml)	24 saat (µg/ml)	48 saat (µg/ml)
Amfoterisin B	0,25-2	0,5-4	0,5-2	1—4
Flukonazol	0,5-4	1—4	8--64	16-128
İtrakonazol	0,12-0,5	0,12-0,5	0,12-1	0,25-1

Candida glabrata suşları için 24 ve 48 saatte saptanan amfoterisin B MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri ve MİK aralıkları Tablo 4.2’de, gösterilmiştir. Suşların amfoterisin B MİK dağılımları Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.2. *Candida glabrata* suşlarının amfoterisin B için saptanan MİK değerleri.

	MİK Aralığı (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
24 saat	0,5-4	2	2
48 saat	2-4	4	4

Tablo 4.3. *Candida glabrata* suşlarının amfoterisin B için saptanan MİK dağılımları.

		(µg/ml)									
		8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015
24 saat	n	-	6	110	17	1	-	-	-	-	-
	%	-	4,5	82,1	12,7	0,8	-	-	-	-	-
48 saat	n	-	100	34	-	-	-	-	-	-	-
	%	-	74,7	25,3	-	-	-	-	-	-	-

Candida glabrata suşları için 24 ve 48 saatte saptanan flukonazol MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri, MİK aralıkları ve duyarlılık profilleri Tablo 4.4'de gösterilmiştir. Suşların flukonazol MİK dağılımları Tablo 4.5'de verilmiştir.

Çalışmada 24 saat inkübasyon sonunda 130 (%97,1) *Candida glabrata* suşunun flukonazole duyarlı(S), 4 (%2,9) suşun ise doza bağlı duyarlı (S-DD) olduğu saptandı. Bu inkübasyon süresi sonunda suşların hiçbirinde flukonazole direnç gözlenmedi. Öte yandan, 48 saat inkübasyon sonunda 126 (%94) *Candida glabrata* suşunun flukonazole duyarlı(S), 7 (%5,2) suşun doza bağlı duyarlı (S-DD), 1 (%0,8) suşun ise dirençli (R) olduğu gözlemlendi.

Bu (48 saat) inkübasyon süresinde flukonazole (S-DD) veya (R) olduğu saptanan sekiz *Candida glabrata* suşunun üçünün balgamdan, birinin deri trakeal aspiratdan, birinin idrardan, birinin vajenden, birinin kemik iliğinden ve birinin de kandan izole edildiği görülmüştür. Bu suşlardan üçü çocuk, beşi ise büyük hastalardan izole edilmiştir.

Tablo 4.4. *Candida glabrata* suşlarının flukonazol için saptanan MİK değerleri ve direnç oranları.

	MİK Aralığı (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)	Duyarlılık profili		
				n (%)		
				Duyarlı (S)	Doza Bağlı Duyarlı (S-DD)	Dirençli (R)
24 saat	0,125-16	1	2	130(97,1)	4(2,9)	-
48 saat	0,25-64	2	4	126(94)	7(5,2)	1(0,8)

Tablo 4.5. *Candida glabrata* suşlarının flukonazol için saptanan MİK dağılımları.

		µg/ml									
		64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
24 Saat	n	-	-	4	2	3	31	65	24	4	1
	%	-	-	2,9	1,5	2,2	23,1	48,5	17,9	2,9	0,8
48 Saat	n	1	5	2	1	47	68	7	2	1	-
	%	0,8	3,8	1,5	0,8	35,1	50,7	5,2	1,5	0,8	-

Candida glabrata suşları için 24 ve 48 saatte saptanan itrakonazol MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri, MİK aralıkları ve duyarlılık profilleri Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Suşların itrakonazol MİK dağılımları Tablo 4.7'de verilmiştir.

Çalışmada 24 saat inkübasyon sonunda 28 (%20,9) *Candida glabrata* suşunun itrakonazole duyarlı(S), 98 (%73,1) suşun doza bağlı (S-DD) duyarlı, 8 (%6,0) suşun ise dirençli (R) olduğu saptanırken 48 saat inkübasyon sonunda 1 (%0,8) *Candida glabrata* suşunun itrakonazole duyarlı (S), 84 (%62,7) suşun doza bağlı duyarlı (S-DD), 49 (%36,5) suşun ise dirençli (R) olduğu belirlenmiştir.

24 saatlik inkübasyonda itrakonazole dirençli olduğu saptanan 8 *Candida glabrata* suşunun biri idrardan, biri vajenden, biri oral lezyonlardan, ikisi balgamdan, ikisi kandan ve biri de Kİ aspiratından izole edilmiştir. Bu suşlardan 3'ü çocuk, 5'i ise erişkin hasta izolatıdır.

48 saatlik inkübasyonda itrakonazole dirençli olduğu saptanan 49 *Candida glabrata* suşunun 13'ü idrardan, 13'ü vajenden, yedisi balgamdan, dördü kandan, üçü oral lezyonlardan, ikisi deri lezyonlarından, dördü püyen, biri diren lümeninden, biri kemik iliği aspiratından ve biri de BOS'dan izole edilmiştir. Bu suşlardan 6'sı çocuk, 43'ü ise erişkin hasta izolatıdır.

48 saatlik inkübasyonda flukonazole doza bağlı duyarlı (S-DD) ve dirençli olduğu saptanan sekiz *Candida glabrata* suşunun, yedisinin itrakonazole dirençli (R), birinin ise itrakonazole doza bağlı duyarlı (S-DD) olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.6. *Candida glabrata* suşlarının itrakonazol için saptanan MİK değerleri ve direnç oranları.

	MİK Aralığı (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)	Duyarlılık profili		
				n (%)		
				Duyarlı (S)	Doza Bağılı Duyarlı (S-DD)	Dirençli (R)
24 saat	0,06-1	0,25	0,5	28(20,7)	98(73,1)	8(6,0)
48 saat	0,125->8	0,5	1	1(0,8)	84(62,7)	49(36,5)

Tablo 4.7. *Candida glabrata* suşlarının itrakonazol için saptanan MİK dağılımları.

		µg/ml									
		8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015
24 saat	n	-	-	-	8	45	53	25	3	-	-
	%	-	-	-	6,0	33,6	39,6	18,7	2,2	-	-
48 saat	N	1	1	6	41	66	18	1	-	-	-
	%	0,8	0,8	4,5	30,6	49,2	13,4	0,8	-	-	-

Flukonazol için 24 ve 48 saat inkübasyon sonunda saptanan duyarlılık test sonuçlarının, itrakonazol duyarlılık sonuçlarıyla karşılaştırılması Tablo 4.8 ve Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.8. *Candida glabrata* suşlarının flukonazol duyarlılık sonuçlarının itrakonazol duyarlılık sonuçlarıyla karşılaştırılması (24 saat).

	Itrakonazol			
Flukonazol	Duyarlı	Doza bağlı duyarlı	Dirençli	Toplam
Duyarlı	28	97	5	130
Doza bağlı duyarlı	0	1	3	4
Dirençli	0	0	0	0
Toplam	28	98	8	134

Tablo 4.9. *Candida glabrata* suşlarının flukonazol duyarlılık sonuçlarının itrakonazol duyarlılık sonuçlarıyla karşılaştırılması (48 saat).

	Itrakonazol			
Flukonazol	Duyarlı	Doza bağlı duyarlı	Dirençli	Toplam
Duyarlı	1	83	42	126
Doza bağlı duyarlı	0	1	6	7
Dirençli	0	0	1	1
Toplam	1	84	49	134

24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında belirlenen itrakonazol duyarlılık sonuçlarının erişkin ve çocuk hastalara dağılımı Tablo 4.10 ve Tablo 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4.10. *Candida glabrata* suşlarının erişkin ve çocuk hastalarda saptanan itrakonazol duyarlılık profili (24 saat).

	Itrakonazol duyarlılık profili			Toplam
	(n)			
Örnek	Duyarlı	Doza Bağlı Duyarlı	Dirençli	
Erişkin	25	90	5	120
Çocuk	3	8	3	14
Toplam	28	98	8	134

Tablo 4.11. *Candida glabrata* suşlarının erişkin ve çocuk hastalarda saptanan itrakonazol duyarlılık profili (48 saat).

	Itrakonazol duyarlılık profili			Toplam
	(n)			
Örnek	Duyarlı	Doza Bağlı Duyarlı	Dirençli	
Erişkin	1	76	43	120
Çocuk	0	8	6	14
Toplam	1	84	49	134

Test edilen suşların izole edildiği klinik örneklerle göre itrakonazol duyarlılık profili Tablo 4.12 ve Tablo 4.13’de verilmiştir.

Tablo 4.12. *Candida glabrata* suşlarının izole edildiği klinik örneklerle göre itrakonazol duyarlılık profili (24 saat).

Örnek	Itrakonazol duyarlılık değerleri			Toplam(n)
	Duyarlı(n)	Doza Bağlı D.(n)	Dirençli(n)	
İdrar	15	37	1	53
Vajinal akıntı	4	26	1	31
Oral lezyon sürüntüsü	2	9	1	12
Pü	4	7	0	11
Balgam/DTA/BAL.	0	8	2	10
Kan	2	4	2	8
Deri lezyonu	0	3	0	3
Parasentez sıvısı	1	1	0	2
Torasentez sıvısı	0	1	0	1
Kİ aspirasyonu	0	0	1	1
BOS	0	1	0	1
Diren lümeni	0	1	0	1
Toplam	28	98	8	134

Tablo 4.13. *Candida glabrata* suşlarının izole edildiği klinik örneklerle göre itrakonazol duyarlılık profili (48 saat).

Örnek	Itrakonazol duyarlılık değerleri			Toplam(n)
	Duyarlı(n)	Doza Bağlı D.(n)	Dirençli(n)	
İdrar	1	39	13	53
Vajinal akıntı	0	18	13	31
Oral lezyon sürüntüsü	0	9	3	12
Pü	0	7	4	11
Balgam/DTA/BAL.	0	3	7	10
Kan	0	4	4	8
Deri lezyonu	0	1	2	3
Parasentez sıvısı	0	2	0	2
Torasentez sıvısı	0	1	0	1
Kİ aspirasyonu	0	0	1	1
BOS	0	0	1	1
Diren lümeni	0	0	1	1
Toplam	1	84	49	134

5. TARTIŞMA

Son yıllarda *Candida cinsi* mantarlara bağlı gelişen enfeksiyonların görülme sıklığında artış olduğu dünyadaki birçok merkezden bildirilmektedir. Bu artış ile birlikte etken *Candida* türlerinin dağılım ve sıklığında değişiklik olmuş, *C. albicans*'ın görülme sıklığı azalırken *albicans* dışı *Candida* türlerinin görülme sıklığında artış meydana gelmiştir. Non-*albicans Candida* türlerinin görülme sıklığı, yaş, coğrafi bölge, hastalık bölgesi, altta yatan hastalık gibi değişkenlerden etkilenmektedir. Non-*albicans Candida* türlerinin artan sıklıkta enfeksiyon etkeni olarak saptanması, hem epidemiyolojik açıdan hem de antifungal ilaçlara duyarlılık profili yönünden önemlidir. *C. glabrata*, non-*albicans Candida* türleri içinde en sık saptanan türlerden olup klinik örneklerden non-*albicans* türler içinde birinci, ikinci veya üçüncü sıklıkta izole edilmektedir.

C. glabrata antifungal ilaçlara değişik duyarlılık profilleri göstermektedir. *C. glabrata* için çeşitli antifungal ilaçlar için saptanan direnç oranları diğer *Candida* türlerine göre yüksektir. Antifungal ilaçlara direnç *C. glabrata*'da diğer *Candida* türlerine göre daha sık saptanmaktadır.

Amfoterisin B için NCCLS tarafından önerilen in vitro duyarlılık test dirençli suşları duyarlı suşlardan ayırt edememektedir. Bunun nedeni, *Candida* suşları için elde edilen MİK değerlerinin birbirine çok yakın olmasıdır. Bizim çalışmamızda da mikrodilüsyon yöntemi ile bulduğumuz MİK değerleri, dar bir aralıkta seyretmiş, daha önceki çalışmalarda ulaşılan sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda *Candida glabrata* suşlarının amfoterisin B MİK aralığı 24 saat inkübasyon sonunda 0,5-4 µg/ml, 48 saat inkübasyon sonunda ise 2-4 µg/ml olarak bulunmuştur. MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ise, 24 ve 48 saatte sırasıyla (2-4) ve (2-4) µg/ml olarak saptanmıştır.

Amfoterisin B için direnç sınır değerlerinin kesin olarak belirlenmemiş olması nedeniyle direnç oranlarını saptamak mümkün olmamıştır. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda 1µgr/ml ve üzerindeki MİK değerleri dirençli olarak kabul edilmiş ise de bu direnç sınır değeri yaygın olarak benimsenmemiş ve desteklenmemiştir.

Arıkan ve ark. Hacettepe Üniversitesi'nde kan kültürlerinden izole ettikleri 8 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre incelemişlerdir. MİK aralığını, 24 saatlik inkübasyondan sonra 1-2 µg/ml, 48 saatlik inkübasyondan sonra MİK aralığını 2-4 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (24 saat inkübasyonda MİK aralığı 0,5-4 µg/ml, 48 saat inkübasyonda 2-4 µg/ml) benzer olup her iki çalışmaya alınan suşlar aynı merkezde izole edilmiş olan suşlardır (3).

Yücesoy ve ark. 2004 yılında yayınlanan bir çalışmada ise 18 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B duyarlılığı NCCLS M-27-A2 kriterlerine göre çalışılmış, MİK aralığı 0,25-1 µg/ml, MİK₅₀: 0,5 µg/ml, MİK₉₀ : 0,5 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (24 saat inkübasyonda MİK aralığı 0,5-4 µg/ml, 48 saat inkübasyonda MİK aralığı 2-4 µg/ml) daha düşüktür (130).

Koç ve ark. hastanelerinde çıkan *C. glabrata* salgınında tesbit ettikleri 12 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre değerlendirmiş, MİK aralığını 0,125-0,25 µg/ml olarak saptamışlardır. Bizim bulduğumuz değerler bu değerlerden oldukça yüksektir (54).

Kantarcıoğlu ve ark. 1999-2001 yılları arasında invaziv mikozlardan elde ettikleri 6 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre incelemiş, MİK aralığını 0,06-16 µg/ml olarak saptamışlardır (50).

Pfaller ve ark. tarafından yürütülen, kan ve normalde steril olan vücut bölgelerinden izole edilen *Candida* türlerinin epidemiyolojisini araştıran ARTEMİS çalışma grubunun 2001-2002 yılları arasında, 25 ayrı ülkeden, 59 farklı merkezden topladıkları 3997 *Candida* türünün 7 antifungal ilaca duyarlılığını araştırdıkları çalışmada 601 *C. glabrata* suşunun duyarlılığı araştırılmıştır. *C. glabrata* suşlarının amfoterisin B duyarlılığını tesbit için Etest yöntemi kullanılmış, 35° C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra sonuçlar okunmuştur. Bu çalışmada, *C. glabrata* suşlarının amfoterisin B MİK₅₀ : 1 µgr/ml, MİK₉₀: 2 µgr/ml, MİK aralığı 0,06-1 µgr/ml, olarak bulunmuştur (91). Saptanan bu değerler bizim çalışmamız sonuçlarına göre (MİK aralığı 2-4 µg/ml, MİK₅₀, 4 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml) daha düşüktür. Ancak bu iki çalışmada kullanılan duyarlılık testi yöntemleri farklıdır.

Safdar ve ark. 1998-1999 yılları arasında, kanser hastalarında görülen *Candida türlerinin* epidemiyolojisini araştırdıkları çalışmada, NCCLS tarafından önerilen mikrodilüsyon yöntemini kullanarak 52 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B'ye duyarlılığını çalışmışlardır. Bu çalışmada 52 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B MİK değerlerini, MİK₅₀ : 1 µgr/ml, MİK₉₀ : 2 µgr/ml, MİK aralığı 0,06-1 µgr/ml olarak bulmuşlardır. Saptanan bu değerler bizim çalışmamızdaki sonuçlara göre (MİK₅₀, 4 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml, MİK aralığı 2-4 µg/ml) daha düşüktür (107).

Ostrosky-Zeichner ve ark. 1995-1999 yılları arasında Mikoiz Çalışma Grubunun bünyesinde 1911 hastanın kan kültürlerinden 2947 *Candida* suşu izole etmişlerdir. Çalışmaya aldıkları 2000 *Candida* izolatından (%22.9) 458'i *C. glabrata* suşudur. *C. glabrata* suşlarında %0.8 oranında amfoterisin B direnci saptamışlardır (86). Saptanan bu değerler bizim çalışmamız sonuçlarına göre (MİK₅₀, 4 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml, MİK aralığı 2-4 µg/ml) daha düşüktür.

Pfaller ve ark. 6970 *Candida* suşunun amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol ve flusitozin duyarlılığını araştırmışlardır. Bu suşlar kandan ve normalde steril olan vücut bölgelerinden izole edilmiş olup, tüm dünyada 200'den fazla merkezden toplanmıştır. *C. glabrata* suşlarının amfoterisin B duyarlılık testi için Etest yöntemi kullanılmış, 35⁰ C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra test okunmuştur. Bu suşlar içinde bulunan 949 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B MİK değerleri MİK₅₀, 2 µgr/ml, MİK₉₀: 4 µgr/ml olarak bulunmuştur. Saptanan bu değerler bizim çalışmamızın sonuçlarına göre (MİK₅₀, 4 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml, MİK aralığı 2-4 µg/ml) daha düşüktür. Amfoterisin B için direnç sınır değerleri kesin olarak belirlenmemiş olmasına rağmen, bu ve bazı diğer çalışmalarda 1 µg/ml'nin altındaki MİK değerleri saptandığında suş duyarlı kabul edilmiş, bu durumda bu çalışmada suşların % 47'si amfoterisin B'ye duyarlı olarak yorumlanmıştır (97).

Hajeh ve ark. 1998-2000 yılları arasında kan kültürlerinden 226' sı (%19,7) *C. glabrata* olan 1143 *Candida* suşu izole etmiş ve bu suşların amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve flusitozin duyarlılığını çalışmışlardır. *C. glabrata* suşlarının amfoterisin B duyarlılık testi için Etest yöntemi kullanılmış, 35⁰ C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra test okunmuştur. *C. glabrata* suşlarının amfoterisin B

MİK₅₀ : 0,25 µgr/ml, MİK₉₀ : 0,5 µgr/ml, MİK aralığı 0,002-12 olarak saptamışlardır (40). Saptanan bu değerler bizim çalışmamız sonuçlarına göre (MİK₅₀, 4 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml, MİK aralığı 2-4 µg/ml) daha düşüktür ancak yine her iki çalışmada kullanılan yöntem (mikrodilüsyon ve Etest) farklıdır.

Takakura ve ark. 96 *C. glabrata* suşunun amfoterisin B duyarlılığını NCCLS tarafından önerilen M-27-A2 mikrodilüsyon yöntemine göre çalışmış, bu çalışmada MİK₅₀: 0,125 µgr/ml, MİK₉₀: 0,25 µgr/ml, MİK aralığı 0,063-2 olarak saptanmıştır (118). Saptanan bu değerler bizim çalışmamızdaki sonuçlara göre (MİK₅₀, 4 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml, MİK aralığı 2-4 µg/ml) oldukça düşüktür.

İspanyada yapılan bir çalışmada ise 42' si *C. glabrata* olan 156 *Candida* suşunun antifungal duyarlılığı çalışılmış, *C. glabrata* suşlarının amfoterisin B MİK₅₀ 0,5 µgr/ml, MİK₉₀: 1 µgr/ml, MİK aralığı 0,5->8 olarak saptanmıştır (21). Saptanan bu değerler bizim çalışmamızdaki sonuçlara göre (MİK₅₀, 4 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml, MİK aralığı 2-4 µg/ml) yine düşüktür.

Sonuç olarak amfoterisin B MİK değerleri *C. glabrata* suşları için birbirine benzer olduğu görülmekte olup, uygulanan NCCLS mikrodilüsyon yöntemi ile amfoterisin B'ye duyarlı ve dirençli suşları birbirinden ayırmak mümkün olmamaktadır. Merkezler arasında ise suşların amfoterisin B MİK değerleri yönünden farklar gözlenebilmektedir.

Flukonazol sistemik mantar enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılan triazol grubu bir antifungal ilaçtır. *Candida* türlerinde flukonazol için duyarlılık parametreleri NCCLS tarafından standardize edilmiş, direnç sınır değerleri belirlenmiştir.

Çalışmamızda *C. glabrata* suşlarının flukonazol MİK değerleri; 24 saat inkübasyon sonunda MİK aralığı; 0,125-16 µg/ml, MİK₅₀ : 1 µg/ml, MİK₉₀ :2 µg/ml, 48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı: 0,25->64 µg/ml, MİK₅₀ : 2 µg/ml, MİK₉₀ : 4 µg/ml olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda 24 saatlik inkübasyonda 130 (%97.1) *Candida glabrata* suşu flukonazole duyarlı(S), 4 (%2,9) suşu ise doza bağlı duyarlı (S-DD) olduğu saptanmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonunda flukonazole dirençli suş

gözlenmemiştir. 48 saatlik inkübasyon sonunda ise 126 (%94,0) *Candida glabrata* suşu flukonazole duyarlı (S), 7 (%5,2) suşu doza bağlı duyarlı (S-DD), 1 (%0,8) suşun ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır.

Saptadığımız bu flukonazol direnç oranı son derece düşüktür. Literatürdeki çalışmalarda *C. glabrata* suşlarının flukonazole daha yüksek oranda dirençli olduğu bulunmuştur. Ülkemizdeki diğer merkezlerde yapılan çalışmalarda da farklı sonuçlara ulaşılmıştır.

Arıkan ve ark. Hacettepe Üniversitesi'nde kan kültürlerinden izole ettikleri 8 *C. glabrata* suşunun flukonazol duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre incelemiştir. MİK aralığını, 24 saatlik inkübasyondan sonra 0,25-1 µg/ml, 48 saatlik inkübasyondan sonra MİK aralığını 0,25-4 µg/ml olarak bulmuşlar, *C. glabrata* suşlarının tamamının flukonazole duyarlı olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) benzer olup her iki çalışmaya alınan suşlar aynı merkezde izole edilmiş olan suşlardır (3).

Yücesoy ve ark. 2004 yılında yayınlanan bir çalışmada ise 18 *C. glabrata* suşunun flukonazol duyarlılığı NCCLS M-27-A2 kriterlerine göre çalışılmış, MİK aralığı 2->64 µg/ml, MİK₅₀: 32 µg/ml, MİK₉₀ : 64 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) daha yüksektir (130).

Koç ve ark. hastanelerinde çıkan *C. glabrata* salgınında tesbit ettikleri 12 *C. glabrata* suşunun flukonazol duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre değerlendirmiş, MİK değerlerini 32-64 µg/ml olarak saptamışlardır (54).

Kantarcıoğlu ve ark. 1999-2001 yılları arasında invaziv mikozlardan elde ettikleri 6 *C. glabrata* suşunun flukonazol duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre incelemiş, MİK değerlerini >32 µg/ml olarak saptamışlardır (50).

Kaya ve ark. nötrojenik hastalardan izole ettikleri 41 *C. glabrata* suşunun flukonazol duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre araştırmışlardır. Bu çalışmada MİK aralığı 16-128 µg/ml, MİK₅₀: 64 µg/ml, MİK₉₀ : 64 µg/ml olarak bulunmuştur. Suşların %50'si doza bağlı duyarlı, %50'si dirençli olarak

belirlenmiştir. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) oldukça yüksektir (52).

C. glabrata'nın flukonazole duyarlılığını araştıran ve yurt dışında yapılan çalışmalarda da direnç oranlarının değişken olabileceği dikkati çekmektedir.

Pfaller ve ark. 1992-2001 yılları arasında çeşitli merkezlerden kan kültürlerinden izole edilen, 674'ü *C. glabrata* olan 3683 *Candida* izolatının antifungal ilaçlara duyarlılığını araştırmış, yaş ve coğrafi değişkenlere göre duyarlılık profilindeki farklılıkları saptamaya çalışmışlardır. Bu araştırmada NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış, plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. Yaşı tesbit edilen hastalardan izole edilen (yaşı tesbit edilemeyenler hasta suşları çalışmaya alınmamış) 559 *C. glabrata* suşunun %60'ı flukonazole (D) duyarlı, %31'i doza bağlı duyarlı (S-DD), %9'u ise dirençli (R) bulunmuştur. *C. glabrata* pediyatrik yaş grubunda daha az izole edilmiş, flukonazole direnç oranı daha az bulunmuşken, 16-64 yaş grubunda ise *C. glabrata* daha fazla izole edilmiş ve flukonazole direnç oranı daha yüksek bulunmuştur. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) oldukça yüksektir (89).

Pfaller ve ark.'nın yaptığı bir başka çalışmada invaziv *Candida* enfeksiyonu olan hastalardan 3997 *Candida* suşu izole edilmiştir. Bu suşlardan 601'i *C. glabrata* olarak saptanmıştır. Bu suşların flukonazol, amfoterisin B, kaspofungin, flusitozin, posakonazol, ravukonazol ve vorikonazole duyarlılığı, NCCLS tarafından önerilen M-27-A2 mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmış, plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarının %62,2'si flukonazole (S) duyarlı, %26,1'i doza bağlı duyarlı(S-DD), %7,7'si ise dirençli bulunmuştur. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) oldukça yüksektir (91).

Pfaller ve ark. yaptığı çok merkezli SENTRY sürveyans çalışmasında 1997, 1998 ve 1999 yılları arasında kan kültürlerinden *C. albicans* %53 oranı ile en çok

izole edilen tür olarak belirlenirken *C. glabrata* %16 oranın ile ikinci sıklıkta yer almıştır. *C. glabrata* 0-15 yaş grubunda %3 oranında izole edilmiş 16-64 yaş grubunda ise bu oran %17-23 olarak bulunmuştur. Duyarlılık çalışması NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre yapılmıştır. Flukonazol duyarlılığı 0-15 yaş grubunda %63 ile en düşük bulunurken, yaş arttıkça *C. glabrata* suşlarının flukonazol duyarlılığının (S) arttığı saptanmıştır. Ayrıca, 180 *C. glabrata* suşunun yıllara bağlı olarak flukonazole duyarlılığının arttığı da saptanmıştır. *C. glabrata* suşlarının 1997'de %48, 1998'de %63, 1999'da ise %83 oranında flukonazole duyarlı olduğu gözlenmiştir. Bu suşların %8,7 oranında flukonazole dirençli olduğu belirlenmiştir (94, 95, 96).

Safdar ve ark. 1998-1999 yılları arasında, kanser hastalarında görülen *Candida* türlerinin epidemiyolojisini araştırmak amacıyla yaptıkları prospektif çalışmada 347 *C. glabrata* suşu izole etmişlerdir. Kanserli hastalardan *C. albicans* %67,3 oranı ile en çok izole edilen tür olarak belirlenirken *C. glabrata* %14,8 oranı ile ikinci sıklıkta yer almıştır. *C. glabrata* suşlarının flukonazole duyarlılığı NCCLS M-27-A kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Bu suşların MİK aralığı 0,06->64 µg/ml olarak bulunmuştur. *C. glabrata* suşlarının %79,8'si flukonazole (S) duyarlı, %9,8'i doza bağlı duyarlı (S-DD), %10,7'si ise dirençli (R) olarak saptanmıştır Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) oldukça yüksektir (107).

Ostrosky-Zeichner ve arkadaşları 1995-1999 yılları arasında MikoZ Çalışma Grubunun bünyesinde 1911 hastanın kan kültürlerinden 2947 *Candida* suşu izole etmişlerdir. Çalışmaya aldıkları 2000 *Candida* izolatından (%22.9) 458'i *C. glabrata* suşudur. Bu suşların flukonazole duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen M-27-A2 mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmış, plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarının MİK değerleri MİK₅₀: 8 µg/ml, MİK₉₀ : 32 µg/ml olarak bulunmuş, *C. glabrata* suşlarının %8 oranında flukonazole dirençli olduğu saptanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) oldukça yüksektir (86).

Pfaller ve ark. 6970 *Candida* suşunun amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol ve flusitozin duyarlılığını araştırmışlardır. Bu suşlar kandan ve normalde steril olan vücut bölgelerinden izole edilmiş olup, tüm dünyada 200'den fazla merkezden toplanmıştır. Bu suşların flukonazol duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen M-27-A2 mikrodilüsyon yöntemine göre incelenmiş, plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. Bu suşlar içinde bulunan 949 *C. glabrata* suşunun %60'ı flukonazole (S) duyarlı, %31,9'u doza bağlı duyarlı(S-DD), %8,2'si ise dirençli (R) olarak bulunmuştur (97).

Hajeh ve ark. 1998-2000 yılları arasında kan kültürlerinden 226'sı (%19,7) *C. glabrata* olan 1143 *Candida* suşu izole etmişlerdir. *C. albicans* %45 oranı ile en çok izole edilirken *C. glabrata* %24 ile ikinci sıklıkta yer almıştır. Yazarlar bu suşların amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve flusitozin duyarlılığını çalışmışlardır. Suşların flukonazole duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmış, plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarında %7,1 oranında flukonazol direnci saptanmıştır (40).

Baddley ve ark. bir üniversite hastanesinde 1995-2000 yılları arasında izole edilen 871 *Candida* suşunun antifungal ilaçlara duyarlılığını araştırmışlardır. Bu suşlardan 208'i (%24) *C. glabrata* olup 166'sına duyarlılık testleri uygulanmıştır. Suşların flukonazol duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmış, plaklar 24 ve 48 saatlik inkübasyonlardan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarının flukonazol için MİK değerleri; 24 saatlik inkübasyonda, MİK aralığı 1->64 µg/ml MİK₅₀ , 2 µg/ml, MİK₉₀ ,16 µg/ml olarak bulunmuştur. 48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı 2->64 µg/ml, MİK₅₀ : 4 µg/ml, MİK₉₀ :64 µg/ml olarak bulunmuştur. *C. glabrata* suşlarının %10.8 nin flukonazole dirençli olduğu saptanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,25->64 µg/ml MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml) oldukça yüksektir (9).

Sonuç olarak *C. glabrata* suşlarının flukonazole duyarlılık oranları merkezlere göre farklılıklar göstermektedir. Bizim hastanemizde izole edilen *C. glabrata* suşlarında flukonazol direnci çok nadirdir. Bunun olası nedenlerinden biri,

flukonazol profilaksi protokollerinin sınırlı hasta gruplarına uygulanıyor olması olabilir. Direnç oranlarının bu denli değişken olabilmesi, *C. glabrata* suşlarının flukonazole duyarlılık profillerinin her merkezde belirlenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Öte yandan, inkübasyon süresi MİK değerlerini ve dolayısıyla direnç oranlarını etkileyen test parametrelerinden biridir. *C. albicans* suşları ile yapılan bir hayvan çalışmasında, 24 saatteki MİK değerlerinin, flukonazole in vivo yanıtı, 48 saat MİK değerlerine göre daha iyi yansıttığı gösterilmiştir. Bu sonuç dikkate alındığında 24 saat MİK değerlerinin klinik yanıtı yansıtmada daha güvenilir bir parametre olduğu söylenebilir (104).

Çalışmamızda *C. glabrata* suşlarının itrakonazol MİK değerleri; 24 saat inkübasyon sonunda MİK aralığı; 0,06-1 µg/ml, MİK₅₀ : 0,25 µg/ml, MİK₉₀ :0,5 µg/ml, 48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı: 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5 µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda 24 saat inkübasyon sonunda 28 (%20,9) *Candida glabrata* suşunun itrakonazole duyarlı (S), 98 (%73,1) suşun doza bağlı (S-DD) duyarlı, 8 (%6,0) suşun ise dirençli (R) olduğu saptanırken 48 saat inkübasyon sonunda 1 (%0,8) *Candida glabrata* suşunun itrakonazole duyarlı (S), 84 (%62,7) suşun doza bağlı duyarlı (S-DD), 49 (%36,5) suşun ise dirençli (R) olduğu belirlenmiştir.

Arıkan ve ark. Hacettepe Üniversitesi'nde kan kültürlerinden izole ettikleri 8 *C. glabrata* suşunun itrakonazol duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre incelemişlerdir. MİK aralığını 24 saatlik inkübasyondan sonra 0,015-0,125 µg/ml, 48 saatlik inkübasyondan sonra MİK aralığını 0,06-0,5 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (24 saat inkübasyonda MİK aralığı; 0,06-1 µg/ml, 48 saat inkübasyonda MİK aralığı: 0,125->8 µg/ml) daha düşük olup her iki çalışmaya alınan suşlar aynı merkezde izole edilmiş olan suşlardır (3).

Koç ve ark. hastanelerinde çıkan *C. glabrata* salgınında tesbit ettikleri 12 *C. glabrata* suşunun itrakonazol duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre değerlendirmiş, MİK değerlerini 2-4 µg/ml olarak saptamışlardır. Bu değerler bizim bulduğumuz değerlerden yüksektir. Bu değerler bizim çalışmamızla

karşılaştırıldığında (48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı: 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5 µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml l) daha yüksektir (54).

Kantarcioglu ve ark. 1999-2001 yılları arasında invaziv mikozlardan elde ettikleri 6 *C. glabrata* suşunun itrakonazol duyarlılığını NCCLS M-27-A kriterlerine göre incelemiş, MİK aralığını <0,03 ->16 µg/ml olarak saptamışlardır (50).

Pfaller ve ark. 22 farklı ülkeden, 70'den fazla merkezden topladıkları *Candida* izolatlarının 421'si *C. glabrata* olan 3312 *Candida* izolatında posakonazol, itrakonazol ve flukonazol duyarlılığını araştırmışlardır. Duyarlılık çalışması NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre yapılmış, plaklar 35° C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra okunmuştur. *C. glabrata* suşlarının itrakonazol MİK aralığı 0,03->8, MİK₅₀ :1 µg/ml, MİK₉₀ : 8µg/ml olarak bulunmuştur. *C. glabrata* suşlarının %70'i 1µgr/ml ile inhibe olduğu gözlenmiştir. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml) daha yüksektir (92).

Pfaller ve ark. yaptığı çok merkezli SENTRY sürveyans çalışmasında 1997, 1998 ve 1999 yılları arasında kan kültürlerinden *C. albicans* %53 oranı ile en çok izole edilirken *C. glabrata* %16 oranı ile ikinci sıklıkta yer almıştır. Bu çalışmada 46 *C. glabrata* suşunun flukonazol ve itrakonazol duyarlılığı çalışılmıştır. Duyarlılık testleri NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre yapılmış, plaklar 35° C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra okunmuştur. Ittrakonazol için yapılan çalışmada MİK aralığı 0,12->8 µg/ml, MİK₅₀ :0,5 µg/ml, MİK₉₀: 2µg/ml olarak saptanmıştır. *C. glabrata* suşlarında %36,9 oranında itrakonazole direnç gözlenmiştir. Saptanan bu değerler bizim (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml, direnç oranı (R) %36,5)saptadığımız değerlere yakındır (94).

Pfaller ve ark. yaptığı çok merkezli SENTRY sürveyans çalışmasında 1997, 1998 ve 1999 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türleri ve bunların antifungal duyarlılıkları yaş gruplarına göre araştırılmıştır. Bu çalışmada *C. albicans* %53 oranı ile en çok izole edilen tür olarak bulunurken *C. glabrata* %16 oranı ile ikinci sıklıkta yer almıştır. *C. glabrata* 0-15 yaş grubunda %3 oranında, 16-64 yaş grubunda ise %17-23 oranlarında izole edilmiştir. Duyarlılık çalışması

NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre yapılmıştır. Bu çalışmada 334 *C. glabrata* suşu test edilmiş ve 0-1 yaş grubundan izole edilen suşların %13'ü itrakonazole duyarlı, 2-15 yaş grubundan izole edilen suşların %100'ü, 16-64 yaş grubundan izole edilen suşların %8'i ve 65 yaş ve üzerinden izole edilen suşların ise %6'sı itrakonazole duyarlı olarak bulunmuştur. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (24 saat inkübasyonda duyarlılık oranı (S) %20,9, 48 saat inkübasyonda (S) %0,7) daha yüksektir (94, 95, 96).

Safdar ve ark. 1998-1999 yılları arasında, kanser hastalarından izole edilen *Candida* türlerinin epidemiyolojisini araştırmak amacıyla yaptıkları prospektif çalışmada 347'si *C. glabrata* suşu izole etmişlerdir. Kanserli hastalardan *C. albicans* %67,3 oranı ile en çok izole edilen tür olurken *C. glabrata* %14,8 oranı ile ikinci sıklıkta yer almıştır. *C. glabrata* suşlarının itrakonazole duyarlılığı NCCLS M-27-A mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. Bu suşlarının MİK aralığı 0,03->16 µg/ml olarak bulunmuş, suşların %42,1'sinin (146) itrakonazole (S) duyarlı, %42,7'nin (148) doza bağlı duyarlı (S-DD), %15,2'sinin (53) ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml, S:%0,7, S-DD: %62,2, R: % 36,5) daha düşüktür (106).

Ostrosky-Zeichner ve ark. 1995-1999 yılları arasında Mikoz Çalışma Grubu'nun bünyesinde 1911 hastanın kan kültürlerinden 2947 *Candida* suşu izole etmişlerdir. Çalışmaya aldıkları 2000 *Candida* izolatından (%22.9) 458'i *C. glabrata* suşudur. Bu suşların itrakonazole duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen M-27-A2 mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmış, plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarının itrakonazol MİK değerleri MİK₅₀: 1 µg/ml, MİK₉₀ : 4 µg/ml olarak bulunmuş, *C. glabrata* suşlarının %51'i itrakonazole dirençli olarak değerlendirilmiştir. Saptanan bu değerler bizim saptadığımız değerlerden (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml, (R) oranı %36,5) daha yüksektir (86).

Pfaller ve ark. 6970 *Candida* suşunun amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol ve flusitozin duyarlılığını çalışmışlardır. Bu suşlar kandan ve normalde steril olan vücut bölgelerinden izole edilmiş olup, tüm dünyada

200'den fazla merkezden toplanmıştır. Bu suşların itrakonazol duyarlılığını NCCLS tarafından önerilen M-27-A2 mikrodilüsyon yöntemine göre araştırmışlardır. Plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. Bu suşlar içinde bulunan 949 *C. glabrata* suşunun %4'ünün itrakonazole (D) duyarlı (MİK₅₀:1, MİK₉₀: 2) olduğu saptanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml) daha yüksektir (97).

Hajeh ve ark. 1998-2000 yılları arasında kan kültürlerinden 226 sı (%19.8) *C. glabrata* olan 1143 *Candida* suşu izole etmişlerdir. *C. albicans* %45 oranı ile en çok izole edilen tür olurken *C. glabrata* %24 oranı ile ikinci sıklıkta yer almıştır. Bu suşların amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve flusitozin duyarlılığı araştırılmış, bu amaçla NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır ve plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarında itrakonazol MİK aralığı:0,015->8, MİK₅₀ : 0,25µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml olarak saptanmış, suşların %19,5'inin (44) itrakonazole dirençli olduğu gözlenmiştir. Bu değerler bizim çalışmamızda ulaştığımız MİK rakamlarına yakın değerlerdir. Direnç oranı ise bizim direnç oranımızdan daha düşüktür (40). (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml, (R) oranı %36,5)

Baddley ve ark. bir üniversite hastanesinde 1995-2000 yılları arasında izole edilen 871 *Candida* suşunun antifungal ilaçlara duyarlılığını araştırmışlardır. Bu suşlardan 208'i (%24) *C. glabrata* olup 166'sına duyarlılık testi yapılmıştır. Suşların itrakonazol duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmış, plaklar 24 ve 48 saat inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarının itrakonazol için MİK değerleri; 24 saat inkübasyonda sonunda, MİK aralığı 0,06-2 µg/ml MİK₅₀ , 0,25 µg/ml, MİK₉₀ ,0,5 µg/ml olarak bulunmuş, 48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5 µg/ml, MİK₉₀ :1 µg/ml olarak belirlenmiştir. *C. glabrata* suşlarının %18,7'sinin itrakonazole dirençli olduğu saptanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (24 saat inkübasyonda MİK aralığı; 0,06-1 µg/ml, MİK₅₀ : 0,25 µg/ml, MİK₉₀ :0,5 µg/ml, 48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125-

>8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml, R oranı %36.5) benzer bulunmuştur. Bulunan direnç oranı ise daha düşüktür (9).

İspanya'da yapılan bir çalışmada 42'si *C. glabrata* olan 156 *Candida* suşunun antifungal duyarlılığı NCCLS tarafından önerilen M-27-A mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmış, plaklar 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. *C. glabrata* suşlarının itrakonazol için MİK aralığı 0,5-8 g/ml MİK₅₀ , 1 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml olarak bulunmuştur. Bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (48 saatlik inkübasyonda MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml) benzer bulunmuştur (21).

Sonuç olarak flukonazol için olduğu gibi itrakonazol için de *C. glabrata* suşlarında farklı merkezlerde çok değişken direnç oranları elde edilmekte, bu sonuçlar *C. glabrata* suşlarında itrakonazol duyarlılık testlerinin her merkezde uygulanmaları gerekliliğini vurgulamaktadır. Bizim hastanemizde izole edilen *C. glabrata* suşlarında itrakonazole direnç oranları oldukça yüksektir. Hastanemizde itrakonazolün nisbeten az kullanılan antifungal ilaçlardan biri oluşu sekonder direnç gelişme olasılığını desteklememektedir. İtrakonazole dirençli olan *C. glabrata* suşlarının flukonazole duyarlılığı göz önüne alındığında itrakonazol dirençli suşların çoğunluğunun flukonazole duyarlı olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu veriler hastanemizde *C. glabrata*'ya bağlı gelişen enfeksiyonlarda ampirik olarak itrakonazol tedavisi tercih edilmemesi gerektiğini düşündürmekte, duyarlılık testleri yapılması gerektiğini vurgulamaktadır. Öte yandan 24 ve 48 saat MİK değerleri ile saptanan direnç oranlarının önemli ölçüde farklılık gösteriyor olması da, hangi MİK değerinin klinik yanıtı yansıttığının belirlenebilmesi için in vivo çalışmaların yapılması gerektiğini vurgulamaktadır.

6-SONUÇLAR

1-C. *glabrata* suşlarının amfoterisin B MİK değerleri 24 saat inkübasyon sonunda MİK aralığı 0,5-4 µg/ml, MİK₅₀, 2 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml olarak, 48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı 2-4 µg/ml, MİK₅₀, 2 µg/ml, MİK₉₀, 4 µg/ml olarak bulunmuştur

2- *Candida glabrata* suşlarının 24 saat inkübasyon sonunda flukonazol MİK aralığı 0,125-16 µg/ml, MİK₅₀ 1µg/ml, MİK₉₀ 2 µg/ml, 48 saat inkübasyon sonunda suşların flukonazol MİK aralığı 0,25->64 µg/ml, MİK₅₀ 2 µg/ml, MİK₉₀ 4 µg/ml olarak bulunmuştur.

3- 24 saat inkübasyon sonunda %97,1'nin flukonazole duyarlı (S), %2,9'nun doza bağlı duyarlı (S-DD) olduğu saptanmıştır. Bu inkübasyon süresinde flukonazole dirençli suşa rastlanmamıştır.

4- *Candida glabrata* suşlarının 48 saat inkübasyon sonunda %94'ü flukonazole duyarlı (S), %5,2'sinin doza bağlı duyarlı (S-DD) ve %0,8'inin ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır.

5- *Candida glabrata* suşlarının 48 saat inkübasyon sonunda flukonazole doza bağlı duyarlı (S-DD) ve dirençli (R) olduğu saptanan sekiz *Candida glabrata* suşunun üçünün balgamdan, birinin derin trakeal aspiratdan, birinin idrardan, birinin vajenden, birinin kemik iliğinden ve birinin de kandan izole edildiği görülmüştür. Bu suşlardan üçü çocuk, beşi ise büyük hastalardan izole edilmiştir.

6- *Candida glabrata* suşlarının 24 saat inkübasyon sonunda itrakonazol MİK aralığı 0,06-1 µg/ml MİK₅₀ , 0,25 µg/ml, MİK₉₀ ,0,5 µg/ml olarak, 48 saat inkübasyon sonunda ise MİK aralığı 0,125->8 µg/ml, MİK₅₀ : 0,5 µg/ml, MİK₉₀ : 1 µg/ml olarak bulunmuştur.

7- *Candida glabrata* suşlarının 24 saat inkübasyon sonunda %20,9'u itrakonazole duyarlı (S), %73,1'i doza bağlı (S-DD) duyarlı ve %6'sı ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır.

8- *Candida glabrata* suşlarının 48 saat inkübasyon sonunda %0,7'si itrakonazole duyarlı (S), %62,2'si doza bağı duyarlı (S-DD) ve %36,5'i ise dirençli (R) olduğu saptanmıştır.

9- Itrakonazole doza bağı duyarlı (S-DD) olduğu saptanan 84 *Candida glabrata* suşunun 83'ü flukonazole duyarlı, biri ise flukonazole doza bağı duyarlı bulunmuştur. Itrakonazole dirençli olduğu saptanan 49 *Candida glabrata* suşunun ise 42'si flukonazole duyarlı, 6'sı doza bağı duyarlı ve biri de dirençlidir.

10-Erişkin hastalardan izole edilen 120 *Candida glabrata* suşu 48 saat inkübasyon sonunda biri itrakonazole duyarlı (S), 76'sı doza bağı duyarlı (S-DD) ve 43'ü de dirençli (R) bulunmuştur. Çocuk hastalardan izole edilen 14 *Candida glabrata* suşunun 8'i itrakonazole doza bağı duyarlı (S-DD) ve 6'sı dirençli (R) bulunmuştur.



7- KAYNAKLAR

- 1- Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J.*, 2002, 78, 455-9.
- 2- Anaissie EJ, Darouiche RO, Abi-Said D, Uzun O, Mera J, Gentry LO, Williams T, Kontoyiannis DP, Karl CL, Bodey GP. Management of invasive candidal infections: results of a prospective, randomized, multicenter study of fluconazole versus amphotericin B and review of the literature. *Clin Infect Dis.*, 1996, 23, 964-72.
- 3- Arıkan S, Arslan Ş, Haşçelik G, Günalp A. Hacettepe Üniversitesi Hastanesinde kan kültürlerinden izole edilen mayaların antifungal ajanlara in-vitro duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bült.*, 2001, 35, 433-441.
- 4- Arıkan S. Antifungal duyarlılık testlerini nasıl ve Ne zaman Yapalım. “29. Türk Mikrobiyoloji Kongresi: Tutanaklar”, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Antalya 2000, s. 243-246.
- 5- Arıkan S. Mantar enfeksiyonlarında tanı yöntemleri. “Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Eğitim Kitabı” (Ed: A. Günalp, Y. Akyön Yılmaz, A. Pınar)’da, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 2003, s.140-164.
- 6- Arıkan S. Candida enfeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. “Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu: Tutanaklar” (Ed. N. Kiraz, A. Kiremitçi, Y. Akgün)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Eskişehir, 2002, s. 161-167.
- 7- Arıkan S. Lipozomal nistatin, ekinokandinler ve sordarinler. “2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar” (Ed. S. Kuştimur, A. Kalkancı)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Ankara, 2001, s. 149-153.
- 8- Arthington-Skaggs BA, Warnock DW, Morrison CJ. Quantitation of *Candida albicans* ergosterol content improves the correlation between in vitro antifungal susceptibility test results and in vivo outcome after fluconazole treatment in a murine model of invasive candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2000, 44, 2081-2085.
- 9- Baddley JW, Smith AM, Moser SA, Pappas PG. Trends in frequency and susceptibilities of *Candida glabrata* bloodstream isolates at a university hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 2001, 39, 199-201.
- 10- Baran J Jr, Klauber E, Barczak J, Riederer K, Khatib R. Trends in antifungal susceptibility among *Candida* sp. Urinary isolates from 1994 and 1998. *J Clin Microbiol.*, 2000, 38, 870-871.
- 11- Barry AL, Pfaller MA, Brown SD, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Knapp C, Rennie RP, Rex JH, Rinaldi MG. Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *J Clin Microbiol.*, 2000, 38, 3457-3459.

- 12- Barry A. L., Pfaller M. A., Rennie R. P., Fuchs P. C. ve Brown S. D. Precision and Accuracy of Fluconazole Susceptibility Testing by Broth Microdilution, Etest, and Disk Diffusion Methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46, 1781-1784.
- 13- Bennett JE, Izumikawa K, Marr KA. Mechanism of increased fluconazole resistance in *Candida glabrata* during prophylaxis. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2004, 48, 1773-1777.
- 14- Brockert PJ, Lachke SA, Srikantha T, Pujol C, Galask R, Soll DR. Phenotypic switching and mating type switching of *C. glabrata* at sites of colonization. *Infect and Immunity*, 2003, 71, 7109-7118.
- 15- Brun S, Berges T, Poupard P, Vauzelle-Moreau C, Renier G, Chabasse D, Bouchara JP. Mechanisms of azole resistance in petite mutants of *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2004, 48, 1788-96.
- 16- Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.*, 2001, 9, 327-335.
- 17- Calderone RA, Braun PC. Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. *Microbiol Rev.*, 1991, 55, 1-20.
- 18- Cormack BP, Ghori N, Falkow S. An adhesin of the yeast pathogen *Candida glabrata* mediating adherence to human epithelial cells. *Science.*, 1999, 285, 578-82.
- 19- Cowen LE. Predicting the emergence of resistance to antifungal drugs. *FEMS Microbiol Lett.*, 2001, 204, 1-7.
- 20- Csank C, Haynes K. *Candida glabrata* displays pseudohyphal growth. *FEMS Microbiol Lett.*, 2000, 189, 115-20.
- 21- Cuenca-Estrella M, Mellado E, Diaz-Guerra TM, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL. Susceptibility of fluconazole-resistant clinical isolates of *Candida* spp. to echinocandin LY303366, itraconazole and amphotericin B. *J Antimicrob Chemother.*, 2000, 46, 475-7.
- 22- Cuenca-Estrella M, Lee-Yang W, Ciblak MA, Arthington-Skaggs BA, Mellado E, Warnock DW, Rodriguez-Tudela JL. Comparative evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST broth microdilution procedures for antifungal susceptibility testing of *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2002, 46, 3644-7.
- 23- Cuenca-Estrella M, Moore CB, Barchiesi F, Bille J, Chryssanthou E, Denning DW, Donnelly JP, Dromer F, Dupont B, Rex JH, Richardson MD, Sancak B, Verweij PE, Rodriguez-Tudela JL; AFST Subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Multicenter evaluation of the reproducibility of the proposed antifungal susceptibility testing method for

fermentative yeasts of the Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (AFST-EUCAST). *Clin Microbiol Infect.*, 2003, 9, 467-74.

24- Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol.*, 1991, 45, 187-218.

25- Chakrabarti A, Nayak N, Talwar P. In vitro proteinase production by *Candida* species. *Mycopathologia.*, 1991, 114, 163-8.

26- Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, Warnock DW. Comparative evaluation of FUNGITEST and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol.*, 1998, 36, 926-30.

27- Davise LH. Medically important fungi: a guide to identification, ikinci baskı, ASM Press, Washington, D.C., 1995, s. 201.

28- Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis.*, 2003, 3, 685-702.

29- Ellis D. Amphotericin B: spectrum and resistance. *J Antimicrob Chemother.*, 2002, 49 Suppl 1: 7-10.

30- Enache E, Eskandari T, Borja L, Wadsworth E, Hoxter B, Calderone R. *Candida albicans* adherence to a human oesophageal cell line. *Microbiology.*, 1996, 142, 2741-6.

31- Ener B. *Candida* enfeksiyonlarının patogenezi: Etkenin rolü. “*Candida* Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu: Tutanaklar” (Ed. N. Kiraz, A. Kiremitçi, Y. Akgün)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Eskişehir, 2002, s. 65-70.

32- EUCAST Subcommittee of Antifungal Susceptibility Testing of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing. Method for determination of minimal inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. Discussion document E.Dis.7.1, in press. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Taufkirchen, Germany.

33- Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev.*, 1999, 12, 80-96.

34- Fridkin SK, Jarvis WR. : Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev.*, 1996, 9, 499-511.

35- Geber A, Hitchcock CA, Swartz JE, Pullen FS, Marsden KE, Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Deletion of the *Candida glabrata* ERG3 and ERG11 genes: effect on cell

viability, cell growth, sterol composition, and antifungal susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1995, 39, 2708-17.

36- Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev.*, 2000, 13, 122-43.

37- Ghannoum MA, Rex JH, Galgiani JN. Susceptibility testing of fungi: current status of correlation of in vitro data with clinical outcome. *J Clin Microbiol.*, 1996, 34, 489-95.

38- Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev.*, 1999, 12, 501-17.

39- Graybill JR, Revankar SG, Patterson TF. Antifungal agents and antifungal susceptibility testing. "M. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections" (Ed: L. Collier, A. Ballows, M. Susman,)'da 9. baskı, Oxford University Press, New York, 1998, s. 163-175.

40- Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, Phelan M, Morgan J, Lee-Yang W, Ciblak MA, Benjamin LE, Sanza LT, Huie S, Yeo SF, Brandt ME, Warnock DW. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol.*, 2004, 42, 1519-27.

41- Haynes K. Virulence in *Candida* species. *Trends Microbiol.*, 2001, 9, 591-6.

42- Hawksworth DL. Kingdom Fungi: Fungal phylogeny and systematics. "M. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections" (Ed: L. Collier, A. Ballows, M. Susman)'da, 9. baskı, Oxford University Press, New York, 1998, s. 43-55.

43- Herreros E., . Martinez C. M, M. J. Almela, M. S. Marriott, F. Gomez De Las Heras, and D. Gargallo-Viola (Sordarins: In Vitro Activities of New Antifungal Derivatives against Pathogenic Yeasts, *Pneumocystis carinii*, and Filamentous Fungi. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1998, 42, 2863-2869.

44- Hostetter MK. Adhesins and ligands involved in the interaction of *Candida* spp. with epithelial and endothelial surfaces. *Clin Microbiol Rev.*, 1994, 7, 9-42.

45- Hoşoğlu S. Nozokomiyal hematojen kandidoz. "1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar" (Ed. E. Tümbay, R. İnci, S. Hilmioğlu, Ş. Aydemir)'de, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İzmir, 1999, s. 157-165.

46- İnci R, Hilmioğlu S. Nozokomiyal Fungal İnfeksiyonlara Yaklaşım. *Klinik Dergisi.*, 2000, 13, 28-31.

- 47- Izumikawa K, Kakeya H, Tsai HF, Grimberg B, Bennett JE. Function of *Candida glabrata* ABC transporter gene, PDH1. *Yeast.*, 2003, 20, 249-61.
- 48- Kalkancı A. Yeni antifungaller ve direnç mekanizmaları. “3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar” (Ed. Y. Yeğenoğlu, Z. Erturan)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Bodrum, 2003, s. 272-284.
- 49- Kan VL, Geber A, Bennett JE. Enhanced oxidative killing of azole-resistant *Candida glabrata* strains with ERG11 deletion. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1996, 40, 1717-9.
- 50- Kantarcıoğlu AS, Yücel A. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. Derin Mikoz Laboratuvarında 01 Nisan 1999-27 Mart 2001 arasında ayrılan maya ve küflerin tür dağılımları ve duyarlılık paternleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.*, 2002, 33, 7-19.
- 51- Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, Gallis HA, McKinsey DS, Karchmer AW, Sugar AM, Sharkey PK, Wise GJ, Mangi R, Mosher A, Lee JY, Dismukes WE. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. The National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group. *Clin Infect Dis.*, 2000, 30, 14-8.
- 52- Kaya D, Kaptanoğlu S, Üstüner Z, Ertör O: Nötropenik hasta örneklerinden izole edilen mayaların tiplendirilmesi ve flukonazole karşı direncin araştırılması. *Klinik dergisi.*, 2001, 14, 14-16.
- 53- King RD, Lee JC, Morris AL. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. *Infect Immun.*, 1980, 27, 667-74.
- 54- Koç AN, Kocagöz s, Erdem F, Gündüz Z: Outbreak of nosocomial fungemia caused by *Candida glabrata*. *Mycoses*, 2002, 45, 470-475.
- 55- Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev.*, 2004, 17, 255-67.
- 56- Koç N. Ülkemizde antifungal direnç. “3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar” (Ed. Y. Yeğenoğlu, Z. Erturan)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Bodrum, 2003, s. 285-300.
- 57- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Jr. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5. baskı, Lippincott, Philadelphia, New York, 1997, .s. 1043.
- 58- Kontoyiannis DP, Lewis RE. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lancet.*, 2002, 30, 1135-44.
- 59- Krcmery V, Barnes AJ. Non-*albicans* *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect.*, 2002, 50, 243-60.

- 60- Krause DS, Reinhardt J, Vazquez JA, Reboli A, Goldstein BP, Wible M, Henkel T; Anidulafungin Invasive Candidiasis Study Group. Phase 2, randomized, dose-ranging study evaluating the safety and efficacy of anidulafungin in invasive candidiasis and candidemia. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2004, 48, 2021-4.
- 61- Lachke, S. A., T. Srikantha, L. K. Tsai, K. Daniels, and D. R. Soll. Infect. Phenotypic switching in *Candida glabrata* involves phase-specific regulation of the metallothionein gene MT-II and the newly discovered hemolysin gene IILP. *Immun.* 2000, 68, 884-895.
- 62- Li R. K. ve Rinaldi M. G. In Vitro Antifungal Activity of Nikkomycin Z in Combination with Fluconazole or Itraconazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, 43, 1401-1405.
- 63- Lopez-Berestein Gabriel. Development of Liposomal polyene antibiotics: an historical perspective. *J.Pharm. Pharmaceut Science.*, 2003, 6, 67-83.
- 64- Lozano-Chiu M, Rex JH. Resistance to antifungal agents. "M. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections" (Ed: L. Collier, A. Ballows, M. Susman)'da, 9. baskı, Oxford University Press, New York, 1998, s. 177-187.
- 65- Lupetti A, Danesi R, Campa M, Del Tacca M, Kelly S. Molecular basis of resistance to azole antifungals. *Trends Mol Med.*, 2002, 8, 76-81.
- 66- Marco F, Pfaller MA, Messer S, Jones RN. In vitro activities of voriconazole (UK-109,496) and four other antifungal agents against 394 clinical isolates of *Candida* spp. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1998, 42, 161-3.
- 67- Marichal P, Vanden Bossche H, Odds FC, Nobels G, Warnock DW, Timmerman V, Van Broeckhoven C, Fay S, Mose-Larsen P. Molecular biological characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1997, 41, 2229-37.
- 68- Matar MJ, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. Correlation between E-test, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2003, 47, 1647-51.
- 69- Mitchell H. Vaginal discharge--causes, diagnosis, and treatment. *BMJ.*, 2004, 29, 1306-8.
- 70- Miyazaki H, Miyazaki Y, Geber A, Parkinson T, Hitchcock C, Falconer DJ, Ward DJ, Marsden K, Bennett JE. Fluconazole resistance associated with drug efflux and increased transcription of a drug transporter gene, PDH1, in *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1998, 42, 1695-701.
- 71- Monod M, Capoccia S, Lechenne B, Zaugg C, Holdom M, Jousson O. Secreted

proteases from pathogenic fungi. *Int J Med Microbiol.*, 2002, 292, 405-19.

72- Neil S. Ryder, Sonja Wagner, and Ingrid Leitner. In Vitro Activities of Terbinafine against Cutaneous Isolates of *Candida albicans* and Other Pathogenic Yeasts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1998, 42, 1057-1061.

73- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1992. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Proposed standard. NCCLS document M27-P.

74- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1995. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; tentative standard. NCCLS document M27-T.

75- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. NCCLS document M27-A.

76- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002- M27-A2 .Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Second Edition

77- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1998. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium forming filamentous fungi. Proposed standard. NCCLS document M38-P.

78- Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 2003, 67, 400-28.

79- Navarro-Garcia F, Sanchez M, Nombela C, Pla J. Virulence genes in the pathogenic yeast *Candida albicans*. *FEMS Microbiol Rev.*, 2001, 25, 245-68.

80- Neely MN, Ghannoum MA. The exciting future of antifungal therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 2000, 19, 897-914.

81- Nemut T, Karadenizli A, Katırcıoğlu İ, Balıkçı E, Bingöl R: Vaginal akıntı örneklerinden izole edilen mayaların tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılıkları. *Klimik dergisi.*, 2002, 15, 56-58.

82- Nguyen MH, Yu CY. Voriconazole against fluconazole-susceptible and resistant candida isolates: in-vitro efficacy compared with that of itraconazole and ketoconazole. *J Antimicrob Chemother.*, 1998, 42, 253-6.

83- Niewerth M, Korting HC. Phospholipases of *Candida albicans*. *Mycoses.*, 2001, 44, 361-7.

- 84- Odds FC. Pathogenesis of *Candida* infections. *J Am Acad Dermatol.*, 1994, 31, S: 2-5.
- 85- Odds F C , M G Rinaldi, C R Cooper, Jr, A Fothergill, L Pasarell, and M R McGinnis. *Candida* and *Torulopsis*: a blinded evaluation of use of pseudohypha formation as basis for identification of medically important yeasts. *J Clin Microbiol.*, 1997, 35, 313–316.
- 86- Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG, Hamill RJ, Larsen RA, Horowitz HW, Powderly WG, Hyslop N, Kauffman CA, Cleary J, Mangino JE, Lee J. Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2003, 47, 3149-54.
- 87- Parkinson T, Falconer DJ, Hitchcock CA. Fluconazole resistance due to energy-dependent drug efflux in *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1995, 39, 1696-9.
- 88- Parkinson T, Falconer DJ, Hitchcock CA. Fluconazole resistance due to energy-dependent drug efflux in *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1995, 39, 1696-9.
- 89- Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location. *J Clin Microbiol.*, 2003, 41, 2176-9.
- 90- Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Huynh H, Hollis RJ, Diekema DJ. In vitro activities of 5-fluorocytosine against 8,803 clinical isolates of *Candida* spp.: global assessment of primary resistance using National Committee for Clinical Laboratory Standards susceptibility testing methods. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2002, 46, 3518-21.
- 91- Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of *Candida glabrata* to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from the ARTEMIS Antifungal Surveillance Program conducted in 2001 and 2002. *J Clin Microbiol.*, 2004, 42, 3142-6.
- 92- Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN. In vitro activities of posaconazole (Sch 56592) compared with those of itraconazole and fluconazole against 3,685 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2001, 45, 2862-4.
- 93- Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Rice C, Tendolkar S, Diekema DJ. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 2004, 48, 201-5.

- 94- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA. 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. The SENTRY Participant Group. *J Clin Microbiol.*, 1998, 36, 1886-9.
- 95- Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ, Messer SA; SENTRY Participant Group. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol.*, 2001, 39, 3254-9.
- 96- Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ; SENTRY Participants Group. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. *J Clin Microbiol.*, 2002, 40, 852-6.
- 97- Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Diekema DJ. In vitro activities of ravuconazole and voriconazole compared with those of four approved systemic antifungal agents against 6,970 clinical isolates of *Candida* spp. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2002, 46, 1723-7.
- 98- Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG. Antifungal susceptibility testing: technical advances and potential clinical applications. *Clin Infect Dis.*, 1997, 24, 776-84.
- 99- Rangel-Frausto MS, Wiblin T, Blumberg HM, Saiman L, Patterson J, Rinaldi M, Pfaller M, Edwards JE Jr, Jarvis W, Dawson J, Wenzel RP. National epidemiology of mycoses survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to *Candida* species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. *Clin Infect Dis.*, 1999, 29, 253-8.
- 100- Redding SW, Kirkpatrick WR, Saville S, Coco BJ, White W, Fothergill A, Rinaldi M, Eng T, Patterson TF, Lopez-Ribot J. Multiple patterns of resistance to fluconazole in *Candida glabrata* isolates from a patient with oropharyngeal candidiasis receiving head and neck radiation. *J Clin Microbiol.*, 2003, 41, 619-22.
- 101- de Repentigny L, Aumont F, Bernard K, Belhumeur P. Characterization of binding of *Candida albicans* to small intestinal mucin and its role in adherence to mucosal epithelial cells. *Infect Immun.*, 2000, 68, 3172-9.
- 102- Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Gosey LL, Odds FC, Rinaldi MG, Sheehan DJ, Warnock DW. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Rev.*, 2001, 14, 643-58.

- 103- Rex JH, Pfaller MA, Rinaldi MG, Polak A, Galgiani JN. Antifungal susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev.*, 1993, 6, 367-81.
- 104- Rex JH, Nelson PW, Paetznick VL, Lozano-Chiu M, Espinel-Ingroff A, Anaissie EJ. Optimizing the correlation between results of testing in vitro and therapeutic outcome in vivo for fluconazole by testing critical isolates in a murine model of invasive candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1998, 42, 129-34.
- 105- Ruiz-Sanchez D, Calderon-Romero L, Sanchez-Vega JT, Tay J. : Intestinal candidiasis. A clinical report and comments about this opportunistic pathology. *Mycopathologia.*, 2002, 156, 9-11.
- 106- Safdar A, Chaturvedi V, Koll BS, Larone DH, Perlin DS, Armstrong D. Prospective, multicenter surveillance study of *Candida glabrata*: fluconazole and itraconazole susceptibility profiles in bloodstream, invasive, and colonizing strains and differences between isolates from three urban teaching hospitals in New York City (*Candida* Susceptibility Trends Study, 1998 to 1999). *Antimicrob Agents Chemother.*, 2002, 46, 3268-72.
- 107- Safdar A, Chaturvedi V, Cross EW, Park S, Bernard EM, Armstrong D, Perlin DS Prospective study of *Candida* species in patients at a comprehensive cancer center. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2001, 45, 2129-33.
- 108- Sanglard D. Resistance of human fungal pathogens to antifungal drugs. *Curr Opin Microbiol.*, 2002, 5, 379-85.
- 109- Sanglard D. Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeasts. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 2002, 20, 462-9.
- 110- Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis.*, 2002, 2, 73-85.
- 111- Sanglard D, Ischer F, Calabrese D, Majcherczyk PA, Bille J. The ATP binding cassette transporter gene *CgCDR1* from *Candida glabrata* is involved in the resistance of clinical isolates to azole antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1999, 43, 2753-65.
- 112- Segal E, Elad D. *Candida* species and *Blastoschizomyces capitatus*. "M. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections" (Ed: L. Collier, A. Ballows, M. Susman)'da, 9. baskı, Oxford University Press, New York, 1998, s. 423-460.
- 113- Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and emerging azole antifungal agents. *Clin Microbiol Rev.*, 1999, 12, 40-79.
- 114- Sobel JD, Kauffman CA, McKinsey D, Zervos M, Vazquez JA, Karchmer AW, Lee J, Thomas C, Panzer H, Dismukes WE. Candiduria: a randomized, double-blind

study of treatment with fluconazole and placebo. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group. *Clin Infect Dis.*, 2000, 30, 19-24.

115- Sobel JD, Zervos M, Reed BD, Hooton T, Soper D, Nyirjesy P, Heine MW, Willems J, Panzer H. Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated *Candida* vaginitis: clinical implications. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2003, 47, 34-8.

116- Sugar AM. Use of amphotericin B with azole antifungal drugs: what are we doing? *Antimicrob Agents Chemother.* 1995, 39, 1907-12.

117- Sürücüoğlu S. Sistemik azoller ve Amfoterisin B'nin yeni formülasyonları. "1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar" (Ed. E. Tümbay, R. İnci, S. Hilmioglu, Ş. Aydemir)'da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İzmir, 1999, s. 183-185.

118- Takakura S, Fujihara N, Saito T, Kudo T, Iinuma Y, Ichiyama S. National surveillance of species distribution in blood isolates of *Candida* species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. *J Antimicrob Chemother.*, 2004, 53, 283-9.

119- Taşova Y. Amfoterisin B'nin lipid formülasyonları. "2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar" (Ed. S. Kuştımur, A. Kalkancı)'da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Ankara, 2001, s. 163-179.

120- Thyagarajan Srikantha, Salil A. Lachke, and David R. Soll. Three mating type-like loci in *Candida glabrata*. *Eukaryotic Cell.*, 2003, 2, 328-340.

121- Tümbay E. *Candida* türleri. "Temel ve Klinik Mikrobiyoloji" (Ed.Ş. Ustaçelebi)'de, Güneş Kitapevi, Ankara, 1999, s. 1081-1091.

122- Vazquez JA, Dembry LM, Sanchez V, Vazquez MA, Sobel JD, Dmuchowski C, Zervos MJ. Nosocomial *Candida glabrata* colonization: an epidemiologic study. *J Clin Microbiol.*, 1998, 36, 421-6.

123- Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, Doyen C, Lebeau B, Spence D, Krcmery V, De Pauw B, Meunier F. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis.*, 1999, 28, 1071-9.

124- White DJ, Habib AR, Vanthuyne A, Langford S, Symonds M. Combined topical flucytosine and amphotericin B for refractory vaginal *Candida glabrata* infections. *Sex Transm Infect.*, 2001, 77, 212-3.

125- White TC, Marr KA, Bowden RA. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev.*, 1998, 11, 382-402.

- 126- Yeğenoğlu Y. Candida infeksiyonlarının epidemiyolojisi. “Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu: Tutanaklar” (Ed. N. Kiraz, A. Kiremitçi, Y. Akgün)’de, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Eskişehir, 2002, s. 55-63.
- 127- Yıldırım ŞT. Yeni geliştirilen azoller. “2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar” (Ed. S. Kuştimur, A. Kalkancı)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Ankara, 2001, s.141-147.
- 128- Young LY, Hull CM, Heitman J. Disruption of ergosterol biosynthesis confers resistance to amphotericin B in *Candida lusitanae*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2003, 47, 2717-24.
- 129- Yücel A., Kantarcıoğlu AS. Hastane Kaynaklı (Nozokomiyal) Mantar İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.*, 2001, 32, 259-269.
- 130- Yücesoy M, Karaman M: *Candida* türlerinin biyofilm üretimi ve antifungal duyarlılık paternleri. *Mikrobiyol Bült.*, 2004, 38, 91-98.
- 131- Yücesoy M. Mayalar için antifungal duyarlılık testleri. “1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar” (Ed. E. Tümbay, R. İnci, S. Hilmioğlu, Ş. Aydemir)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İzmir, 1999, s. 191-199.
- 132- Yücesoy M. Antifungallere Direnç ve duyarlılık testlerinin gerekliliği ve yorumu. “3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi: Tutanaklar” (Ed. Y. Yeğenoğlu, Z. Erturan)’da, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, Bodrum, 2003, s. 301-312.