

**T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YOĞUN BAKIM ÜNİTESİ'NDEN GELEN  
HASTA ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN  
KANDIDA TÜRLERİ VE ANTİFUNGAL  
DUYARLILIKLARI**

**Dr. Hicran İZCİ YILDIZ  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Mustafa BERKTAŞ**

**VAN – 2008**

## İÇİNDEKİLER

1.ÖNSÖZ.....	3
2.ÖZET.....	4
3.SUMMARY.....	5
4.GİRİŞ VE AMAÇ.....	6
5.GENEL BİLGİLER.....	8
6.GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
7.BULGULAR.....	46
8.TARTIŞMA.....	53
9. SONUÇ.....	60
10.KAYNAKLAR.....	61
11.ÖZGEÇMİŞ.....	71

## 1. ÖNSÖZ

Klinik Mikrobiyoloji eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi, yardım ve desteğini esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanı ve tez hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa BERKTAŞ olmak üzere, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Görkem YAMAN hocalarıma, eğitim sürem boyunca emeklerini, yardımlarını, dostluklarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, mikrobiyoloji laboratuvarının tüm çalışanlarına, tezime emeği geçen Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. İsmail Katı hocama ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

## 2. ÖZET

Bu çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi, Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden gelen hasta örneklerinden soyutlanan maya mantarlarının tür tayinleri ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Ocak 2007- Aralık 2007 tarihleri arasında hastanemiz Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden laboratuvarımıza gelen hasta örneklerinden izole edilen maya mantarları incelemeye alınmıştır.

Çalışmaya alınan örneklerden soyutlanan maya mantarları; germ tüp testi, mısır unu tween 80 ve BBL CHROMagar besiyerleri, API 20C AUX maya identifikasyon sistemi kullanılarak tiplendirilmiştir. Maya mantarlarının antifungal duyarlılıkları amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve itrakonazol için ATB FUNGUS 2 INT agar mikrodilüsyon sistemi kullanılarak yapılmıştır.

Çalışmada soyutlanan maya mantarlarının % 54.6'sı *C.albicans* olarak saptanmıştır. En sık tür olarak izole edilen *C.albicans*'ı sırasıyla; *C.parapsilosis* (%12), *C.tropicalis* (10.6), *C.glabrata* (%9.3), *Trichosporon* spp.(%5.3), *C.famata* (%4), *C.utilis* (%1.4), *C.kefry* (%1.4) ve *Rhodotorula glutinis* (%1.4) izlemiştir. Antifungal duyarlılık testlerinde ise amfoterisin B ve flusitozine direnç görülmezken, flukonazole %14.6, itrakonazole ise %26.6 oranında direnç saptanmıştır.

Çalışmada alınan sonuçlar irdelendiğinde, diğer çalışmalara uygun biçimde bölgemizdeki yoğun bakım hastalarında da en sık mantar etkeni olarak *C.albicans* izole edilmiştir. Ampirik tedavide sık kullanılan flukonazol ve itrakonazol direncindeki artış ise antifungal duyarlılık testlerinin önemini ortaya koymaktadır.

### 3. SUMMARY

#### THE ISOLATION OF *CANDIDA* SPECIES FROM THE SAMPLES THAT COME FROM THE PATIENTS AT INTENSIVE CARE UNIT AND ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY

In this study; we aimed to determine the identification of yeasts from the samples of the patients that were sent from Anesthesia Intensive Care Unit of Yuzuncu Yil University Teaching Hospital and also we aimed to perform the antifungal susceptibility testing of yeasts. With this purpose we have taken under investigation the yeasts that were isolated from the samples of the patients from Anesthesia Intensive Care Unit during the period of January 2007- December 2007.

The yeasts were identified by using germ tube test, cornmeal tween 80 media, BBL CHROMagar media and API 20C AUX yeast identification system. The antifungal susceptibility tests were performed for amphotericin B, flucytosine, fluconazole and itraconazole by using ATB FUNGUS 2 INT agar microdilution system.

54.6% of the yeasts were identified as *C.albicans* which was the most common yeast followed by; *C.parapsilosis* (12%), *C.tropicalis* (10.6%), *C.glabrata* (9.3%), *Trichosporon* spp.(5.3%), *C.famata* (4%), *C.utilis* (1.4%), *C.kefry* (1.4%) and *Rhodotorula glutinis* (1.4%). According to the results of antifungal susceptibility tests, the resistance rate for fluconazole and itraconazole were 14.6% and 26.6% respectively. However no resistance was detected against amphotericin B and flucytosine.

The results of this study show that *C.albicans* is the most common yeast isolated from the patients at intensive care unit in our hospital and it is a finding correlated with other studies. Increase in the resistance of fluconazole and itraconazole which are frequently used for empirical treatment demonstrates the importance of antifungal susceptibility tests.

#### 4. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere paralel olarak mantar infeksiyonlarının insidansında artış gözlenmektedir. İmmün sistemi baskılanan hastalarda konak savunmasında oluşan önemli değişiklikler infeksiyonlara duyarlılığı arttırırken, hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik invaziv tıbbi girişimler, hastane infeksiyonlarının gelişmesini kolaylaştırmaktadır. Buna karşın fırsatçı mantar infeksiyonu yönünden risk grubuna giren hasta sayısı ise giderek artmaktadır (1, 2). Bu artışa paralel olarak infeksiyon etkeni mantar türü ve sayısı yükselmekte, risk grubunda bulunan bu hastalarda görülen mantar infeksiyonları sıklıkla fırsatçı patojenlerle gelişmektedir (1, 3). Bu infeksiyonların neredeyse tamamı hastane infeksiyonu şeklindedir. Center for Disease Control and Prevention (CDC) National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) verilerine göre, tüm patojenlerle gelişen hastane infeksiyonları sayısında artış olsa da, fungal etkenlerle ortaya çıkanlarda artış göreceli olarak daha fazladır. Yine bu verilere göre 1980- 1990 yılları arasında fungal hastane infeksiyonlarının görülme sıklığı 2/1000'den, 3,8 /1000'e yükselmiştir (2). Türkiye'de ise her yıl düzenlenen kongrelerde sunulan raporların ve yayınlanan çalışmaların verileri mantar infeksiyonlarının yaygınlığı konusunda bir fikir vermektedir (4).

Doğada 250.000 tür mantar saptanmasına karşılık sadece 150'si insan ve hayvanlar için primer patojendir (5). Fırsatçı mantarlar içerisinde en sık etkenler kandida türleridir (2). Kandida türleri içerisinde *C. albicans* en sık görülen etken olmakla birlikte albicans dışı türlerde de artış izlenmektedir (6, 7).

Hastane infeksiyonlarında artış olmakla beraber bu oran hastanedeki servislere göre de değişiklik göstermektedir (2). En yüksek hastane infeksiyonu oranları yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) görülmektedir (8,9). Erişkin ve yenidoğan YBÜ'deki hastane infeksiyonları oranlarının, hastanelerin diğer birimlerindeki oranların yaklaşık üç katı olduğu bildirilmektedir (8,10). Hastanede yatan hastalar içerisinde fungal infeksiyonlar yönünden en fazla risk oluşturanlar YBÜ'deki hastalardır. Bunun en önemli sebebi risk grubundaki genel durumu bozuk hastaların son dönemlerinde en fazla bu ünitelerde izlenmesi, uzun süreli geniş spektrumlu ve birden fazla antibiyotik kullanmaları, kortikosteroid ve sitotoksik ajanlarla tedavi edilmeleridir (11-13).

Mantar infeksiyonunun sıklığının ve buna bağlı mortalite ve morbilite oranlarının yükselmesi, ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşması, dirençli mantar suşlarının ortaya çıkmasına ve direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle uygun ve

etkin antifungal tedavinin seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine gereksinim artmaktadır (14). Fakat soyutlanan bütün fungal izolatlarına karşı laboratuvarlarda rutin olarak duyarlılık testleri yapılmamaktadır. Mantar türlerinin antifungal maddelere karşı duyarlılıkları makro ve mikrodilüsyon, agar dilüsyon, disk difüzyon ya da E test yöntemleri ile belirlenebilmektedir. Ancak mantarlardaki morfolojik çeşitlilik, üreme hızı ve optimal üreme koşullarındaki farklılıklar ile in vitro çalışmalarda kullanılan yöntemler de, standardizasyonu etkilemektedir (15, 16). Her merkezin kendi hastanesinde yatmakta olan hastalardan soyutladığı suşlar için periyodik olarak duyarlılık paternlerini ve direnç oranlarını saptaması önerilmektedir (17).

Bu çalışmada, Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden laboratuvara gelen hasta örneklerinden üretilen maya mantarlarının tür tayininin saptanması ve flusitozin, amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazol gibi antifungal ajanlara karşı duyarlılıklarının yarı-otomatize bir sistemle değerlendirilmesi planlanmış, elde edilen direnç profiline göre ampirik tedaviye yön verilebilmesi ve tedavide hekimlere daha rasyonel bir yaklaşım sunulabilmesi amaçlanmıştır.

## 5. GENEL BİLGİLER

### 5.1. Tarihçe

İlk çağlardan beri mantarların deri, saç ve tırnağı hastalandırarak eski hekimlerin dikkatini çektiği düşünülse bile, bunlar hakkında esaslı bilgiler, diğer birçok bilim dallarında olduğu gibi, 19. yüzyılda toplanmaya başlamıştır. Diğer yandan birçok hastalıkta olduğu gibi; mikoz ve bu arada kandidiyazların tarihine bakıldığı zaman, önce bazı belirtileriyle hastalığın tanımlanmaya çalışıldığı, etkenine ise çok daha sonraları ulaşıldığı görülmektedir. Gerçekten de kandidiyazın tarihçesi MÖ 4. yüzyıla İstanköylü (Kos) Hipokrat'a (Hippocrates MÖ 460- 337) kadar uzandığı halde, etkenin keşfi bundan asırlar sonra, tifüslü bir hastanın ağzındaki pamukçuk lezyonundaki kazıntıda mantarı gözlemleyen Langenbeck tarafından 19. yüzyılda (1839 yılında) gerçekleşmiş, fakat gördüğü mantarı yanlış olarak tifüsün etkeni şeklinde algılamıştır. Yine klasik kitaplarda modern tıp dönemine ait olmak üzere, pamukçuğun ilk tanımının 18. yüzyılda Rosen von Rosenstein tarafından 1771 yılında ve Underwood tarafından 1784 yılında yapıldığı da yazılıdır. Pamukçuğun etkeni olarak mantarın tanımı 1842 yıllarında Gruby tarafından gerçekleştirilmiş, *Sporothricum* türü olarak sınıflandırılmış ve bu nedenle tıp mikolojisinin başlangıcı Gruby ile başlatılmıştır. Bu organizmaya Rubin (1843) *Oidium albicans*, Zarf (1890) *Monilia albicans* ve en son Berkhout (1923) *Candida albicans* adlarını vermiştir. Gruby'nin pamukçuk tarifinden 2 yıl sonra (1844 yılında) Bennett tüberkülozlu bir hastanın balgamında *Candida albicans* gibi görülen bir mantarın mikroskopik karakteristiklerini resimlemiştir.

Kandida türlerinin başka organ hastalıklarına da sebep olduğu 20. yüzyılın başında tarif edilmiştir. 1907'de Jacobi dermatiti, 1910'da Rafin sistiti, 1912'de Castellani bronkoalveolar kandidiyazı, 1923'de Forbes kronik mukokutanöz kandidiyazı ve 1928'de Conner osteomyelit olgularını bildirmişlerdir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımıyla birlikte 1940'lı yıllarda kandida infeksiyonunun önemi artmıştır (6, 18, 19).

### 5.2. Yapı ve Biyokimyasal Özellikler

Mantarlar ökaryotik mikroorganizmalardır. Çoğu zorunlu aerob veya fakültatif anaerobdur. Bütün mantarlar önceden oluşmuş bir karbon kaynağına gereksinim duyarlar ve bu sebepten su, toprak ve çürümekte olan organik artıklarda bulunurlar. Fotosentez

yapmayıp besinlerini doğada bulunan kimyasallardan elde ederler. Dolayısı ile mantarların çoğunun doğal yaşam alanı dış ortamlardır (20, 21).

Mantarlara ilişkin altı temel özellik mantarların tanınmasını sağlar (Tablo 1). Mantarlar bu özellikleri ile bitki, hayvan ve bakterilerden kolaylıkla ayrılırlar (5).

**Tablo 1.** Mantar hücresinin temel özellikleri

<ul style="list-style-type: none"><li>- Gerçek bir çekirdeğe sahiptirler (ökaryot)</li><li>- Sporlar/ konidyumlar oluştururlar</li><li>- Klorofil içermezler (kemoheterotrof)</li><li>- Eşeyli ve/ veya eşeysiz ürerler</li><li>- Filamentöz yapılar oluştururlar</li><li>- Hücre duvarları vardır</li></ul>
--

Mantarlar maya ve küf olmak üzere iki temel morfolojik formdadırlar. Maya formu mantarların tek hücreli gelişimini yansıtır. 3- 15 µm çapta olup, yuvarlak ve elipsoit şekillidirler. Çoğunluğu tomurcuklanarak ürer ve bu oluşuma blastokonidya denir. Katı besiyerinde opak, yumuşak kıvamlı ve sıklıkla krem renkli koloniler oluştururlar (3, 21). Küf formu çok hücreli olmakla beraber filamentöz kolonilerin olduğu gelişme formunu yansıtır. Bu koloniler 2- 10 µm çapta dallanan ve hif adı verilen silindirik tübüllerden oluşur. Besiyerlerinde türlere göre farklı renk ve görünüm oluştururlar (21). Bakterilerden farklı olarak asidik ortamlarda da (pH 5,5) üreyebilirler (22).

Mantar türlerinin çoğunluğu sadece maya veya küf olarak gelişirken, bazı dimorfik türler çevre şartlarına göre her iki formda da gelişebilirler. Bazı patojenik mantarlar 37 °C' de maya, 25 °C- 30 °C' de küf formunda gelişerek termal dimorfizm gösterirler (13, 21).

Tüm mantar hücreleri en az bir nükleus, nükleus membranı, endoplazmik retikulum ve mitokondri içerir. Tekhücreli veya çokhücreli olabilirler. Maya ve küflerde hücreler sıklıkla birden fazla nükleus içerirler. Bundan dolayı mantarlar çokhücreli ve çok çekirdekli organizmalar olarak kabul edilirler. Bazı mantarlarda hücrelerin dış yüzünü kaplayan bir salgı veya amorfik polisakaritlerden oluşan kapsül bulunabilir. Kapsül, adezyonu ve hücrelerin bir arada bulunmasını sağlar (3, 21, 23).

Çoğu mantar hücresinin tıbbi önem taşıyan, N- asetilglukozamin polimerlerinden oluşan, kitin, glukan, mannan ve kompleks polisakaritlerden meydana gelen sert bir hücre duvarı vardır (22, 24). Bu hücre duvarı mantarın kuru ağırlığının % 15- % 30'unu

oluşturur. Hücreye dayanıklılık sağlar. Hücre duvarının %80'inden fazlasını karbonhidratlar oluşturur (21, 23). Farklı mantar türlerinin hücre duvarında birkaç çeşit polisakkaritin değişik kombinasyonları görülebilmektedir ( 21).

Hücre duvarının kalan kısmını protein ve glikoproteinler oluşturur. Bunlar enzimler ve polisakkaritler arasındaki bağlantıları sağlayan yapılardır. Hücre duvarı mantarların serolojik tanısında ve yeni antijenik tanı testlerinin geliştirilmesinde önemlidir (5, 21).

Mantar hücre zarı, kolesterol içeren insan hücre zarlarının aksine ergosterol ve zimosterol içerir (20). Bu iki tabakalı hücre zarı sitoplazmayı korur, sıvıların alımını ve atılımını düzenler. Ayrıca hücre duvarı ve kapsül sentezini kolaylaştırır (21). Mantarların sitoplazmasında vakuoller, mikrotübüller, retiküler endotel, mitokondriyumlar ve nükleus bulunur. Nükleus RNA'dan zengin nükleolus içerir (22). Mantar hücreindeki mitokondri bitki ve hayvan hücrelerinde bulunanlara benzer ve sayısı hücrenin aktivitesine bağlı olarak değişir. Sitoplazmada çoğunluğunu çift iplikli RNA virüslerinin oluşturduğu mantar plazmidleri ve diğer kromozom dışı genetik yapılar bulunmaktadır. Ayrıca sitoplazmada 80S yapısında ribozomlar yer alır (21).

### **5.3. Mantarlarda Üreme**

Mantarlar eşeysiz (mitoz) ve/ veya eşeyli (miyoz) olmak üzere iki biçimde ürerler ve üreme biçimlerine göre sınıflandırılırlar. Sporları aracılığı ile çoğalan mantarlar aynı anda hem eşeyli hem de eşeysiz konidiyumlar oluşturabilirler ( 5).

#### **5.3.1. Eşeysiz üreme**

Tek bir ana hücrenin mitoz bölünmesi ile oluşur. Eşeysiz üreme biçiminde vegetatif mantar hücrelerinde hacim ve kütlece bir artış söz konusudur. Hif sayısı artar, koloni büyür ve eşeysiz çoğalma özelliği gösteren yapılar (konidiyumlar) oluşur. Eşeysiz üremede dış ortam şartlarına daha dirençli olan sporlara gereksinim duyulur (5).

Yapıları yönünden eşeysiz hücreler; sporangiosporlar ve konidiyumlar olmak üzere iki tiptedir. Sporangiyum denen kese içinde bulunan sporlara sporangiospor, kese içinde bulunmayıp konidiyofor olarak adlandırılan özelleşmiş bir hifin ucundan doğan eşeysiz üreme yapılarına konidiyum denir. Konidiyumlar tallik ve blastik olarak ikiye ayrılırlar. Tallik konidiyumlar bir hiften köken alan ve enine septumlarla tek hücreler haline dönüşen konidiyumlardır. Artrokonidiyum ve klamidokonidiyum şeklinde görülürler. Blastik

konidyumlar ise bir hifin ucundan veya bir ana hücreden köken alırlar. Fiyalokonidyum, mikro ve makrokonidyum şeklinde görülürler ( 5,13).

### **5. 3. 2. Eşeyli üreme**

İki haploid yapıdaki mantar hücrelerinin bir araya gelmesi (plazmogami), haploid nükleusların füzyonu (karyogami) ve sonra çekirdeğin bölünmesi (mayoz) ile oluşan haploid hücre oluşumuyla sonuçlanan üreme şeklidir. Askospor, zigospor ve bazidiyospor tipinde üreme şekilleri görülebilir (5).

### **5.4. Mantarların Sınıflandırılması**

Mantarlar ilk önce bitkiler içerisinde sınıflandırılmışlar ancak daha sonra hücre yapılarına göre canlıların beşinci alemi olarak kabul edilmiş ve üreme biçimleri, yapıları, yaşam döngüleri ve bazı fizyolojik özelliklerine göre sınıflandırılmışlardır. Mantarların isimlendirilmesi “International Code of Botanical Nomenclature” tarafından yürütülmektedir (3,5).

Eşeyli üremesi saptanamayan mantarların tümü *Deuteromycota (Fungi imperfecti)* sınıfında incelenirken, eşeyli üremeleri saptanan mantarlar da *Zygomycota, Askomycota* ve *Basidiomycota* sınıflarında incelenirler. Tıbbi önemi olan mantarların sınıflanması Tablo 2’ de gösterilmiştir (3,5).

**Tablo 2.** Tıbbi önemi olan mantarların sınıflandırılması (5 nolu kaynaktan alınmıştır)

<b>SINIF</b>	<b>İNSAN PATOJENLERİNE ÖRNEK</b>
<b>Zygomycota</b> (Zygomycetes)	<i>Rhizopus</i> ve <i>Absidia</i> spp.
<b>Ascomycota</b> (Ascomycetes)	<i>Penicillium</i> spp. <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Aspergillus nidulans</i>
<b>Basidiomycota</b> (Basidiomycetes)	<i>Filobasidiella neoformans</i> ( <i>Cryptococcus neoformans</i> )
<b>Deuteromycota</b> (Deuteromycetes, Fungi imperfecti)	<i>Candida</i> spp. <i>Blastomyces dermatidis</i> <i>Sporothrix schenckii</i> <i>Microsporum</i> spp.

Filogenetik sınıflamaya uygun ve klinisyenlere yönelik bir başka sınıflama şekli daha vardır. Bu sınıflama klinik mikoloji laboratuvarlarında hastalık etkeni olarak en sık soyutlanan mantarları içermektedir (5).

**Tablo 3.** Mantarların kliniğe yönelik olarak sınıflandırılmaları (5 nolu kaynaktan alınmıştır)

<b>ZYGOMYCETES</b> <i>Rhizopus</i> türleri <i>Absidia</i> türleri <i>Cunninghamella</i> türleri	<b>FLEOHYPHOMYCES</b> <i>Alternaria</i> türleri <i>Curvularia</i> türleri <i>Bipolaris</i>
<b>ASPERGİLLUS TÜRLERİ</b> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. niger</i>	<b>KROMOMİKOZ ETKENLERİ</b> <i>Exophiala</i> türleri <i>Wangiella</i> türleri
<b>HYALOHYPHOMYCES</b> <i>Penicillium</i> türleri <i>Scopulariopsis</i> türleri <i>Acremonium</i> türleri <i>Fusarium</i> türleri <i>Scedosporium</i> türleri	<b>DERMATOFİTLER</b> <i>Microsporium</i> türleri <i>Trichophyton</i> türleri <i>Epidermophyton</i> türleri
<b>DİMORFİK MANTARLAR</b> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Coccidioides immitis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> <i>Blastomyces dermatidis</i>	<b>MAYALAR</b> <i>Candida</i> türleri <i>Cryptococcus</i> türleri <i>Trichosporon</i> türleri

### 5.5. Mantarların Neden Olduğu İnfeksiyonlar

İnsanlar doğadaki mantar sporları ile sürekli karşı karşıyadır. Mantarlar vücutta yerleştikleri bölgelere göre yüzeysel, cilt, ciltaltı, sistemik ve fırsatçı mikozlar olarak adlandırılırlar. Görüldükleri bölgelere göre mikoz etkenleri Tablo 4’te gösterilmiştir (25).

**Tablo 4.** Başlıca mikoz tipleri ve etkenleri

<b>Mikoz tipi</b>	<b>Etkenler</b>
Yüzeysel mikozlar	<i>Malassezia furfur</i> <i>Exophiala wernecki</i> <i>Trichosporon beigeli</i> <i>Piedraia hortae</i>
Cilt mikozları	<i>Microsporum spp.</i> <i>Trichophyton spp.</i> <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Candida spp.</i>
Ciltaltı mikozları	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>Phialophora verrucosa</i> <i>Fonsecaea pedrosoi</i> <i>Pseudoallescheria boydii</i> <i>Madurella mycetomatis</i>
Sistemik mikozlar	<i>Coccidioides immitis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Fırsatçı mikozlar	<i>Candida spp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Rhizopus spp.</i> <i>Absidia spp.</i> <i>Mucor spp.</i> Diğer Zygomycetes cinsleri

#### **5.6. Risk Grubunda Bulunan Hastalar ve Mantar İnfeksiyonlarını Kolaylaştıran Faktörler**

İmmün sistemi baskılanmış, invazif tanı ve tedavi girişimleri yapılan ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar, mantar infeksiyonları yönünden risk grubuna

girmektedirler (1,2,8). Yoğun bakım ünitelerinde bulunan hastalar; hastane infeksiyonlarının daha sık görülmesi, invaziv cihaz ve girişimlere daha fazla maruz kalınması, yüksek oranlarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması ve uzun süre yatış nedeniyle diğer bölümlerde yatan hastalara göre mantar infeksiyonları yönünden daha fazla risk taşımaktadır (8,11-13). Risk grubunda bulunan hastalarda mantar infeksiyonunu kolaylaştıran birçok faktör vardır ve bu faktörler;

- Uzun süreli antibiyotik kullanımı
- Kortikosteroidler
- Kemoterapi
- Antasitler
- Nötropeni
- Hematolojik malignite veya solid organ malignitesi
- Önceki kolonizasyon
- Santral venöz kateter ve stentler
- İdrar sondası
- Total parenteral nutrisyon
- Mekanik ventilasyon
- Büyük operasyon ve geniş yanık
- Malnutrisyon
- Hemodiyaliz
- Yoğun bakım ünitesinde uzun süre kalma olarak sıralanabilir (1,2,8,13).

## **5.7. Risk Grubu Hastalarda İnfeksiyon Etkeni Maya Mantarları**

### **5.7.1. Kandida türleri**

Kandida türleri insanları etkileyen en yaygın fungal patojenlerdir. İnsan deri ve mukozasında normal florada bulunurlar. Doğum sırasında veya doğumdan kısa bir süre sonra yenidoğana bulaşarak söz konusu flora içerisindeki yerlerini alırlar. Normal bireylerin % 30- 50'sinin ağızında ve gastrointestinal kanalda yer alırlar. Bu organizmalar, bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında invaziv olmayan yüzeysel ve / veya derin dokuları tutan infeksiyonlara neden olurlar (6, 26, 27).

#### **5.7.1.1. Kandida türlerinin mikrobiyolojisi**

### 5.7.1.1.1. Sınıflandırma

Kandidalar, *Deuteromycota*'da *Blastomyces* sınıfının *Cryptococcales* takımında *Cryptococcaceae* ailesinde sınıflandırılan, blastosporlarla çoğalan, yalancı hif yapan ve eşeyli şekilleri *Hemiascomycetes* sınıfında bulunan bir grup maya formunda mantardır. Eşeyli ve eşeysiz sporları aracılığı ile ürerler ve üreme şekilleri baz alınarak sınıflandırılırlar. Bugün için kabul edilmiş 200 kadar türü bulunmaktadır (3,26,28). Kandida cinsinin içinde bulunduğu türlerin taksonomik ilişkileri tam tanımlanmamıştır. Bu cins içerisinde en sık karşılaşılan patojen tür *C. albicans*'tır. Diğer en sık etkenler (%50- % 70) *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* ve *C. guilliermondii*'dir. Diğer hastalık etkeni olan başlıca türler; *C. catenulata*, *C. cifererrii*, *C. haemulonii*, *C. intermedia*, *C. kefyri*, *C. lambica*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. pelliculosa*, *C. pulcherrima*, *C. rugosa*, *C. utilis*, *C. viswanathii* ve *C. zeylanoides*'tir. Bu sayı ve sıralama gün geçtikçe değişebilir. Eşeyli spor oluşturan kandida türlerinin bazıları *Clavispora*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Kuyveromyces*, *Pichia* gibi farklı türler olarak tanımlanmaktadır. *C. stellatoidea*, *C. claussenii* ve *C.langeronii* türleri *C.albicans* içinde sınıflandırılmıştır (26).

### 5.7.1.1.2. Morfoloji ve boyanma özellikleri

Kandida türleri tek hücreli, hücre duvarında kitin ve/veya selüloz içeren ökaryotik kemoheterotrop organizmalardır. Tomurcuklanma (blastospor) veya ortadan ikiye bölünme ile çoğalırlar (27). Kandida türleri genellikle çapları 4- 6 µm arasında değişen yuvarlak veya yuvarlağımsı tomurcuklanan maya mantarlarıdır (26,29). Kandida türlerinde oluşan blastokonidyumlar ana hücreden ayrılmadan peşi sıra uzayarak yalancı hif (pseudohif), hücre duvarları birbirine paralel gerçek hif ve bir hifin ucunda veya arada bulunan tek hücreli, kalın duvarlı, oval geniş yapı olan klamidospore oluşturabilirler. Kandida türlerinde blastokonidyum, yalancı hif, klamidospore, germ tüp oluşumu ve askospore oluşumu tür tanımında önemlidir (3, 27).

Gram ile boyandıklarında tüm kandida türleri Gram olumludur (3,27). Maya elemanlarının örnekler içinde aranmasında Potasyum hidroksit – kalkoflor beyazı floresan boyama kullanılır. Maya hücre duvarındaki kitin ve selülozla nonspesifik bağlanan kalkoflor beyazı floresan boyası yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir. Kandida türlerini diğer mayalardan ayıran mikroskobik özellikleri Tablo 5'de özetlenmiştir (26,27).

**Tablo 5.** Kandida türlerini diğer mayalardan ayıran mikroskopik özellikler (27 nolu kaynaktan alınmıştır)

Organizma	Yalancı hif	Gerçek hif	Blasto-konidiyum	Artro-konidiyum	Anello-konidiyum	Klamido-spor	Askosp or
<i>B.capitatus</i>	+	+	+		+		
<i>C.albicans</i>	+	+	+			+	
<i>Candida</i> spp.	+	+	+				+
<i>Cryptococcus</i> spp.			+				
<i>Geotrichum</i> spp.		+		+			
<i>Hansenula</i> spp.	+		+				+
<i>Rhodotorula</i> spp.			+				
<i>Saccharomyces</i> spp.	+		+				+
<i>Trichosporon</i> spp.	+	+	+	+			

Mısır unu - Tween 80 agar, mayaların morfolojik görünüşleri tanımlamada önemlidir. *C. albicans*'ın Tween 80'li mısırunlu jelozda klamidospore gelişmesini teşvik etmek amacıyla Yücel ve ark. tarafından bir ekim yöntemi geliştirilmiştir. Yöntemin esası besiyerinin yüzey geriliminin de ayarlanmış olmasından yararlanılarak ekim iğnesi marifetiyle oluşturulan vakum sayesinde inokulumun, bir merkez noktası etrafına muntazam olarak dağılmasını sağlamaktır. Bu şekilde yapılan ekimlerde besiyerine muntazam dağılan kolonilerin periferlerinde iyi gelişmiş klamidospore üretilmektedir (28).

#### **5.7.1.1.3. Kültür özellikleri ve biyokimyasal yapıları**

Kandida türlerinin çoğu yaygın kullanılan mikolojik ve bakteriyolojik kültürlerde iyi ürerler. Koloniler genellikle 24 saatte oluşmasına rağmen, belirgin üreme genellikle 48-72 saat arasında gerçekleşir. Mayaların 37 °C'de üreyebilmeleri önemli özelliklerindedir. Özellikle patojen olan türler 25- 37 °C'de, saprofitler ise daha düşük ısıda üreyebilirler (6, 26,30). Kandida türleri Sabouraud dekstrozu agar (SDA) gibi primer izolasyon besiyerlerinde üreyip genellikle kirli beyaz veya krem rengi, yumuşak kıvamlı ve tipik olarak mayamsı kokulu koloniler oluştururlar (6). Bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremesini baskılayarak seçicilik sağlamak amacıyla primer izolasyon besiyerinin bileşimine sikloheksimid, gentamisin, kloramfenikol gibi antibiyotikler eklenebilir (31).

Mayaların üreyebilmesi için besiyeri ortamında glukoz, amonyum tuzu, fosfat, biyotin ve serbest metallere (Fe, Zn, Ca gibi) bulunması, ortam pH'sının 2- 8 arasında olması yeterlidir (6,32). Kandida türleri kemoheterotrofturlar, organik bir azot ve karbon kaynağına gereksinimleri vardır. Kandida türleri oksijen varlığında spesifik karbonhidratları tek karbon kaynağı olarak kullanabilirler. Besinlerini absorpsiyon yolu ile buldukları ortamdan kolayca sağlayabilmeleri için ortamın nem oranının %95- 100 arasında olması gerekir (6, 26)

Kandida türleri kendi aralarında biyokimyasal olarak; karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu, üre hidrolizi ve nitrat asimilasyonu ile değerlendirilir. Klinik örneklerden izole edilen kandida türlerinin bazı kültürel, mikroskopik morfoloji ve biyokimyasal özellikleri Tablo 6'da özetlenmiştir ( 26,27).

#### **5.7.1.1.4. Hücre yapıları**

Kandidalar çok katlı hücre duvarına ve hücre membranına sahiptirler. Hücre duvarı hücreye şeklini verir, osmotik basınca bağlı patlamaya karşı koyar, moleküllerin hücre içine ve dışına geçişinde rol oynar. Hücre duvarını temel olarak (%80- 90) karbonhidratlar, (%5- 15 ) proteinler ve (% 2- 5) lipidler oluşturur. Karbonhidratların % 20-30'u mannoproteinlerden, %50- 60'ı beta-glukanlardan ve %0,6- 2,7'si kitinden oluşur. Mannoproteinlerdeki farklılıklar kandida türlerinin ayrılmasında kullanılır. Kandidaların hücre duvarında bulunan lipidler ise sterol esterleri (zimosterol), serbest sterol (ergosterol), trigliseridler ve fosfolipidlerden oluşmaktadır (33,34).

Kandida hücreleri ökaryotik olduklarından membranla çevrili bir çekirdek içerirler. Çekirdek içerisinde çekirdekçik ve lineer kromozomlar bulunur. Sitoplazmada; mitokondri, golgi aygıtı, vakuoller, çeşitli veziküller ve 80-S ribozomlar yer alır. Hücre sitoplazmasında, mantarın yaşamında önemli yer tutan ve turgor basıncına karşı koyan hücre iskeleti bulunur. Mikrotübül, aktin ve miyozin komponentlerini içerir. Hücre duvarı ve hücre membranı ile ilişkidir (35).

**Tablo 6.** Mantarların mikroskobik morfoloji ve biyokimyasal özellikleri (26 nolu kaynaktan alınmıştır)

TÜRLER	Pseudo/ Gerçek hif	Klami- dospor	Germ tüp	Kapsül	ASİMİLASYON											FERMANTASYON					Üreaz	KNO	Asko- spor	
					D	M	S	L	G	M	S	İ	K	R	T	D	D	M	S	L				G
										*	*						*							
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	F	-	-	F	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	F	-	F	-	F	-	-	-
<i>Candida kefyr</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	F	-	F	F	F	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	+	-	-
<i>Candida lambica</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida lipolitica</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Candida lusitaniac</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	-	F	-	F	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida rugosa</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	F	F	-	F	-	-	-
<i>Candida zeynaloides</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Torulopsis glabrata</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Cryptococcus luteolus</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Cryptococcus terreus</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Rhodotorula glutini</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Rhodotorula rubra</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiac</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	F	F	F	-	F	-	-	+
<i>Hansenula anomala</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	F	F	-	F	-	+	+
<i>Trichosporon beigeli</i>	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Geotric/um candidum</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

D: Dekstroz, M: Maltoz, S:sukroz,L: Laktoz, G: Galaktoz, M\*: Melibiyoz, S\*: Selobiyoz, İ: İnozitol, K: Ksiloz, R: Rafinoz, T: Trehaloz, D\*: Dulsitol

### 5.7.1.2. Virülans faktörleri ve infeksiyon patogenezi

Kandida türlerinin virülans faktörleri; çimlenme borusu oluşturması, “slime” faktörü, ekstrasellüler matriks proteinlerine adezyonu sağlayan yüzey integrin benzeri moleküller, sideroforları kullanabilme özelliği, proteaz, fosfolipaz, hyalüronidaz, kondroitin fosfataz, kitinaz, esteraz ve lipaz enzimleri, endotoksin benzeri aktivite, morfolojik dimorfizm, antijenik çeşitlilik, fenotipik değişim ve hücre duvar bileşenleridir (26,36 -38). Bu virülans faktörleri kandida infeksiyonlarının oluşmasında önemlidir. Ancak fırsatçı mantar infeksiyonlarında konağa ait faktörler daha ön plana çıkmaktadır (39).

Kandidaların oral ve vaginal epitel hücrelerine, fibronektine, endotele, trombosit fibrin pıhtılarına ve plastik materyale adezyonu patogeneizde önemlidir (13,18,38-40). Adezyon, hücrelerin yüzey özellikleri ile ilişkilidir ve mukokutanöz kandidozun bu yapışma ile başladığı kabul edilmektedir. Kandidaların mukoza epitel ve endotel hücrelerine yapışması kolonizasyonun da ilk aşamasıdır. Kandidalar içerisinde en sık görülen tür olan *C. albicans*'ın önemli özelliklerinin başında da mukoza yüzeylerine yapışmayı sağlayan adezyon yeteneği gelir (37).

“Slime” faktörü kandidaların katetere bağlı infeksiyonlarında önemlidir. Damar içi kateter ve protez infeksiyonlarında “slime” faktörü önemli rol oynar. Bu yabancı cisimler organizmada fibronektin, fibrinojen ve laminin ile kaplanırlar ve yüzeye yapışan, çoğunlukla polisakkarit yapısında bir biyofilm tabakası oluştururlar (41). Biyofilm tabakası oluşturarak infeksiyonlara neden olan mantar türleri *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'dir (37,42). Diğer patojenik faktörlerinin yanısıra *C.albicans* ve *C. albicans* dışı kökenlerde, biyofilmlerin önemli bir virülans faktörü olduğu öne sürülmüşse de son günlerde yapılan araştırmalarda musin, fibronektin ve mannan bağlayan protein gibi, tükürük veya serum proteinlerinin kandida türlerinin biyofilm oluşturmasını kolaylaştırmadığı; akrilik yüzeylerde kandida biyofilmi oluşmasının karmaşık bir olay olduğu bildirilmiştir (43).

Kandida türlerinin bir diğer virülans faktörü sideroforları kullanma yeteneğidir. Mantarlar üremeleri için demire ihtiyaç duyarlar. Demir eksikliği durumunda, demir şelatörü olarak bilinen düşük molekül ağırlıklı sideroforları üretirler. Böylece patojenik özelliklerini arttırmış olurlar (44).

Kandida türleri dokulara yayılmalarını kolaylaştıran enzimler salgırlar. Bu enzimlerden proteinaz ve fosfolipazın patojenitede önemi fazladır. İlk olarak Staib ve ark. tarafından saptanan hücre dışı proteazı, moleküler yöntemlerin kullanılmaya başlanması ile araştırılmış ve sekretuvar aspartik proteinazı (Sap) salgılanmasının on üyeden oluşan SAP

adı verilen bir gen ailesi tarafından kontrol edildiği ortaya konmuştur. SAP gen ailesinin *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis* ve *C.dublinsiensis* gibi patojen türlerde bulunması, *Saccharomyces cerevisiae* gibi patojen olmayan mayalarda bulunmaması patojenite ile ilgisini göstermektedir (45). AIDS hastalarının tedavisinde kullanılan HIV- proteaz inhibitörlerinin, Sap enzimlerini inhibe ederek, *C. albicans*'ın adezyonunu azalttığı gösterilmesi ve bu tedaviyi alan AIDS hastalarında orofaringeal kandidoza daha az rastlanması, Sap enzimlerinin önemini vurgulamaktadır (46). Yapılan bir başka çalışmada, semptomatik AIDS hastalarının oral kavitelelerinden elde edilen *C.albicans* izolatlarının salgıladığı aspartik proteinazın, sağlıklı kişilerden elde edilen izolatların salgıladığı miktardan sekiz kat daha fazla olduğu bulunmuştur (47). Sap enziminin temel işlevlerinden biri, konak proteinlerini parçalayarak nitrojen sağlamaktır (38,45). Bu enzimlerin konak hücre yüzey yapılarını ve hücreler arası yapıları parçalayarak mikroorganizmanın adezyon ile invazyonunda ve konak immün sistem hücrelerini parçalayarak konak savunmasından çıkışında rol aldığı bildirilmektedir (45,48). Keratin, kollojen, laminin, fibronektin, müsin gibi hücre dışı ve hücre yüzey proteinlerinin; laktoferrin,  $\alpha$ -makroglobulin makrofaj enzimleri gibi konak savunma proteinlerinin ve immünglobulinlerin özellikle Sap2 enzimi tarafından parçalandığı belirtilmektedir (38, 45).

Dokulara yayılmayı kolaylaştıran bir diğer enzim olan fosfolipaz, konak hücre zarındaki fosfolipitleri hidrolize ederek hücreye zarar verir. Fosfolipaz aktivitesi en çok *C. albicans*'ta görülmekle birlikte, *C.glabrata*, *C. parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C. lusitaniae* ve *C. krusei* türlerinde de saptanmıştır (49).

İnfekte dokularda *C. albicans*'ın hem maya hem de miçelli şekli bulunsa da, hif şeklinin aktif semptomlu infeksiyonlarla ilişkili olduğu, saprofit *C. albicans*'ın hemen daima maya şeklinde olduğu, çimlenmekte olan miçelli hücrelerin daha virülanslı oldukları da belirtilmiştir. Çimlenme borusu oluşturan hücrelerin dokuya blastosporlardan 50 kez daha fazla yapıştıkları gösterilmiştir (37). Bu morfolojik değişim yeteneği kandida türlerine avantaj sağlamaktadır. *C.albicans*'ın hücre yüzey antijenlerinde değişiklik oluşması da virülansında önemli rol oynar (50).

Kandida türlerinin hücre duvarında bulunan mannan, adezyonu kolaylaştırmakta ve hücresel yanıtı bozarak immün sistemi baskılamaktadır ( 50,51).

Kandida infeksiyonları patogenezinin ilk aşamasındaki olaylar konak savunmasıyla alakalı olduğundan dolayı konağın doğal immünitesinde rol alan hücreleri bilmek önemlidir. Konak savunma mekanizması yüzeyel savunma, humoral savunma ve hücresel savunma olarak 3 basamakta incelenir (Tablo 7) (39).

Tablo 7. Konak savunma mekanizmaları

Savunma basamağı	Özgül olmayan	Özgül
Yüzeyel savunma (deri, mukoza)	Mekanik engeller Salgısal engeller Siliyer hareket	Antikorlar
Humoral savunma	Kollektinler Defensinler Kompleman sistemi Kemokinler, Sitokinler	Antikorlar
Hücreyel savunma	Monosit/ makrofaj Nötrofil Dendritik hücreler Lenfositler Natural killer hücreleri	Hücreyel immünite (T-lenfosit, makrofajlar)

Konak savunma mekanizmasında yüzeyel savunma yani sağlam deri bütünlüğü ilk savunma mekanizmalarındandır. Deri yaralanmasına neden olan olaylar sağlıklı bireylerde dahi kutanöz kandidoza neden olabilir. Kutanöz kandidozda hücreyel savunma önemli rol oynar. Monosit, makrofaj ve eozinofillerin kandida türlerini öldürebilme özellikleri vardır. Makrofajlar mantarların dokulara yayılmasını önleyen bir ortam oluştururlar. Makrofajların *C. albicans*'ı fagosite etmesi ve öldürmesi mannoz reseptörleri ile orantılıdır. Mannoze reseptörleri makrofajlar ve dendritik hücrelerin membranlarında bulunan glikoprotein özellikli yapılardır (39).

Mantarlara karşı konak savunmasında trombositler de önemli rol oynamaktadır. İnfeksiyonun hematojen yayılımında ilk aşamada mantarların trombositlere bağlandığı gösterilmiştir. Bazı *C. albicans* suşlarının trombositlerden salgılanan öldürücü proteinlere karşı diğer suşlardan daha duyarlı olduğu tavşanlarda yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (39,52).

### 5.7.1.3. Kandida türlerinin identifikasyonu

Kandida türlerinin identifikasyonu makroskopik ve mikroskopik olarak morfolojik karakterlerin incelenmesi ve biyokimyasal özelliklerin değerlendirilmesi ile yapılır. Bu temel morfolojik ve biyokimyasal özellikler;

- Kolonilerin ilk üretilme besiyerlerindeki görünümü ve rengi
- Hücrelerin büyüklüğü ve şekli
- Germ tüp oluşturma yeteneği
- Hif ve / veya psödohif ve klamidospore oluşumu
- Karbonhidrat asimilasyonu
- Nitrat asimilasyonu
- Şeker fermentasyonu
- Geleneksel yöntemlerin bazıları özellikle biyokimyasal testler zor ve zaman alıcıdır. Ayrıca birçok hızlı tanı yöntemi geliştirilmiş ve ticari olarak mikrobiyoloji laboratuvarlarına sunulmuştur (53,54).

#### **5.7.1.3.1. Kandida kolonilerinin görünümü**

Kandida türleri, genelde Sabouraud dekstroz agar, koyun kanlı agar, at kanlı agar gibi rutinde kullanılan mikolojik ve bakteriyolojik besiyerlerinde iyi ürerler. SDA'da, 25-37 °C'de üremiş kandida kolonileri beyazdan bej rengine ve S tipinden buruşuk yapılı kolonilere kadar değişen renk ve yapıda olabilirler. Koloni rengi geleneksel olarak kullanılan besiyerlerinde ayırt edilemez. Karışık örneklerdeki değişik kandida türleri, kromojenik maddeler içeren CHROMagar besiyerleri kullanılarak birbirinden ayrılırlar (6, 13,54). Özellikle *C.albicans*'ın ayırımında önemli olan bu besiyerlerinde, kandida türlerine özgü enzimler kromojenik substratlarla tepkimeye girerler ve kendilerine özgü bir renk oluştururlar (13,55).

#### **5.7.1.3.2. Kandidalarda germ tüp testi, hif, blastospor ve klamidospore yapımı**

Kandida türlerin identifikasyonunda ilk adım germ tüp testidir. *C.albicans*'ın tanısında hızlı bir testtir ve hem primer hem de saf kültürlerden yapılabilir. *C. albicans* ve *C.dublinskiensis* türlerinin %95-97'sinde olumludur. *C.albicans*'ın bütün türleri germ tüp oluşturmayabilir (13,54). Germ tüp, blastosporlardan orjin alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca hiç kabarıklık yapmayan bir filament olarak gözlenir. Pseudogerm tüpte ise daha büyük bir blastospor vardır ve hif ile bağlantı bölgesinin daha belirgin olduğu gözlenir (13,26). Germ tüp testi için insan serumu, yumurta albumini, sığır serum albumini, koagüle tavşan plazması ve koyun serumu kullanılabilir. Rutinde en sık insan serumu tercih edilir (13,56).

Kandida türlerinin hif, pseudohif, blastospor ve klamidospore üretme özellikleri mikroskopik olarak değerlendirilir. Bunun için Pirinç unu-Tween 80 agar, Mısır unu (Cornmeal)- Tween 80, Wolin Bevis agar, Oxgall agar veya Czapek Dox-Tween 80 agar besiyerleri kullanılabilir. *C.albicans* kökenlerinin %60'ı klamidospore oluştururlar. Bu test *C.albicans* ve *C.dublinskiensis* türlerinin identifikasyonlarında hızlı bir ön tanı basamağıdır (13,26,34,54). Kandida türleri yalancı hif (pseudohif) oluştururlar. Yalancı hif arka arkaya tomurcuklanan blastokonidiyumların birbirinden ayrılmayıp uzayarak ve aralarında boğumlar oluşturarak yaptıkları bir hücreler zinciridir. Kandida türleri arasında *C.albicans* blastokonidiyum ve yalancı hif yanında gerçek hifler de oluşturarak dimorfik özellik gösterir (6).

#### **5.7.1.3.3. Kandida türlerinde biyokimyasal testler**

- *Karbonhidrat asimilasyon testi:* Mayaların karbon kaynağı olarak spesifik bir karbonhidratı oksijen varlığında kullanma yeteneklerini ortaya çıkarır (Tablo 6). Bu test Wickerman ve Burton gibi rutinde pek kullanılmayan metodlarla yapılabileceği gibi, çeşitli otomatize ve yarı otomatize ticari sistemler kullanılarak da uygulanabilir (26,57).

- *Nitrat asimilasyon testi:* Karbonhidrat asimilasyon testine benzer ve mayaların nitrojen kaynağı olarak nitratı kullanma yeteneklerini ortaya koyar.

- *Karbonhidrat fermentasyon testi:* Fermentatif mantarlar karbondioksit ve alkol oluştururlar. Gaz oluşumu ve pH'da değişiklik olmaması fermentasyonu gösterir. Bu test değişik kandida türlerini, *Cryptococcus* ve *Rhodotorula* türlerinden ayırmada yararlıdır.

- *Üreaz testi:* bu test mantarların üreaz enzimi üretebilme kapasitelerini gösterir. Uygun substrat varlığında üre üreazla parçalanarak amonyak oluşturur. Oluşan amonyak pH'yı yükseltir ve fenol red indikatörü pH artışına bağlı olarak kehribar renginden pembemsi bir renge dönüşür ( 26).

#### **5.7.1.3.4. Kandida türleri için hızlı tiplendirme kitleri**

Kandida türlerinin tiplendirilmesinde kullanılan ticari kitler daha kısa sürede sonuçlanması ve kolay uygulanabilmesinden ötürü sık tercih edilmektedir (13, 26,58). Hem sık, hem de az rastlanan türleri 24- 72 saat gibi kısa sürede identifiye eden bu sistemlerin her biri biyokimyasal testleri farklı bir prosedürle kullanır. API 20C AUX (bioMerieux), API ID 32C (bioMerieux), Yeast Star (CLARC Laboratories), Auxacolor

(Sanofi Diagnostics Pasteur), RapID Yeast Plus system (Innovative Diagnostics Systems), API Candida (bioMerieux) gibi pek çok ticari sistem vardır (13, 58,59).

#### **5.7.1.3.5. Kandida infeksiyonlarının serolojik tanısı**

Özellikle invaziv kandidozların klinik ve mikrobiyolojik tanısında yaşanan sorunlar, kültür dışındaki tanı yöntemlerinin gelişmesini hızlandırmıştır. Son yıllarda hasta serumu ve vücut sıvılarında kandida antikorlarını, antijenlerini (mannan, proteaz, enolaz, ısı şok proteini gibi), metabolitlerini ve hücre duvar komponentlerini saptayan testler geliştirilmiştir. Bu testler özel hasta gruplarında fungeminin doğrulanmasında yardımcıdırlar. Fakat özellikle kandida infeksiyonlarında, bu maya cinsinin flora üyesi olması nedeniyle başarısızlık gösterebilirler. Sadece referans laboratuvarlarda kullanılan tüp presipitasyon, immüdiffüzyon, lateks aglütinasyon ve kompleman fiksasyon gibi testler kandida infeksiyonlarının serolojik tanısında kullanılır (6,13,54,60-63).

Tüm bu gelişmelere rağmen invaziv kandidozların tanısına ilişkin sorunlar henüz tamamen çözülememiştir. Yoğun bakım hastalarında ve organ nakilli hastalarda invaziv kandidozun tanısı amacıyla moleküler ve serolojik yöntemlerin karşılaştırıldığı ve sadece serolojik incelemelerin yapıldığı çalışmalarda tek başına hiçbir yöntemin tanıda yeterli olmadığı bildirilmiştir (54,60-62).

#### **5.7.1.3.6. Kandida infeksiyonlarında moleküler ve genetik tanı yöntemleri**

Moleküler ve genetik tanısal yöntemlerin yaygın kullanımı 1987 yılında polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) tanımlanması ile ivme kazanmıştır. Bu tanı yöntemlerini kullanmadan önce test edilecek mikroorganizmayı, klinik örneği, yöntemin duyarlık, özgüllük, hız ve kolay uygulanabilirlik gibi özelliklerini gözden geçirmek gerekir (63).

Mikolojide moleküler yöntemlerin mantarın klinik örneklerde varlığını saptama ve/veya tanımlama çalışmalarında, epidemiyolojik amaçlarla izolatlar arasındaki genotipik farklılıkların ortaya konmasında, antifungal dirençlilik gibi virülans faktörlerinin varlığının genotipik olarak saptanmasında, genom baz dizisi ve mutasyon analizlerinde, klinik örnekte bulunan fungusun canlılığının ortaya konmasında ve filogenetik (taksonomik) incelemelerde kullanıldığı görülmektedir (63,64).

Kandida türlerinin hızlı tanısına yönelik moleküler çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Özellikle akademik merkezlerdeki laboratuvarlarda sık kullanılmaktadır.

Ancak moleküler tanı yöntemlerinin her laboratuvarında bulunmaması ve yüksek maliyeti kullanımını sınırlamaktadır (65).

#### **5.7.1.4. Kandida türleri ile oluşan hastalıklar**

Kandidalar normal koşullarda, özellikle gastrointestinal olmak üzere, normal florada bulduklarından infeksiyonları çoğu kez endojen kaynaklıdır. Genellikle infeksiyondan önce florada bulunan mantar sayıca bir artış gösterir (kolonizasyon) ve kolonizasyonu infeksiyon izler (6). Kandidozlar, yüzeysel ve derin infeksiyonlar olmak üzere iki grupta incelenir. Yüzeysel kandidozlar deri ve mukozaların, derin kandidozlar ise iç organ ve sistemlerin infeksiyonlarıdır (6,18).

Yüzeysel kandidozlar ağız kandidozu (pamukçuk), genital kandidoz, deri kandidozu, onikomikoz ve kronik mukokutanöz kandidiazis şeklinde görülür.

Derin ve sistemik kandidoz kandidemiye izler. Konak savunmasının normal olduğu durumlarda, kandidemi geçici olup vücut kısa sürede mantarı kandan uzaklaştırır. Buna karşılık, yetersiz fagositik etkinlik durumlarında kandida kandan uzaklaştırılmaz ve kanda çoğalıp herhangi bir organ veya sisteme yerleşerek infeksiyon odakları oluşturur. En sık tutulan organlar; böbrekler, deri, göz, kalp, karaciğer, dalak ve beyin zarlarıdır (6,13).

#### **5.7.1.5. Kandida türlerinin epidemiyolojisi**

Kandida türleri normal koşullarda insanların %30-50'sinin gastrointestinal kanalında ve kadınların %20- 30'unun genital kanal florasında bulunur (6,10). Doğada 150'den fazla kandida türü bulunmakla birlikte; *C.albicans*, *C.guilliermondii*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C.lusitaniae*, *C.dublinskiensis* ve *C.glabrata* olmak üzere, dokuzunun insanlarda daha patojen olduğu bildirilmiştir (18,66). *C.albicans*, sağlıklı bireylerde ağız ve gastrointestinal flora başta olmak üzere insan florasında bulunan en sık tür olmakla beraber, ağızdan izolasyonların %60-80'ini, genital yol izolasyonlarının %80-90'ını oluşturur. Deride *C.guilliermondii* ve *C. parapsilosis* türlerine *C.albicans*'a göre daha az rastlanır (18,66,67). Yoğun bakım ünitesinde yapılan bir çalışmada sağlık çalışanlarının %15-54'ünün ellerinden *Candida* türleri izole edilmiştir (68).

Kandida türlerinin bazıları, insan vücudunda belirli bölgelerde yerleşme eğilimi gösterirler. *C.guilliermondii*, *C.parapsilosis*, *C.krusei*, *C.kefyr* ve *C.tropicalis*'in deri; *C.tropicalis*, *C.krusei* ve *C.glabrata*'nın ağız; *C.parapsilosis*, *C.tropicalis* ve

*C.glabrata*'nın dış kulak; *C.tropicalis* ve *C.glabrata*'nın bağırsak; *C.tropicalis*'in anogenital bölge, ağız çevresi ve tırnak; *C.zeylanoides*'in tırnaktan daha sık elde edildiği bildirilmiştir.

Bazı kandida türleri bazı klinik sendromlar ile ilişkili bulunmuştur. Örneğin *C.albicans* ve *C.tropicalis*'in lösemili, *C.krusei* ve *C.lusitaniae*'nin kemik iliği transplantasyonlu hastalarda daha sık infeksiyon oluşturduğu gösterilmiştir. Son yıllarda, *C.albicans* dışındaki diğer kandida türlerinin hastalık etkeni olarak giderek artan sayıda saptandıkları (%46) ve izolatların %25'i *C.tropicalis* (lösemi veya lenforetiküler maligniteli hastalarda *C.albicans*'dan daha virülan), %8'i *C.glabrata*, %7'si *C.parapsilosis* ve %42'si *C.krusei* (flukonazole dirençli) olarak belirlenmiştir. *C.lusitaniae*'nin amfoterisin B'ye dirençli ve genellikle düşük virülanslı olduğu belirlenmiştir (6,66,69).

*C.albicans* dışındaki kandida türlerinin son 10 yılda artan insidansının geniş etki alanlı antibiyotik, steroid ve antikarsinojen ilaçların yaygın kullanımı, immunsupresif hasta gruplarının artması (özellikle AIDS'li hasta insidansındaki artış), organ transplantasyonları, protez cihazlarının implantasyonu, kateterizasyon ve fazla flukonazol kullanımı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (6,66,70).

## **5.7.2. Risk grubu hastalarda kandida türleri dışındaki mayalar ve oluşturdukları klinik tablolar**

### **5.7.2.1. Trichosporon türleri**

*Trichosporon* türleri gastrointestinal sistem, üriner sistem, deri normal florasında ve doğada bulunmaktadır (71). Taksonomide yapılan son değişikliklerle insanlarda yüzeysel infeksiyonlara neden olanlar *Trichosporon asteroides* ve *T.cutaneum*; beyaz piedraya neden olanlar ise *T.ovoides* ve *T.inkin* olarak isimlendirilmiştir. İnvaziv infeksiyonlara neden olanlar *T.asahii* ve *T.mucooides* olarak ayrılmıştır. Ancak halen klinik laboratuvarlarda, çoğunlukla *T.beigelii* olarak tanımlanmaktadır (26,71,72).

Bu türün yol açtığı nadir rastlanan invaziv infeksiyonlar, özellikle akut lösemili nötropenik hastalar ve kortikosteroid kullanan hastalarda görülmektedir. Bunun dışında aplastik anemi, organ transplantasyonu, AIDS ve solit tümörü olan immun baskılanmış hastalarda; intravenöz ilaç bağımlıları, CAPD'li (kronik ayaktan periton diyalizi), prostatik kalp kapağı olan immun baskılanmanın olmadığı ancak çok düşük hastalar arasında da gelişmiş olgular bulunmaktadır (71,73).

### **5.7.2.2. *Malassezia* türleri**

*Malassezia* türleri normal deri florasında bulunan, lipofilik özelliği olan maya benzeri mantarlardır. İmmun sistemi normal olan kişilerde tinea versicolor infeksiyonuna neden olurlar. *Malassezia furfur* ve daha nadir olarak *M.pachydermatis*, özellikle yoğun bakım ünitelerinde uzun süre kalan yenidoğanlarda, santral intravenöz kateter ile lipit içeren solüsyonların verilmesi nedeniyle fungemiler yapar. Seyrek olarak akciğer, periton ve diğer organlarda da tutulum olur. Bu mantar, immün sistemi baskılanmış kişiler ve kanser hastalarında fırsatçı infeksiyonlara neden olabilir (13,26,71).

### **5.7.2.3. *Geotrichum candidum***

Doğada ve insanların %30'unun barsaklarında bulunabilen, maya benzeri bir mantardır. Nadiren fungemi ve fungemi sonrası yaygın sistemik infeksiyon yapar. Dolayısıyla patojenitesi oldukça düşüktür (13,71).

### **5.7.2.4. *Cryptococcus* türleri**

*Cryptococcus neoformans* geniş polisakkarit kapsülü ile karakterize bir maya mantarıdır. Özellikle kuru güvercin dışıklarının bulunduğu yerlerden vücuda solunum yoluyla alınmasıyla kriptokokkoz hastalığına neden olur. Sağlıklı kişilerde hafif gribe benzer bir infeksiyon şeklinde seyrederek. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda ise etken akciğerde çoğalarak en sık santral sinir sistemi olmak üzere deri, böbrek, böbrek üstü bezi, kemik, barsak, karaciğer, dalak, kalp ve göz gibi organlara da yayılabilmektedir. Konak savunmasında T hücrelerine bağlı immünolojik tepkimelerin yeterli olması gereklidir. Bu nedenle HIV infeksiyonlu hastalarda görülen ciddi T hücre defektleri yaygın kriptokokkoza zemin hazırlar (13,26).

*C.neoformans* dışındaki kriptokok türleri de nadir olarak infeksiyonlara yol açabilmektedir. *C.laurentii* ve *C. albidus*'a bağlı infeksiyonlar bildirilmişse de bunlarla ilgili ayrıntılı bilgi henüz yoktur (13,26,74).

### 5.7.2.5. Diğer maya ve maya benzeri mantarlar

*Hansenula*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* gibi maya ve maya benzeri mantarlar yatağa bağımlı ve dūřkūn hastalarda fırsatçı infeksiyonlar oluşturduğuna ilişkin bilgiler olmakla birlikte, sayıları son derece azdır. Tanımlamak için karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon testlerine ihtiyaç vardır. Tedavi kriterleri ise kesin olarak saptanamamıştır (26, 71).

## 5.8. Antifungal İlaçlar

Antifungal tedavi son yıllarda muazzam bir dōnūřim içine girmiřtir. Tedavinin zaman alması, sabır istemesi yanında tedavinin planlanmasında etkenin ve hastanın immūn durumunun iyi bilinmesi gerekir. 1950'li yıllara kadar iyod, fenol tūrevleri, salisilik asid ve tūrevleri, benzoik asid gibi karbonik asidler kullanılmaktayken, 1951 yılında hem oral hemde topikal etkili poliyen antibiyotik olan nistatin bulunmuřtur. 1956'da polien bir antibiyotik olan amfoterisin B'nin bulunması sistemik antifungal tedavide dōnūm noktası olmuřtur. Ardından sitostatik bir madde olarak ūretilen flusitozin mantar tedavisinde kullanılmaya bařlanmıřtır. Amfoterisin B ve 5- flusitozin'in uygulamalarının zor olması ve toksik olmalarından dolayı, birçok yeni antifungal ilaçlar geliřtirilmiř veya eski ilaçların yeni formūlleri yapılmıřtır. 1958'de oral antifungal olan griseofulvin, 1969'da imidazol tūrevlerinden klotrimazol ve mikonazol, 1977'de ketokonazol ve 1980'li yıllarda geniř etki alanına sahip flukonazol ve itrakonazol piyasaya sūrūlmūřtūr. Antifungal ajanlar sistemik ve topikal ajanlar olarak iki grupta incelenirler. Bu ajanlar Tablo 8'de gōsterilmiřtir (30,75-78).

Tablo 8. Sistemik ve topikal antifungal ajanlar (78 nolu kaynaktan alınmıştır.)

<b>Kimyasal grup</b>	<b>Antifungal ajanlar</b>	<b>Formulasyonları</b>	
<b>Allilamin</b>	Naftilin	Topikal	
	Terbinafin	Oral, topikal	
<b>Antimetabolitler</b>	Flusitozin	Oral	
<b>Azol (imidazol)</b>	Bifonazol	Topikal	
	Butokonazol	Topikal	
	Klotrimazol	Topikal	
	Econazol	Topikal	
	Ketokonazol	Oral, topikal	
	Mikonazol	Topikal	
	Oksikonazol	Topikal	
	Sulkonazol	Topikal	
	Terconazol	Topikal	
	Tiokonazol	Topikal	
	<b>Azol (triazol)</b>	Flukonazol	Oral, İV
		İtrakonazol	Oral, İV, oral süspansiyon
		Varikonazol	Oral, İV
<b>Ekinokandin</b>	Caspofungin	İV	
<b>Polyenler</b>	Amfoterisin B	İV, topikal	
	Nistatin	Topikal, oral süspansiyon	
<b>Diğerleri</b>	Amorolfine	Topikal	
	Butenafine HCL	Topikal	
	Ciclopirox olamine	Topikal	
	Griseofulvin	Oral	
	Haloprojin	Topikal	
	Tolnaftat	Topikal	

## 5.8.1. Polien antifungaller

### 5.8.1.1. Amfoterisin B

Amfoterisin B ve lipit formülasyonları, polien makrolid antifungal ajanlar olup, hayatı tehdit eden mantar infeksiyonlarında ilk tercih edilen ilaçlardır (30,78). *Streptomyces nodusus*'tan fermente edilerek elde edilmektedir (76,77). Amfoterisin B, ısı, ışık ve pH değişimleriyle inaktive olan yedi tane konjuge çift bağ içerir. Suda çözünürlüğü az olduğundan oral ve intramüsküler emilmez. Genellikle kullanılan formu, intravenöz kullanım için uygun olan amfoterisin B deoksikolat formudur (30).

Amfoterisin B, mantar hücre membranındaki ergosterole bağlanır ve osmotik dengeyi bozar. Hücre duvarında porlar oluşturup hücrenin geçirgenliğinin artmasına neden olur. Bunun sonucunda intrasellüler potasyum, magnezyum, şeker ve metabolitlerinin membrandan sızmasına ve hücre ölümüne neden olur (76,78). Amfoterisin B, memeli hücrelerin membranında bulunan kolesterolede daha az bir affinite ile bağlanır. Bu özellik amfoterisin B'nin insanlardaki toksisitesinden sorumludur. Lipozomal amfoterisin B de aynı mekanizmayla etki gösterir. Amfoterisin B'ye bağlı oksidatif hasar kandidaya karşı antifungal aktivitesine katkıda bulunur (30).

Amfoterisin B, geniş bir antifungal spektruma sahiptir. Birçok kandida türü, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* ve *Mucor* türleri ile *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* gibi mantarların tedavisinde kullanılabilir. Amfoterisin B, *Aspergillus terreus*, *Fusarium* türleri, *Pseudallescheria boydii*, *Scedosporium proliferans*, *Trichosporon* türleri ve bazı dermatofitlere etkili olmayabilir. Ayrıca *Candida guilliermondii*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae* ve *Candida rugosa*'ya azalmış duyarlılığı bilinmektedir.

Amfoterisin B, akciğer, dalak, böbrek gibi birçok organ ve dokuya geçebilir fakat beyin omurilik sıvısına geçişi zayıftır. Bu sebeple santral sinir sistemi infeksiyonlarında intratekal kullanılabilir. Amfoterisin B nefrotoksik bir ilaçtır. Bunun yanında ateş, miyalji, hipotansiyon, bronkospazm gibi yan etkiler oluşturabilir. Amfoterisin B'nin lipit formülasyonları nefrotoksisite ve diğer yan etkileri anlamlı bir şekilde azaltabilir. Fakat lipit formülasyonları konvansiyonel amfoterisin B kadar etkili olmadıkları gibi, fiyat olarak da daha pahalıdırlar (30,78).

### **5.8.1.2. Nistatin**

İlk bulunan polien grubu antifungal ilaçtır. Başlıca kandida cinsi mayaları etkiler. Ağız ve barsak kandidiyazın lokal tedavisinde kullanılır.

### **5.8.1.3. Piramisin**

Fungusid etkilidir. Dermatofitler dahil, mayalar ve mayamsı mantarlara etkili bir antifungal ajandır (77).

### **5.8.2. Azoller**

Azol grubu antifungal ajanlar fungostatik etkili olup, imidazol ve triazoller denen iki gruba ayrılır. İmidazol grubu azol halkasında 2 nitrojen molekülü içerirken, triazoller 3 nitrojen molekülü içerir. İmidazol grubu içerisinde sadece ketokonazol sistemik etkili iken, flukonazol, itrakonazol ve varikonazolu içeren triazol grubundakilerin tümü sistemik etki gösterir.

İmidazol ve triazoller sitokrom p-450 bağımlı enzim sistemine bağlanarak lanosterolün C-14 $\alpha$  demetilasyonunu inhibe eder. Bu enzim lanosterolü ergosterole dönüştürdüğü için, inhibisyonuyla ergosterol sentezi ve dolayısıyla fungal hücrelerdeki membran sentezi inhibe olur. Azol grubu ilaçlar, fungal hücre gelişimini engelleyerek (fungostatik) veya fungal hücreyi öldürerek (fungusidal) etki gösterirler (30, 76, 78).

Kandida türlerinde azol direnci, çeşitli mekanizmalarla gelişmektedir. Birincisi hedef enzimdeki modifikasyon sonucu, ilacın hedefe geçmesinin azalmasıyla olur. Burada hedef enzim olan lanosterol 14  $\alpha$ -demetilaz'ı kodlayan ERG11 genindeki nokta mutasyon hedefte değişikliğe yol açarak azollere afiniteyi azaltır. Bir diğer mekanizma sterol sentezi basamaklarında değişiklik sonucunda ergosterol yerine 14  $\alpha$ -metil fekosterol oluşumudur. Başka bir mekanizmada ise CDR1, PDR5 ve BEN genlerince kodlanan ilaç spesifik eflüks pompalarının artmış ekspresyonu sonucu ilacın atılımında artış olmasıdır. Hücre zarı lipitleri ve sterol yapısındaki değişiklikler sonucunda ilacın penetrasyonunda azalma olması bir diğer mekanizmayı oluşturur. Son mekanizma ise hedef enzimin kopya sayısındaki artış ile ergosterol sentezinde artış ve bunun sonucunda flukonazol ve itrakonazol arasında çarpaz direnç görülmesidir (30,79,80).

### 5.8.2.1. Ketokonazol

Ketokonazol, imidazol grubu antifungal ajanların lipofilik üyesidir. Sistemik mikoz, dermatofitoz ve kutanöz kandidiazis tedavisinde kullanılmak üzere oral ve topikal formları vardır (30,78). Dimorfik patojenlere, kandida türlerine, *C.neoformans* ve *Malassezia* türlerine triazol grubu antifungallerden daha az etki gösterirken, *Zygomycetes*, *Aspergillus* türleri ve *Fusarium* türlerine etki etmezler (30).

Hepatotoksik etkileri, endokrinolojik yan etkileri ve gastrik toksisitesinden dolayı sınırlı kullanım alanı bulunmaktadır ( 30,76,78).

### 5.8.2.2. Flukonazol

Flukonazol oral ve intravenöz formları bulunan, gastrointestinal sistemden emilimi iyi olan, düşük toksisiteli, birinci kuşak triazol türevi antifungaldir. Suda çözülebilir özelliğinden dolayı beyin omurilik sıvısına rahatça geçebilir (30).

Flukonazol kandida türleri, *C.neoformans*, dermatofitler, *Trichosporon* türleri, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* ve *Paracoccidioides brasiliensis* gibi mantar türlerine etkilidir (30,76,78). *C. krusei* ve *C. glabrata*'ya karşı azalmış duyarlılık gösterir (79).

Flukonazol kullanımına bağlı yan etki ve toksik reaksiyonlar nadirdir. Seyrek olarak allerjik reaksiyonlar, anjiyoödem, trombositopeni ve alopesi görülebilir (78).

Kandida türlerinin birçoğunda flukanazole primer direnç nadirdir. *C.krusei*'nin ise flukonazole karşı intrensek direnç geliştirdiği düşünülür (30).

### 5.8.2.3. İtrakonazol

İtrakonazol, lipofilik triazol grubundan olup kapsül veya solüsyon içinde oral ve intravenöz olarak kullanılır. Kandida türleri, *Criptococcus neoformans*, *Aspergillus* türleri, dermatofitler, *P.boydii*, *Sporothrix schenckii* ve endemik dimorfik patojen mantarları içine alan geniş bir antifungal aktiviteye sahiptir. Flukonazole dirençli *C.glabrata* ve *C. krusei* suşlarının bazılarında etkilidir. *Zygomycetesler*, *Fusarium* türleri itrakonazole dirençlidir (30,76).

İtrakonazol, lipofilik olduğundan dolayı beyin omurilik sıvısına geçişi zayıftır. Pürülan eksudalara ve yağ dokusuna yüksek konsantrasyonda geçer (30).

İtrakonazol kandidiyaz, aspergilloz, kromoblastomikoz, histoplazmoz, sporotrikoz, parakoksidiomikoz ve kriptokokkoz infeksiyonlarının tedavisinde kullanılır (76).

İtrakonazole bağlı yan etkiler flukonazolle benzerdir. Yüksek dozlarda hipokalemi, ödem ve hipertansiyon yapar. Hepatotoksik etkisi nadirdir (30, 76,78).

#### **5.8.2.4. Varikonazol**

Varikonazol; kandida türleri, *C.neoformans*, *Trichosporon* türleri, *Aspergillus* türleri, *Fusarium* türleri ve endemik dimorfik patojenlere etkili olan, geniş spektrumlu, triazol grubundan yeni bir antifungal ajandır. Amfoterisin B'ye dirençli olan *Aspergillus terreus* ve *P.boydii* türlerine etkilidir (30,78).

Varikonazol oral ve intravenöz kullanılabilir. Beyin omurilik sıvısına (BOS) ve diğer dokulara penetrasyonu iyidir. Maya mantarlarına fungostatik etki gösterirken, *Aspergillus* türlerine fungusidal etki gösterir (30).

Varikonazol, karaciğer enzim anormallikleri, deri reaksiyonları, halusinasyonlar veya konfüzyona neden olabilir. Hastaların üçte birinde geçici görme kaybı oluşabilir de, genelde iyi tolere edilebilen bir ajandır (30,78).

#### **5.8.3. Antimetabolitler**

##### **5.8.3.1. Flusitozin (5-florositozin, 5FC)**

Antimetabolitler içinde kullanılan tek antifungal ajandır. Antifungal aktivitesini, pirimidin metabolizmasını bozarak, fungal hücrelerdeki DNA, RNA ve protein sentezini engelleyerek gösterir. Flusitozin, sitozin permeaz enzimi sayesinde fungal hücre içerisine girer ve sitoplazmada 5-florourasile (5FU) deamine olur. 5FU'de 5-florodeoksiüridin'e dönüşür ve buda fungal DNA sentezini ve nükleer bölünmeyi sağlayan timidilat sentetazı inhibe eder (30,78).

Antifungal etki spektrumu kandida türleri, *C.neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi mantarlarla sınırlıdır. Bu mantar türleri için primer direnç nadirdir, ancak flusitozin monoterapisinden sonra gelişebilir (30,78).

Flusitozin'in suda çözünürlüğü iyi olduğundan oral biyoyararlanımı yüksektir. Yüksek dozlarda serum, BOS ve diğer vücut sıvılarına geçebilir. Serumdaki konsantrasyonu 100 µg/ ml'yi geçtiğinde kemik iliği supresyonu, hepatotoksisite ve

gastrointestinal intolerans görülür. Toksikiteyi önlemek için serum ilaç konsantrasyonunu takip etmek gerekmektedir (30).

Flusitazine sekonder direnç geliştiğinden monoterapide kullanılmaz. Kriptokok ve kandida infeksiyonlarında, amfoterisin B veya flukonazol'le kombine edildiğinde daha etkili tedavi sağlar (30,78).

Flusitazine iki türlü direnç bilinmektedir. Birincisi, ilacın hücre içine alınmasında görevli olan sitozin permeaz enziminin aktivitesinde azalma olmasıdır. İkinci mekanizma ise flusitazinin 5-florourasile dönüşümünü katalizleyen sitozin deaminaz enziminin aktivitesindeki azalmadır (30,79,80).

#### **5.8.4. Glukan sentez inhibitörleri**

Glukan sentez inhibitörleri,  $\beta$ -(1,3)-glukan sentetaz enzimini inhibe ederek, mantar hücre duvarında bulunan glukan sentezini bozar. Memeli hücre yapısında  $\beta$ -(1,3)-glukan olmadığından dolayı mantarlar için selektif bir ilaçtır. Akulasinler, ekinokandinler ve papulokandinler bu gruba ait ilaçlardır. Güvenirliği, etkisi ve tolere edilebilir özelliğinden dolayı günümüzde sadece ekinokandinler klinik uygulamalarda kullanılır (30,78).

Ekinokandinler yeni üretilen, oldukça selektif, semisentetik lipopeptid bir antifungaldir. Kullanımda olan üç tane ekinokandinin vardır. Bunlar; kaspofungin(MK-0991), anidulafungin (VER- 002), mikafungin'dir. Bunlar içerisinde lisans alan tek ilaç kaspofungindir. Kaspofungin invaziv kandidiazis ve aspergilloz tedavisinde kullanılırken, diğerleri kandida türlerine karşı fungusidal aktivite gösterir. Sadece IV kullanılırlar (30, 78,80).

#### **5.8.5. Allilaminler**

Allilaminler "squalen epoksidaz" enzimini inhibe ederek ergosterol sentezini azaltırlar. Bu grupta sistemik oral ve topikal kullanılan terbinafin ve sadece topikal kullanılan naftilin yer alır. Özellikle terbinafinin etki spektrumu geniştir. Dermatofitler, *Malassezia furfur*, *S.schenckii*, *Aspergillus* ve kandida türlerinin tedavisinde etkilidir (30, 78).

### **5.8.6. Griseofulvin**

Griseofulvin dermatofit infeksiyonlarında kullanılan oral bir antifungaldir. Mantar hücrelerinin mikrotübüler proteinlerine bağlanıp mitozu baskılayarak etki gösterir. İlacın bulantı, baş ağrısı, diyare, hepatotoksisite, döküntü ve nörolojik belirtiler gibi yan etkileri vardır (30,77,78).

### **5.8.7. Yeni antifungal ajanlar**

Günümüzde birçok antifungal ajan araştırma aşamasındadır. Bunlar nistatinin lipozomal formu, yeni triazol grubu ajanlar (posakonazol, ravukonazol), ekinokandinler (anidulafungin, mikafungin), kitin sentez inhibitörü (nikomisin Z) ve sordarin ve azasordarin deriveleridir. Yeni ilaç geliştirilmesi çalışmalarında bu ilaçların daha az toksik olmasına, ilaç-ilaç etkileşiminin olmamasına ve belirli patojenlere karşı daha etkin olmalarına dikkat edilir (30, 78).

## **5.9. Antifungal Duyarlılık Testleri**

İn-vitro duyarlılık testleri; iki veya daha fazla antifungal ajanın aktivitelerinin ölçümü, invivo aktiviteleri ile korelasyonu ve tedavinin sonucunun tespit edilmesi, normal duyarlı organizmalarda direnci tespit edebilmesi ve yeni geliştirilmekte olan ajanların terapötik potansiyellerini tahmin etmek amacıyla yapılır (13, 30, 81)

Mantarlar için standart antifungal duyarlılık testlerinin geliştirilmesi için ilk çalışmalar 1982 yılında “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS) tarafından kurulan bir alt komite aracılığıyla başlatıldı (13,30).

Antifungal duyarlılık testi için kullanılan birçok yöntem vardır (Tablo 9). Fakat bu yöntemlerin; inokulum büyüklüğü, besiyeri içeriği, pH'sı ve şekli, MIC saptama yöntemi, mantara ait özellikler, ilaçlara ait özellikler ve invivo uyum gibi değişkenler nedeniyle standardize edilmesi gerekmektedir (82).

**Tablo 9.** Antifungal duyarlılık testleri

Yöntemler	MIK değerlerinin ölçülmesi
Buyyon makrodilüsyon	Görsel (1/5 kontrol üreme bulanıklığı ile karşılaştırma), ATP fotometre, bulanıklığı ölçme (turbidimetre), kolorimetre, radyometre, kuru ağırlık
Buyyon mikrodilüsyon	Görsel (kontrol üreme bulanıklığı ile karşılaştırma), ATP fotometre, bulanıklığı ölçme (turbidimetre), kolorimetre, kuru ağırlık
Kolorimetrik buyyon mikrodilüsyon	Renk değişiminin görsel gözlenmesi
Agar dilüsyon	Görsel
Agar dilüsyon	Görsel
Disk	Görsel (zon çapı ölçümü)
E- test	Görsel (inhibisyon zonu)

### **5.9.1. Mayalar için antifungal duyarlılık testleri**

Mayaların antifungal duyarlılık testleri için birçok yöntem geliştirilmesine rağmen laboratuvarlar tarafından en fazla tercih edilen yöntemin buyyon (sıvı) makrodilüsyon yöntemi olduğu saptanarak, bu testin standardizasyonuna karar verildi. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar incelenerek, 1992 yılında referans standart yöntem açıklandı (M27-P). Sonrasında birçok antifungal ilaç için kalite kontrol suşları belirlendi ve referans buyyon makrodilüsyon yöntemini temel alan buyyon mikrodilüsyon yöntemi geliştirildi. 1995 yılında bu konudaki bilgiler M27-T belgesi ile açıklandı ve 1996 yılında önerilen değişiklikleri içeren M27-A belgesi hazırlandı (81,82).

#### **5.9.1.1. Buyyon makrodilüsyon testi**

Buyyon makrodilüsyon testleri, mantar izolatlarına karşı tüm antifungal ajanları test etmek için yeterli bir yöntemdir. Örnek sayıları az olan küçük laboratuvarlar için

uygundur. Bu yöntem yalnızca kandida türleri, *Candida glabrata* ve *Cryptococcus neoformans* için standardize edilmiştir. Dimorfik mantarların maya şekillerine ve filamantöz (küf) mantarlarına uygulanmamıştır.

Testin uygulanmasında önce ilaç stok solüsyonları hazırlanır. Stok solüsyonları hazırlanırken ilacın özelliğine göre su, dimetil sulfoksit (DMSO), dimetil formamit (DMF), etil alkol, polietilen glikol ve karboksimetilselüloz kullanılabilir. Steril stok solüsyonları, steril tüpler içerisinde küçük miktarlarda -20 °C ile -60 °C arasında 3-6 ay saklanabilir. Bu yöntem için kullanılacak besiyeri; glutamin ve pH indikatörü içeren, bikarbonatsız RPMI 1640 sentetik besiyeridir. Bu besiyeri, 0,165 M MOPS (3-N- morfolinopropan sulfonik asit) ile pH 7'ye ayarlanır. Bu besiyeri içerisinde hazırlanan maya inokulumunun 1/2000 sulandırılması yapılır. Hazırlanan maya inokulumu, test besiyeri ile 1/10 oranında sulandırılan antifungal ilaçların bulunduğu tüplere bırakılır ve tüpler karıştırılır. 35 °C'de 46-50 saatlik inkübasyondan sonra görsel olarak değerlendirilir (81-84).

#### **5.9.1.2. Buyyon mikrodilüsyon testi**

Buyyon mikrodilüsyon testi, M27-A belgesine göre antifungal duyarlılık testleri içerisinde çok sık kullanılan test olmuştur. Prosedür olarak buyyon makrodilüsyon yöntemine benzer ve test sonuçları arasında uyum görülür. Birçok mikoloji laboratuvarlarında, yapılması daha kolay, daha az zaman alıcı, daha ucuz ve 24 saatte sonuç alınabilmesi gibi özellikleri nedeni ile makrodilüsyon testine tercih edilmektedir (81-84).

#### **5.9.2. Filamantöz mantarların (küflerin) antifungal duyarlılık testleri**

Filamantöz mantarların antifungal duyarlılık testlerini standardize etmek için buyyon makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemleri NCCLS'in M24-P ve M24-T belgelerine uygun bir şekilde yapılmaktadır (82).

#### **5.9.3. Antifungal duyarlılık saptamada kullanılan diğer yöntemler**

##### **5.9.3.1. Agar difüzyon testi**

Azollerin değişik çözünlükleri ve polietilen bileşiklerinin stabilitelerinin kaybı bu testin uygulanmasını sınırlamaktadır. British Society for Mycopathology'nin (BSM) özel bir çalışma grubu *C.albicans* için 1µg flusitozin diskleri standardize ederek bu yönteme adapte edebilmişlerdir (82).

### **5.9.3.2. Agar dilüsyon testi**

Agar dilüsyon testi, hem mayalar hem küfler için uygulanabilse de, mayalardan ziyade küfler için uygun bir yöntem olarak önerilmektedir. Flusitozin ve imidazollerin bu test ile verdikleri sonuçlar yüksek oranda inokulum büyüklüğüne, inkübasyon zamanına ve testte kullanılan besiyerine bağlıdır. Bu test *C.albicans* suşlarında imidazollere direnci göstermeyebilir (82).

### **5.9.4. Referans yöntemlerde yapılan değişikliklerle geliştirilen yeni yöntemler**

#### **5.9.4.1. E test**

E test ticari olarak uygulanabilen antifungal duyarlılık testidir. Plastik stripler üzerine çeşitli konsantrasyonlarda emdirilen antifungal ilaçların agarlı besiyerine geçişi ile gerçekleştirilen ve MİK değerini saptayabilen bir difüzyon yöntemidir. *C.albicans* ve diğer bazı kandida türlerinin flusitozin ve özellikle azollerle yaygın inhibisyon son noktası vermesi, MİK son noktasının belirlenmesini zorlaştırmaktadır. 1996 yılında yapılan çalışmalarda E testinin MİK değerleri, referans makrodilüsyon MİK değerleri ile amfoterisin B, itrakonazol, flukonazol ve flusitozin için %86 ile %100 oranında uyumlu bulunmuştur. Ketokonazolde uyum daha düşük oranlardadır (81,82,84).

#### **5.9.4.2. Kolorimetrik MİK testleri**

Mikrodilüsyon yöntemini esas alan, ancak MİK okunması için kolaylık ve daha objektif bir sonuç elde edebilmek amacıyla ortama bir oksidasyon- redüksiyon indikatörü ilave edilen yöntemlerdir. RPMI 1640 sıvı ortamına kolorimetrik indikatör katılır ve geri kalan basamaklar ise mikrodilüsyon yöntemine benzer bir şekilde yapılır. Oksidasyon- redüksiyon indikatörü olarak birçok araştırmacı ticari Alamar mavisini kullanmıştır. Başlangıçta mavi olan bu madde mantarın üremesi ile kırmızı renge dönüşmektedir. MİK

değeri kırmızı rengin oluşmasını önleyen en düşük ilaç konsantrasyonudur. İndikatör olarak tetrazolyum tuzları ve sodyum resazurin’de kullanılabilir. Kolorimetrik MIK testleri üremenin görsel değerlendirildiği yöntemlere göre daha üstündür (81,82,84).

#### **5.9.5. Ticari olarak geliştirilen antifungal duyarlılık sistemleri**

Günümüzde antifungal duyarlılık testlerinin hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılmasını amaçlayan, kullanıma hazır ticari sistem ve kitler geliştirilmektedir. Bu testler; Candifast (International Microbio/Stago Group, İtalya), Integral Systems Yeasts (Liofilchem Diag, İtalya), Fungitest (Bio-Rad SDP, Fransa), ATB Fungus ( bioMerieux, Fransa), Mycostandard (Institut Pasteur, Fransa), Mycototal (Behring Diagnostic, Fransa) gibi testlerdir (82,84).

Mycototal, Mycostandard, ATB Fungus, Candifast mikrodilüsyon yöntemini esas alan ticari sistemlerdir. Aralarında kullanılan besiyerleri ve denenen antifungal ilaçlar yönünden farklar vardır. Bu ticari sistemler sınırlı ilaç konsantrasyonlarına sahiptirler. Bu sistemlerden sadece ATB Fungus, Mycostandard ve Mycototal, M27-A metoduna uygun şekilde tasarlanmıştır (82,84,85).

## **6. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **6.1. Gereç:**

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden Ocak 2007 - Aralık 2007 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen, değişik klinik örneklerden izole edilen kandida suşları bu çalışmanın gerecini oluşturdu.

### **6.2. Yöntem:**

#### **6.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler**

Bu çalışmada otoklav, inkübatör, pastör fırını, ışık mikroskobu, hassas terazi, buzdolabı, -80 °C' lik derin dondurucu, cam petri kutuları, cam tüpler, cam erlenler, lam, lamel, Mc Farland cihazı, enjektör, öze, pipet ve vortex gibi araç ve gereçler kullanılmıştır.

#### **6.2.2. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar**

Sabouraud dekstroz agar (Merck, Almanya), BBL CHROMagar (Becton-Dickinson, ABD), mısır unu tween 80 agar, API 20C AUX (bioMeriux, Fransa) maya identifikasyon sistemi, ATB FUNGUS 2 INT (bioMeriux, Fransa) antifungal duyarlılık sistemi, NaCl %0.85 Suspension Medium (bioMeriux, Fransa), metilen mavisi, distile su, insan serumu.

#### **6.2.3. Maya Türlerinin Tanımlanması**

Maya üremesi saptanan hasta örneklerinden SDA'a pasaj yapıldıktan sonra petripler 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilerek saf kültür elde edildi. İzole edilen maya türlerinin tanımlanması amacıyla koloni görünümü ve yapısı, germ tüp testi, mısır unu tween 80 agardaki morfolojik görünümü ve BBL CHROMagar'daki görünümü değerlendirildi. Daha sonra hızlı identifikasyonu sağlayan API 20C AUX ticari sistemi kullanıldı.

### 6.2.3.1. Germ tüp testi

SDA'da üremiş olan maya kolonilerinden  ze ile alınarak, 0,5 ml insan serumu içeren tüplerde süspanse edildi. 37  C'de 2,5- 3 saat inkübe edilen örnekler, lam lamel arasında ışık mikroskobunda 40   büyütmede incelendi. İncelemede ana hücreden orjin alan ve başlangıç noktasında boğumlanma veya daralma yapmaksızın ve uzunluğu boyunca belirgin kabarıklık olmayan filament Şeklinde uzantılar gösteren yapılar germ tüp olarak değerlendirildi. Germ tüp üreten suşlar *Candida albicans* olarak tanımlandı.

### 6.2.3.2. Morfolojik  zelliklerinin incelenmesi

Kandida türlerinin morfolojik özellikleri, hif veya pseudohif oluşturup oluŐturmadıkları, mısır unu-tween 80 (Merck) agar ortamındaki görünümlerine göre değerlendirildi. Bu amaçla saf kültürlerden  ze ile alınarak veya 1 damla API Suspension Medium'dan bu besiyerine damlatılarak ekimler yapıldı. Ekim çizgilerinin üzeri steril lamellerle kapatılarak besiyerleri 24- 26  C' de 48-72 saat inkübe edildi. Daha sonra besiyeri ışık mikroskobunda 10  ve 40  büyütmelerinde incelenerek klamidospore, yalancı hif, blastokonidya ve artrokonidya varlığı araŐtırıldı.

### 6.2.3.3. BBL CHROMagar

BBL CHROMagar (Becton-Dickinson, ABD), kandida türlerinin izolasyonu, filamant z mantarlar ve mayaların muhtemel identifikasyonu için kullanılan selektif bir besiyeridir. Bu besiyeri *C.albicans*, *C.kruzei*, *C. tropicalis*'in ayırımında kullanılır.

SDA'da üremiş olan kandida kolonileri BBL CHROMagar'a pasajlandı. Besiyerindeki kromojenik maddeler sayesinde her kandida türü için değişik renkler oluşturan bu sistemde *C. albicans* açık yeŐil, *C. tropicalis* ise koyu mavi veya metalik mavi renk oluŐturmasıyla tanındı.

### 6.2.3.4. API 20 C AUX ( Maya tanımlama sistemi)

Germ tüp testi ve mısır unu-tween 80 besiyerindeki morfolojik yapılarının incelenmesi ile beraber, kandida suşlarının hızlı tanımlanması için API 20C AUX (bioMerieux, Fransa) ticari kiti kullanıldı.

Bu sistem 19 karbonhidrat asimilasyon testinin performansını gösteren ve dehidrate substratlar içeren 20 kuyucuktan oluşmaktadır. İlk kuyucuk negatif kontrol kuyucuğu olup diğerleri karbonhidrat testleri içerir. Test edilen karbonhidratlar: D-glukoz, gliserol, kalsiyum 2-keto-glukonat, L-arabinoz, D-ksiloz, adonitol, ksilitol, D-galaktoz, inozitol, D-sorbitol, metil- $\alpha$  d-glukopiranozid, N-asetil-glukozamin, D-selobiyoz, D-laktoz, D-maltoz, D-sakaroz (sukroz), D-trehaloz, D-melezitoz ve D-rafinozdur. Mayalar inoküle edildikleri mikro kuyucuktaki karbonhidratı karbon kaynağı olarak kullanıyorsa o kuyucukta üreme olmakta ve bu şekilde karbonhidrat asimilasyon yeteneklerine bakılarak 48- 72 saat sonra değerlendirilmektedir.

Testin uygulanması:

1) Stripin hazırlanması: İnkübasyon kabının içindeki kuyucuklar, nemli ortam sağlamak için, 5 ml distile su ile dolduruldu ve strip paketi açılarak kabın içine yerleştirildi.

2) İnokülasyon: SDA'daki 24 saatlik kandida kolonilerinden steril bir öze ile alınarak 2 ml'lik API Suspension Medium (% 0.85 NaCl) tüpü içinde karıştırıldı ve yoğunluğu 2 McFarland'a ayarlandı. Bu süspansiyondan 100  $\mu$ l alınarak kit içeriğinde hazır bulunan API C Medium içine aktarıldı. Steril bir pipet kullanılarak, API C Medium'daki süspansiyondan strip içindeki kuyucuklara dolacak fakat taşmayacak şekilde dağıtıldı ve inkübasyon kabının kapağı kapatıldı. 30 °C'de 24-72 saat inkübasyona bırakıldı.

3) Stripin okunması: İnkübasyondan 48 veya 72 saat sonra (özellikle glukoz kuyucuğu olmak üzere kuyucuklardaki bulanıklık belirgin değilse) negatif kuyucuğa göre diğer kuyucuklar karşılaştırıldı. Kontrolde daha bulanık olan kuyucuklar pozitif reaksiyonu gösterdi. Mısır unu-tween 80 agardaki morfolojik görünümüne göre hif veya pseudohif saptanması pozitif kabul edildi.

4) Değerlendirme: Test prosedürüne göre değerlendirme için "APIWEB" tanımlama yazılımı kullanıldı. Bilgisayar klavyesi üzerinden + ve - değerler girilerek sonuçlar değerlendirildi.

#### **6.2.3.5. Antifungal Duyarlılık Testi (ATB FUNGUS 2 INT)**

ATB FUNGUS 2 INT (bioMeriux, Fransa) sistemiyle kandida türleri ve *Cryptococcus neoformans* gibi mayaların antifungal duyarlılık testleri yapılmaktadır. Bu

test sistemi, içerisinde antibiyotiklerin bulunduğu yarı katı besiyerlerinden oluşur. EUCAST ve CLSI önerilerindeki referans mikrodilüsyon metodlarına benzer bir testtir.

ATB FUNGUS 2 INT test stripleri 16 çift kuyucuktan oluşur. Birinci çift kuyucuk kontrol kuyucuğudur ve herhangi bir antifungal ajan içermez. Diğer 15 çift kuyucuk, MIC değerlerini belirleyebilmek için değişik konsantrasyonlarda 4 antifungal ajan (5 flusitozin, amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazol) içermektedir.

Değişik oranlarda antifungal ajanlar içeren kuyucuklardan 5-flusitozin için 8, amfoterisin B için 6, flukonazol için 10 ve itrakonazol için 6 kuyucuk ayrılmıştır. Testte antifungaller için belirlenen MIC değer aralıkları sırasıyla; flusitozin için 0.5-64, amfoterisin B için 0.5-16, flukonazol için 0.25-128 ve itrakonazol için ise 0.125-4 mg/l'dir.

Testin uygulanması:

- 1) Stripin hazırlanması: Test stripleri paketlerinden çıkarıldı.
- 2) İnokülasyon: SDA'daki 24 saatlik (4 günden fazla olmayacak şekilde) kandida kolonilerinden steril bir öze ile alındı, 2 ml'lik API Suspension Medium (% 0.85 NaCl ) tüpü içinde karıştırıldı ve yoğunluğu 2 McFarland'a ayarlandı. Bu süspansiyondan 20 µl kit içeriğinde hazır bulunan ATB F2 Medium'a aktarıldı ve köpürmeyecek şekilde pipetle homojenize edildi. Buradan her bir kuyucuğa pipetle 135 µl aktarıldı ve stripin üzerine kapağı kapatıldı. 35 °C'de 24- 48 saat aerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı.
- 3) Stripin okunması: Kontrol kuyucuklarındaki üreme kontrol edildi. Kuyucuklardaki üremeyi daha kolay görebilmek için stripin altına siyah renk bir kağıt bırakıldı. Kontrol kuyucuklarındaki üremeye göre diğer kuyucuklardaki üremeler görsel olarak değerlendirildi ve kuyucuklardaki üremeler yüksekten düşüğe göre skorlanarak, 4-3-2-1-0 gibi değerler verildi (Tablo 10).

**Tablo 10.** ATB FUNGUS 2 INT sisteminde skora

Tanım	Skor
Normal üreme	4
Üremede düşük bir azalma var	3
Üremedeki azalma daha belirgin	2
Çok az bir üreme var	1
Üreme yok	0

Bu skorlamaya göre 5- flusitozin, flukonazol ve itrakonazol için üremenin en düşük olduğu (skor:“2”, “1”veya “0”) kuyucuğa denk gelen MİK değeri, amfoterisin B de ise üremenin tamamen inhibe olduğu (skor: “0”) kuyucuğa denk gelen MİK değeri dikkate alındı. Böylece çalışılan kandida türlerinin antifungallere karşı MİK değerleri belirlendi. Sonuçlar CLSI (NCCLS)’in belirlediği MİK değerleri doğrultusunda duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) şeklinde verildi (Tablo 11). Amfoterisin B için MİK aralığı belirlenmezken  $MİK \geq 2$  mg/l değerler dirençli kabul edildi.

Tablo 11. *Candida* türleri için CLSI/ NCCLS’in belirlediği sınır MİK değerleri (mg/l)

Antifungal	Duyarlı (S)	Orta Duyarlı (I)	Dirençli (R)
<b>Flusitozin</b>	$\leq 4$	8- 16	$\geq 32$
<b>Amfoterisin B</b>	Belirsiz	Belirsiz	Belirsiz
<b>Flukonazol</b>	$\leq 8$	16- 32	$\geq 64$
<b>İtrakonazol</b>	$\leq 0.125$	0.25- 0.5	$\geq 1$

## 7. BULGULAR

### 7.1. İdentifikasyon sonuçları

Bu çalışma, Ocak 2007 ve Aralık 2007 tarihleri arasında, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Bu süre içerisinde toplam 75 maya suşu izole edildi. Bu suşların 51'i idrar, 15'i trakeal, 5'i kateter, ve 4'ü kan olan örneklerden elde edildi. İzole edilen maya suşlarının klinik örneklere göre dağılımı Tablo 12'de gösterilmektedir.

Klinik örneklerden izole edilen maya suşları arasında en sık saptanan tür *C.albicans* oldu. Tablo 13'de görüldüğü gibi *C.albicans*'dan sonra en sık izole edilen tür *C.parapsilosis*'di. Kandida türlerinin klinik örneklere göre dağılımları ise Tablo 14'de gösterilmektedir.

### 7.2. Antifungal duyarlılık sonuçları

Çalışmada yer alan 75 izolataın 5-flusitozin, amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazole karşı MIC değerleri Tablo 15'de, bu antifungallere karşı saptanan direnç oranları ise Tablo 16'da verilmiştir.

**Tablo 12.** İzole edilen maya suşlarının klinik örneklere göre dağılımı

Klinik örnek türü	İzolat sayısı	Oran (%)
İdrar	51	68.0
Trakeal aspirat	15	20.0
Kan	4	5.4
Kateter	5	6.6

**Tablo 13.** Klinik örneklerden izole edilen maya mantarlarının dağılımı

Maya türleri	İzolat sayısı	Oran (%)
<i>C.albicans</i>	41	54.6
<i>C.parapsilosis</i>	9	12.0
<i>C.tropicalis</i>	8	10.6
<i>C.glabrata</i>	7	9.3
<i>Trichosporon spp.</i>	4	5.3
<i>C.famata</i>	3	4.0
<i>C.utilis</i>	1	1.4
<i>C.kefyr</i>	1	1.4
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1	1.4

**Tablo 14.** İzole edilen maya türlerinin klinik örneklere göre dağılımı

Etken	idrar	trakea	kan	kateter	toplam		
					n	%	
<i>C.albicans</i>	28	6	3	4	41	54.6	
<i>C.parapsilosis</i>	6	3	-	-	9	12.0	
<i>C.tropicalis</i>	4	3	1	-	8	10.6	
<i>C.glabrata</i>	7	-	-	-	7	9.3	
<i>Trichosporon spp.</i>	3	1	-	-	4	5.3	
<i>C.famata</i>	1	1	-	1	3	4.0	
<i>C.utilis</i>	1	-	-	-	1	1.4	
<i>C.kefyr</i>	-	1	-	-	1	1.4	
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1	-	-	-	1	1.4	
Toplam	n	51	15	4	5	75	
	%	68	20	5.4	6.6		100

**Tablo 15.** Çalışmaya alınan maya türlerinde antifungal ilaçlar için MIC değerlerinin dağılımı

İzolatlar (n)	Antifungal ilaçlar	MIC değerleri (mg/l)																	
		≥128	128	≥64	64	32	≥16	16	8	≥4	4	2	1	0.5	≤0.5	0.25	≤0.25	0.125	≤0.125
<i>C. albicans</i> (41)	Flusitozin										1		2		38				
	Amfoterisin B														41				
	Flukonazol	2	1						2				2	7		1	25		1
	İtrakonazol	33								7	1								
<i>C. parapsilosis</i> (9)	Flusitozin												1		8				
	Amfoterisin B														9				
	Flukonazol	1	1									1	5	1					
	İtrakonazol									2							1		6
<i>C. tropicalis</i> (8)	Flusitozin												1		7				
	Amfoterisin B														8				
	Flukonazol	4							2				1			1			
	İtrakonazol									6							1		1
<i>C. glabrata</i> (7)	5 flusitozin														7				
	Amfoterisin B														7				
	Flukonazol											3	3	1					
	İtrakonazol														3				4
<i>Trichosporon</i> <i>spp.</i> (4)	Flusitozin								1						3				
	Amfoterisin B														4				
	Flukonazol					1								2		1			
	İtrakonazol									2								1	1

**Tablo 15.** Çalışmaya alınan maya türlerinde antifungal ilaçlar için MIC değerlerinin dağılımı (devam)

İzolatlar (n)	Antifungal ilaçlar	MIC değerleri (mg/l)																	
		≥128	128	≥64	64	32	≥16	16	8	≥4	4	2	1	0.5	≤0.5	0.25	≤0.25	0.125	≤0.125
<i>C.famata</i> (3)	Flusitozin														3				
	Amfoterisin B														3				
	Flukonazol	1			1											1			
	İtrakonazol									2									1
<i>C.utilis</i> (1)	Flusitozin														1				
	Amfoterisin B														1				
	Flukonazol											1							
	İtrakonazol											1							
<i>C.kefyr</i> (1)	Flusitozin														1				
	Amfoterisin B														1				
	Flukonazol															1			
	İtrakonazol																		1
<i>Rhodotorula glutinis</i> (1)	Flusitozin														1				
	Amfoterisin B														1				
	Flukonazol								1										
	İtrakonazol										1								

**Tablo 16.** Kandida türlerinin direnç dağılımı

<b>Kandida türü (n)</b>	<b>Antifungal</b>	<b>Duyarlı</b>	<b>Orta Duyarlı</b>	<b>Dirençli sayı (%)</b>
<i>C.albicans</i> (41)	Flusitozin	41		
	Flukonazol	38		3 (7.3)
	İtrakonazol	33		8 (19.5)
<i>C.parapsilosis</i> (9)	Flusitozin	9		
	Flukonazol	7		2 (22.2)
	İtrakonazol	6	1	2 (22.2)
<i>C.tropicalis</i> (8)	Flusitozin	8		
	Flukonazol	4		4 (50)
	İtrakonazol	1	1	6 (70)
<i>C. glabrata</i> (7)	Flusitozin	7		
	Flukonazol	7		
	İtrakonazol	4	3	
<i>Trichosporon spp.</i> (4)	Flusitozin	3	1	
	Flukonazol	3	1	
	İtrakonazol	2		2 (50)
<i>C.famata</i> (3)	Flusitozin	3		
	Flukonazol	1		2 (66.6)
	İtrakonazol	1	2	
<i>C.utilis</i> (1)	Flusitozin	1		
	Flukonazol	1		
	İtrakonazol			1 (100)
<i>C.kefyr</i> (1)	Flusitozin	1		
	Flukonazol	1		
	İtrakonazol	1		
<i>Rhodotorula glutinis</i> (1)	Flusitozin	1		
	Flukonazol	1		
	İtrakonazol			1 (100)

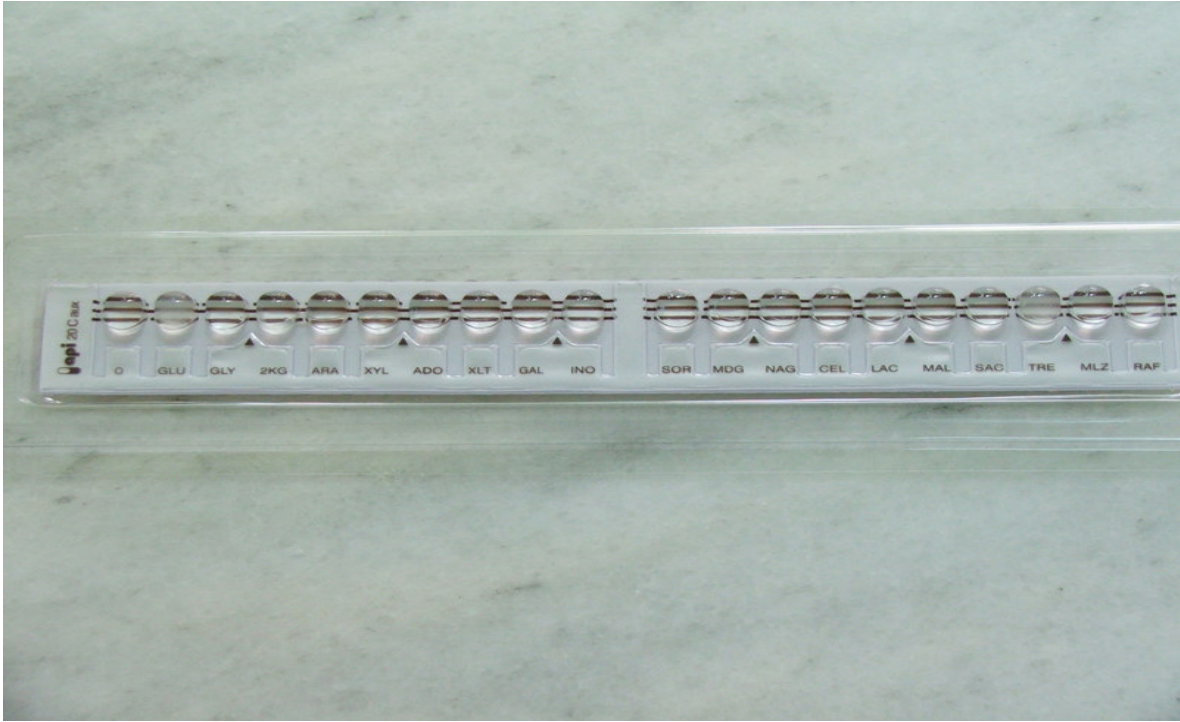
n: izole edilen toplam suş sayısı



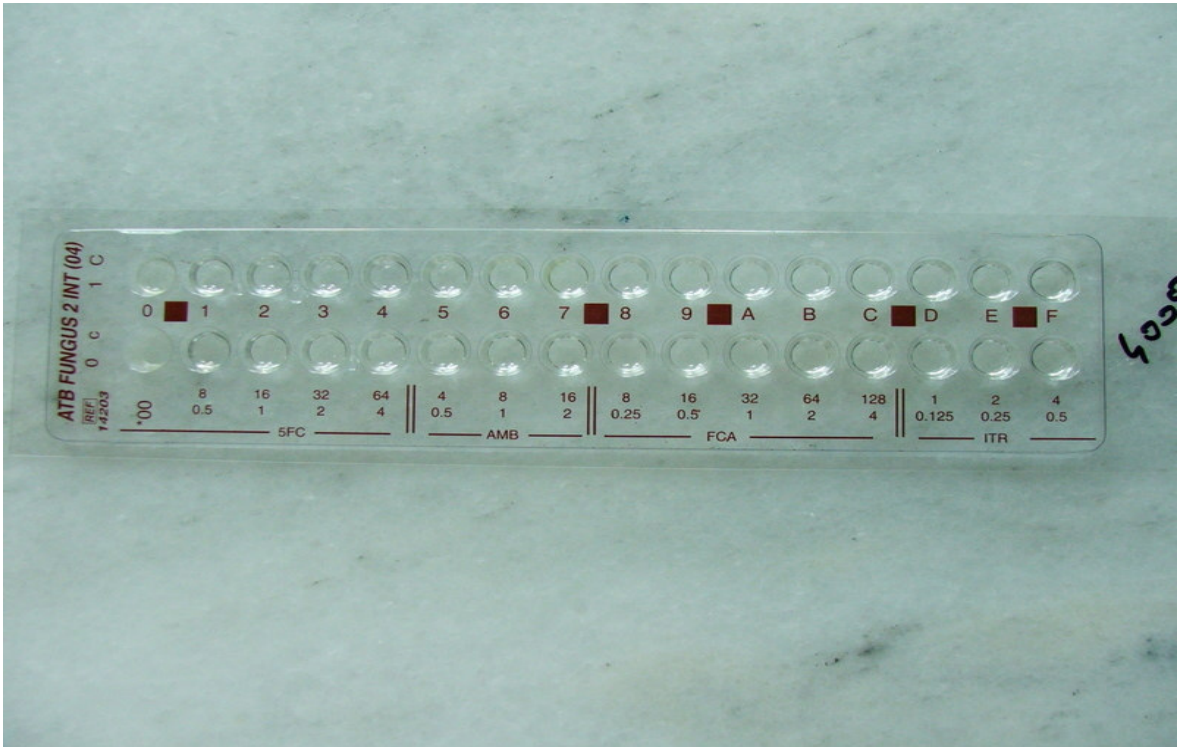
**Resim 1.** *C.albicans* kültürü



**Resim 2.** *C.albicans*'ın BBL CHROMagar'daki görünümü



**Resim 3.** API 20C AUX (maya identifikasyon) test stripi



**Resim 4.** ATB FUNGUS 2 INT (antifungal duyarlılık) test stripi

## 8. TARTIŞMA

Yaşadığımız ortamda yaygın olarak bulunan mantar türleri canlıların gastrointestinal sistem ve deri florasında bulunmakta ve uygun koşullarda patojenik özellik kazanarak infeksiyonlara yol açabilmektedirler.

YBÜ’de yatan hastalarda mantar infeksiyonlarının daha fazla görülmesi, mantarlarla gelişen hastane infeksiyonlarında mortalitenin daha yüksek olması ve antifungal ilaçların terapotik ve toksik sınırlarının yakın olması gibi nedenler, bu hasta örneklerinden izole edilen maya mantarlarında antifungal duyarlılık testlerinin çalışılmasını gerektirmektedir (8,15,86). Bazı mantar türlerinde intrinsek direnç bulunması, tedavide kullanılacak olan ilacın seçimi için tür tanımlamasının önemini bir kez daha vurgulamaktadır (84).

Mantar infeksiyonları, YBÜ’de görülen infeksiyonlar içerisinde önemli bir yer oluşturmakla beraber, görülme sıklığı giderek artmaktadır. 2000- 2005 yılları arasında Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği’nde yapılan bir çalışmada yıllara göre infeksiyon etkenleri incelenmiş ve bu etkenler içerisinde mantar infeksiyonlarının görülme sıklığının %4’ten %16’ya yükseldiği belirlenmiştir. Değişik merkezlerin YBÜ’de yapılan birçok çalışmada ise bu oranlar; %7.7 ile %19.3 arasında değişmektedir (87- 91). Bu hızlı yükseliş mantar infeksiyonlarının YBÜ’deki önemini bir kez daha göstermektedir.

Son yıllarda kandida türlerinin neden oldukları infeksiyonlarda artış olmakla birlikte, bu infeksiyonlara neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlamıştır. Endojen kaynaklı olması nedeniyle, hala nozokomiyal fungal infeksiyonlarda ilk sırayı *C.albicans* almakla birlikte, antifungal tedaviye daha zor yanıt verdiği bilinen *C.tropicalis*, *C.lusitaniae*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.glabrata* gibi, non- *albicans* türlerle karşılaşma oranı hızla artmaktadır (2,7,88).

Zer ve ark., YBÜ’den gelen %54’ü idrar, %11’i kan ve %28’i trakeal aspirat olan örneklerden izole ettikleri kandida suşlarıyla yaptıkları çalışmada tür dağılımını; %56.09 *C.albicans*, %11.21 *C.tropicalis*, %10.24 *C.parapsilosis*, %5.83 *C.glabrata*, %4.39 *C.kefyr*, %3.41 *C.lusitaniae*, %2.92 *C.famata*, %2.92 *C.krusei* ve %2.92 *C.guilliermondii* olarak belirlemişlerdir(89). YBÜ’den gönderilen, %58’ini idrar, %7’sini kan, %15’ini solunum örneklerinin oluşturduğu kültürlerden izole edilen 320 maya suşunu inceleyen bir çalışmada tür dağılımını; %65.6 *C.albicans*, %11.3 *C.parapsilosis*, %8.8 *C.glabrata*, %7.8 *C.tropicalis* olarak bulunmuştur (92). Başka bir çalışmada tür dağılımını; %53.3 *C.albicans*, %14.5 *C.tropicalis*, %12.2 *C.glabrata*, %6.5 *C.parapsilosis*, %4.5 *Trichosporon* türleri,

%3.9 *C.kefyr* ve %1.6 *C.krusei* olarak saptanmıştır. Bu çalışmaya alınan 490 izolatin %62'sini idrar, %14'ünü kan ve %9'unu trakeal aspirat örnekleri oluşturmuştur (93). Kocazeybek ve ark., yaptıkları başka bir çalışmada ise YBÜ'den gönderilen %22'si idrar, %30'u kan ve %27'si trakeal aspirat örneklerinden oluşan kültürlerden izole edilen kandida türleri; %64 *C.albicans*, %21 *C.krusei*, %11 *Torulopsis glabrata* ve %5 *C.parapsilosis* olarak saptanmıştır (90).

Yakın bir zamanda yapılan ARTEMIS Global Antifungal Sürveyans çalışmasında, 1997 ve 2003 tarihleri arasında *C.albicans* görülme sıklığında %11 gibi bir düşüş olmasına rağmen, en sık karşılaşılan kandida türü olarak belirlenmiştir (%66.2). Aynı çalışmada, *C.tropicalis* ve *C.parapsilosis* görülme sıklığı sırasıyla %2.9 ve %3.1 oranında artmıştır. *C.albicans*'dan sonra en sık görülen türler *C.glabrata* (%10.2), *C.tropicalis* (%6.3) ve *C.parapsilosis* (%5.6) olmuştur (94).

Pfaller ve ark. 1997 yılında Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Güney Amerika'yı kapsayan 34 merkezde yaptıkları araştırmada saptadıkları 306 kandidemi etkeninin %53.3'ünün *C.albicans*, %46.7'sinin non-albicans kandida türleri olduğunu ve bunlar arasında en sık *C.parapsilosis* izole edildiğini belirlemişlerdir. Aynı araştırmada non-albicans kandida türlerinin sıklığı; Amerika Birleşik Devletleri'nde %43.8'i non-albicans kandida ve en sık *C.glabrata*, Kanada'da %47.5'i non-albicans kandida ve en sık *C.parapsilosis*, Güney Amerika'da %59.5'i non-albicans kandida ve en sık *C.parapsilosis* şeklinde belirlenmiştir (7).

Kanada'da iki yıl boyunca yürütülen çok merkezli bir sürveyans çalışmasında, hastane infeksiyonu olduğu bilinen olgulara ait çoğunluğunu kan ve steril vücut sıvılarının oluşturduğu klinik örneklerden izole edilen kandida türleri sıklık sırasına göre %54 *C.albicans*, %15 *C.glabrata*, %12 *C.parapsilosis*, %9 *C.tropicalis*, %3 *C.lusitaniae*, %3 *C.krusei* ve %3 diğer kandida türleri şeklinde bir dağılım göstermiştir (95).

Abi-Said ve ark., 1988- 1992 yıllarında Texas'daki bir kanser merkezinde hematogen kandidoz etkeni mayaların değerlendirilmesinde birinci sırada *C.albicans*'ı, daha sonra ise sırasıyla; *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.lusitaniae*, *C.guilliermondii* türlerini izole ederek, *C.albicans* ve *C.tropicalis* suşlarının yıllar içinde relatif azaldığını, *C.krusei* ve *C.glabrata* suşlarının ise arttığını belirlemişlerdir (96). YBÜ'deki hastaların idrar örneklerinin oluşturduğu kültürlerden üretilen kandida suşlarıyla yapılan başka bir çalışmada, birinci sırada *C.albicans* (%69.1), ikinci sırada ise *C.glabrata* (%7.4) yer almıştır (97).

Antimikrobiyal direnç ile ilgili son gelişmeleri izleme amacıyla oluşturulmuş bir program olan SENTRY antimikrobiyal sürveyans programı çerçevesinde 1997- 1998 yılları arasında Kuzey Amerika ve Latin Amerika  lkelerinde bulunan hastanelerdeki kandidemili olgulardan izole edilen kandida türleri araştırılmıştır. Toplam 634 kandidemi olgusunun %54.3'ünde *C.albicans*, %16.4'ünde *C.glabrata*, %14.9'unda *C.parapsilosis*, %8.2'sinde *C.tropicalis*, %1.6'sında *C.krusei* ve %4.6'sında diğer kandida türlerinin izole edilmiştir. *C.albicans*'ın ABD'de görülme oranında hafif bir düşüş izlenirken, Kanada ve Latin Amerika'da ise artış saptanmıştır (98).

Yurtiçi ve yurtdışında yapılan literatürlere bakıldığında, çoğunluğunu idrar, kan ve solunum örneklerinin oluşturduğu kültürlerden izole edilen kandida türleri içinde *C.albicans*'ın en yüksek oranda saptanan tür olduğu dikkat çekmiştir. Non-albicans türlerin sıklık sıralaması ise çalışmanın yapıldığı yıla ve coğrafik lokalizasyonuna göre değişiklik göstermekle beraber ikinci sıklıkta saptanan türler *C.parapsilosis*, *C.glabrata* ve *C.tropicalis* arasında değişiklik göstermektedir (7,88-92,95-99 ).

Bizim yaptığımız çalışmada da, *C.albicans* (%54.6 ) en fazla oranda izole edilen tür oldu. *C.parapsilosis* (%12) ise ikinci sırada yer aldı. Bu durum ilgili literatürlerle uyumlu bulunurken, bu sıralama; *C.tropicalis*( %10.6), *C.glabrata* (%9.3), *Trichosporon spp.* (%5.3), *C.famata* (%4), *C.utilis* (%1.4), *C.kefry* (%1.4) ve *Rhodotorula glutinis* (%1.4) şeklinde devam etti (7,92,99). Çalışmaya alınan örneklerin %68'i idrar, %20'si trakeal aspirat, %5.4'  kan ve %6.6'sı kateter örneklerinden oluşurken, en fazla mantar üremesi görülen örnek türü olan idrardan en sık izole edilen tür *C.albicans* (%54.9) olarak belirlendi.

Fungal patojenlerin giderek artan problem oluşturmaları ve dirençli suşların görülmeye başlaması in vitro duyarlılık testlerine ilginin ve gereksinimin artmasına neden olmuştur. In-vitro antifungal duyarlılık testleri; antibakteriyel duyarlılık testleri ile karşılaştırıldığında, standardizasyonu henüz tamamlanmamış ve klinik önemi tam olarak bilinmeyen testlerdir (14,100). Mikoloji laboratuvarında yaptığımız bu çalışmada flusitozin, amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazolün in vitro antifungal duyarlılıklarını test ettik. Mikrodilüsyon için referans metodlarla benzer bir yöntem olan ( EUCAST ve CLSI/NCCLS  nerileri doğrultusunda) ATB FUNGUS 2 INT agar mikrodilüsyon sistemini kullandık. Bu sistem kullanılarak yapılan duyarlılık testlerinin basit, objektif, doğru ve referans MIK değerleri ile uyumlu olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte, CLSI metoduna alternatif olabileceği de belirtilmektedir (101-103). Bu nedenle biz de

referans metodların önerileri doğrultusunda antifungallerin sınır MIK değerlerini belirleyerek, direnç durumlarını tespit ettik.

### **8.1. Flusitozin direnci**

Bu ilaç, pirimidin metabolizmasını bozarak, fungal hücrelerdeki DNA, RNA ve protein sentezini engelleyerek antifungal etkinlik gösterir. Flusitozin'e bağlı primer direnç non-albicans türlerinde görülmekle beraber sekonder direnç daha fazladır. Sekonder direnç flusitozin monoterapisi alan hastalarda sık görülür. Kriptokok ve kandida infeksiyonlarında, amfoterisin B veya flukonazolle kombine edildiğinde daha etkili tedavi sağlar (30, 78). NCCLS'in flusitozin için belirlediği direnç sınırı  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ 'dir (14).

Adiloğlu ve ark. API ATB FUNGUS sistemi ile yaptıkları bir çalışmada flusitozin direncini %2.6 oranında bulurken, Kaya ve ark. 45 tane kandida suşunda yaptıkları çalışmada flusitozin direncine rastlamamışlardır (104,105). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen kandida suşlarıyla yapılan başka bir çalışmada, *C.albicans*'a karşı flusitozin direnci saptanmazken, tüm türlerde toplam direnç % 1.1 bulunmuştur (106).Yenişehirli ve ark. YBÜ'den gelen kan örneklerinden ürettikleri 68 *C.albicans* suşunda flusitozin direncine rastlamamışlardır (107). 2004 yılında Almanya'da yapılan bir çalışmada flusitozin'e %4.5 oranında direnç görülürken, İtalya'daki bir çalışmaya göre bu oran %4.2 olarak bulunmuştur (108,109).

Bizim yaptığımız çalışmada ise 75 tane maya suşunun biri flusitozin'e orta duyarlı bulunurken, diğer suşların hiçbirinde flusitozin direncine (%0) rastlanmadı ve flusitozin MIK değerleri  $\leq 0.5- 8 \text{ mg/l}$  arasında bulundu. Flusitozin'e orta duyarlı bulunan maya türü ise *Trichosporon spp.* idi ve MIK değeri 8 mg/l olarak belirlendi. Kandida suşlarında bulduğumuz flusitozin direnç oranı ülkemizde yapılan bazı çalışmalarla uyumlu olduğu görüldü (105,107). Flusitozin'in etki spektrumunun dar olması, hepatotoksisite ve kemik iliği depresyonu gibi yan etkilerinden dolayı kullanımının kısıtlanması gibi sebeplerle direnç oranının düşük kalabileceği düşünüldü.

### **8. 2. Amfoterisin B direnci**

Amfoterisin B polien bir antifungal ajandır. Dirençli ve duyarlı olduğu MIK değerlerinin tam olarak belirlenememesi ve bu aralığın çok dar olması, in vitro duyarlılık çalışmalarını kısıtlamaktadır. Amfoterisin B'ye karşı direnç oldukça nadirdir (84, 108).

Adiloğlu ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada, amfoterisin B'ye %2.6 oranında direnç saptanmıştır (104). 208 kandida suşuyla yapılan bir çalışmada amfoterisin B direncine rastlanmamıştır (110). Değişik klinik örneklerden izole edilen mayaları içeren başka bir çalışmada ise yine amfoterisin B direncine rastlanmamıştır (106).

Brezilya, İşpanya ve Litvanya'da yapılan çalışmalarda amfoterisin B'ye direnç saptanmamıştır (111- 113). Davey ve ark., 180 maya izolatu ile yapmış oldukları çalışmada MIK değerini 0.12- 2 µg/ml arasında bularak, amfoterisin B direncine rastlamamışlardır (114).

Bizim yaptığımız çalışmada ise amfoterisin B MIK değeri ≤ 0. 5 g/l bulundu ve 75 izolatu hiçbirinde amfoterisin B direncine rastlanmadı. Bu sonuç daha önce yapılmış olan birçok çalışma ile uyumlu bulundu ( 106, 111, 112, 114 ).

### 8.3. Flukonazol direnci

Flukonazol, gastrointestinal sistemden iyi emilebilen, toksik etkisi az olan birinci kuşak triazol turevi bir ajandır (30, 78). Sistemik ve yuzeyel mikozların tedavisinde kullanılır. Flukonazolün profilaksi ve tedavi amacıyla yaygın kullanımı ve yanlış endikasyonlarda uygun olmayan dozlarda kullanılması sonucu kandida turlerinde bu ilaca karşı direnç gelişimi çeşitli araştırmalarda klinik bir sorun olarak ortaya konmuştur (84, 115).

Ülkemizde, Kuzucu ve ark., YBÜ'nde NCCLS'in referans metodunu kullanarak yaptıkları bir çalışmada, tüm kandida izolatlarında %14 oranında flukonazol direncine rastlanmıştır (116). Başka bir çalışmada ocuk hastalardan izole edilen kandida turlerinde flukonazol direnci %23 bulunmuştur (117). Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden gelen örneklerden ureyen mayalarla yapılan bir çalışmada da flukonazol direnci %7.4 oranında saptanmıştır (118).

Pfaller ve ark. ABD'de, 1997 NCCLS referans metodunu kullanarak yapmış oldukları çalışmada, *C.albicans* izolatlarında flukonazol direncini %10 olarak saptamışlardır. Yine bu çalışmada Kuzeybatı ve Güneydoğu bölgelerinden gelen izolatlarda flukonazol direnci sırasıyla; %13.3 ve %15.5 iken, Kuzeydoğu ve Güneybatı'dan gelenlerde %2.9 bulunmuştur. Bu direnç farklılığında coğrafi farklılıkların etkili olabileceği düşünölmüştür (115). ATB FUNGUS 2 agar mikrodilüsyon testi ile Litvanya'da yapılan bir çalışmaya göre, *C.albicans* ve non-albicans turlerdeki flukonazol direnç durumu; %15.1 ve %4.1 bulunmuştur (113).

Bizim yaptığımız çalışmada 75 tane maya izolatinin %14.6'sında flukonazol direncine rastlandı. *C.albicans*'da %7.3'lük direnç oranına karşın, non-albicans türlerde bu oran %23.5 olarak bulundu. Bir tane maya izolatu ise orta duyarlı saptandı. Tespit ettiğimiz direnç oranları bazı literatürlerle uyumlu bulundu (115, 116). Flukonazol gibi azol grubu ilaçların profilaktik tedavide sık kullanılmaları, bunların diğer antifungal ajanlara göre daha yüksek oranda direnç geliştirmelerinin nedeni olabileceğini düşündürdü.

#### 8.4. İtrakonazol direnci

İtrakonazol, ergosterol sentez inhibisyonu ile etki gösteren triazol türevi antifungal ajandır. Geniş spektrumludur ve kandida infeksiyonlarında yaygın kullanım alanına sahiptir. Diğer azol türevi ilaçlar gibi yaygın kullanılması, bu antifungale karşı primer ve sekonder direnç gelişimine sebep olmaktadır (76). NCCLS' in itrakonazol için belirlediği direnç sınırı  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ ' dir (14).

Ülkemizde Kuzucu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada tüm kandida izolatlarında %31 oranında itrakonazol direncine rastlanmıştır (116).

2006 yılında yapılan bir çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C.albicans* ve non-albicans türlerine karşı itrakonazol direnci sırasıyla %24.7 ve %20.4 bulunmuştur (113). Almanya'da yapılan başka bir çalışmada, 561 kandida suşunun %17.6'sında itrakonazol direncine rastlanmıştır (106). ABD'nin Kuzeybatı ve Güneydoğu bölgelerinde yapılan 1995 yılındaki bir çalışmada itrakonazol direnci sırasıyla %17.2 ve %20 bulunmuştur (115).

Bizim yaptığımız çalışmada, 75 maya izolatinin 20'sinde (%26.6) itrakonazol direncine rastlandı. Direnç oranlarını *C.albicans* ve non-albicans türlerinde sırasıyla, %19.5 ve %35.2 olarak saptandı. Toplam 75 suşun 48'i (%64) itrakonazole duyarlı, 7'si ise (%9.3) orta duyarlı bulundu. İtrakonazolün direnç oranındaki bu yüksekliğin ise son zamanlarda profiltik kullanımının artmasına bağlı olabileceğini düşünöldü.

Sonuç olarak; son yıllarda, bir yandan kanser, steroidler, kemoterapi veya AIDS sebebiyle immün sistemi baskılanmış konak sayısı artarken, diğer yandan mantar infeksiyonu sayısının da arttığı, patojen mantarların tiplerinin ve direnç paternlerinin değıştiğı; yoğun bakım gibi yüksek risk altındaki hastaların bulunduğı birimlerde kandida türlerinin önemli patojenler olarak yüksek oranda mortaliteye sahip oldukları dikkati çekmektedir. Bunlar içerisinde *C. albicans* en yüksek oranda görölen etken olmakla beraber, non-albicans türlerinde de artış görölmektedir.

Antifungal ilaçların profilaktik kullanımının artması ile birlikte dirençli maya suşlarının sayısında gittikçe artmakta ve invitro antifungal duyarlılık testlerinin önemi anlaşılmaktadır. Ancak antifungal duyarlılık testlerinde laboratuvarlar arası farklılık göstermeyen standart bir yöntemin oluşum süreci devam etmektedir.

Çalışmada alınan sonuçlar, hastanemiz Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'ndeki hasta örneklerinden izole edilen mayaların tür tayinini ve antifungal direnç profillerini göstermektedir. Bölge hastanesi şeklinde hizmet veren hastanemizdeki hastalardan elde edilen bu veriler bir yönüyle bölgemiz sonuçları olarak da değerlendirilebilir. Bu açıdan bakıldığında elde edilen bu veriler ayrı bir önem taşımaktadır. Kandida infeksiyonlarında kullanılan antifungallere karşı direnç oranları; etkenin türüne, antifungal ilaçların kullanım sıklığına ve bölgesel coğrafik farklılıkları gibi sebeplere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Direnç oranlarının bilinmesi infeksiyonda ilk tercih edilecek antifungal ilaç seçiminide kolaylaştıracaktır. Antifungal duyarlılık testi için kullandığımız ATB FUNGUS 2 INT agar mikrodilüsyon sistemi ise referans metodlarla benzer bir sistem olup, rutin kullanım için uygun ve kolaydır.

Bizim saptadığımız sonuçlara genel olarak bakıldığında; tüm dünyada ve ülkemizde olduğu gibi maya infeksiyonlarında ilk sırayı *C. albicans* olarak, bölgemizde en yaygın görülen tür olmuştur. Tedavide kullanılacak antifungaller içerisinde amfoterisin B ve flusitozine karşı direnç saptanmazken, flukonazole %14.6, itrakonazole ise %26.6 oranında direnç tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre sistemik mantar infeksiyonlarında amfoterisin B ve flusitozin iyi seçenekler olarak görüneler de yan etkilerinin fazla olması kontrollü kullanımlarını gerektirmektedir. Flukonazol ve itrakonazole gibi antifungal ajanlara karşı gittikçe artan direnç oranları nedeniyle de, antifungal duyarlılık testlerinin tedavi planlamasında önemi bir kez daha vurgulanmıştır.

## 9. SONUÇLAR

Bu çalışma ile hastane infeksiyon etkenleri içerisinde gittikçe artan mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olan mayaların bölgemizdeki durumları araştırılmış, tür tayini ve antifungal duyarlılık testleri yapılmıştır.

Çalışma, Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'ndeki hasta örneklerinden izole edilen 75 maya suşu ile yapılmıştır. Maya suşları; germ tüp testi, mısır unu tween 80 ve BBL CHROMagar besiyerleri, API 20C AUX maya identifikasyon sistemi kullanılarak tiplendirilmiştir. Antifungal duyarlılık testleri ise ATB FUNGUS 2 INT agar mikrodilüsyon sistemi kullanılarak yapılmıştır.

Çalışmaya alınan 75 maya suşunun 41'i (%54.6) *C.albicans* olarak bulunmuştur. *C.albicans* en sık izole edilen tür olurken bunu sırayla; *C.parapsilosis* (%12), *C.tropicalis* (10.6), *C.glabrata* (%9.3), *Trichosporon* spp. (%5.3), *C.famata* (%4), *C.utilis* (%1.4), *C.kefry* (%1.4) ve *Rhodotorula glutinis* (%1.4) izlemiştir. Antifungal duyarlılık testlerinde ise amfoterisin B ve flusitazine direnç görülmezken, flukonazole %14.6, itrakonazole ise %26.6 oranında direnç saptanmıştır.

Sonuç olarak, başta kandida türleri olmak üzere maya mantarlarının kontrolü için tür tayini ve antifungal duyarlılık test sonuçlarının bilinmesi önemlidir. Bu çalışmada antifungal ajanlara karşı gittikçe artan direnç oranları nedeniyle, tedavi planlamasında duyarlılık testlerinin önemi bir kez daha vurgulanmıştır. Bu sonuçlar, bölgemizde antifungal duyarlılık testlerini yapamayan sağlık kurumlarındaki klinisyenlerin ampirik tedavi düzenlemeleri için de yol gösterici olacaktır.

## 10. KAYNAKLAR

1. Anaissie E: Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review, Clin Infect Dis; 14 (Suppl 1): 43- 53, 1992.
2. Fridkin SK, Jarvis WR: Epidemiology of nosocomial fungal infections, Clin Microbiol Rev; 9: 499–511, 1996.
3. Dixon DM, Rhodes JC, Fromtling RA: Taxonomy, classification and morphology of the fungi, In “Manual of Clinical Microbiology”, Ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, 8<sup>th</sup> Ed, 1653- 1659, DC, ASM Press, Washington, 2003.
4. İnci R, Hilmioğlu Süleyha: Nozokomiyal fungal infeksiyonlara yaklaşım, Klimik Derg;13: 28- 31, 2000.
5. İnci R: Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflanması, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1015- 1023, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
6. Tümbay E: *Candida* türleri, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1081- 1086, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
7. Phaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, 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, J Clin Microbiol; 36 (7): 1886-1889, 1998.
8. Weinstein RA: Nosocomial infection update, Emerg Infect Dis;4: 416- 420, 1998.
9. Kartal ED, Çolak H, Usluer G, Akşit F, Nayman S ve ark: Bazı riskli kliniklerde son bir yıl içerisinde saptanan hastane infeksiyonları, I. Hastane İnfeksiyonlar Kongre Kitabı; 88, Ankara, 2002.
10. Ener B: Hastane infeksiyonu etkeni olarak mantarlar, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1123- 1127, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
11. Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA: Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit, Infect Dis Clin North Am; 11: 479- 496, 1997.
12. Hoşoğlu S: Yoğun bakım ortamında yeni ve yeniden önem kazanan mikroorganizmalar: Yeni ve yeniden sorun olan mantarlar, Yoğun Bakım Derg; 2 (Ek 1):50- 54, 2002.
13. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Woods GL and Procop GW: Mycology, In “Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic

Microbiology”, Ed. Koneman EW, 6<sup>th</sup> Ed, 1151- 1244, Lippincott Williams and Wilkins Publishers, USA, 2006.

14. Espinel-Ingroff A, White T, Pfaller MA: Antifungal Agents and Susceptibility Test Methods, In “Manual of Clinical Microbiology”, Ed. Murray PR, Baron EJO, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH, 8<sup>th</sup> Ed, 1859- 1880, DC, ASM Pres, Washington, 2003.

15. Graybill JR: Overview of management of fungal infections, Clin Infect Dis; 17 ( Suppl 2): 513- 514, 1993.

16. Rinaldi MG: Laboratory evaluation of antifungal agents: A brief overview. Clin Infect Dis; 14 ( Suppl 1): 130- 133, 1999.

17. Phaller MA, Rex JH, Rinaldi MG: Antifungal susceptibility testing: Technical advances and potential clinical applications, Clin Infect Dis; 24: 776- 784, 1997.

18. Edwards JE: *Candida* species, In:“Principles and Practice of Infectious Diseases”, Ed. Mandell GL, Benett JE, Dolin R, 5<sup>th</sup> Ed, 2656- 2674, Churchill Livingstone, Pennsylvania, 2000.

19. Yücel A: *Candida*’ların dünü, *Candida* mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı; 3- 28, Eskişehir, 2002.

20. Levinson W, Jawetz Ernest: Temel mikoloji, Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmunoloji; 343- 345, Güneş Kitabevi, Ankara, 2004.

21. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM: Medical mycology, In: “Zinsser Microbiology”, 20<sup>th</sup> Ed, Appleton and Lange; 1071- 1157, 1992.

22. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M: Mikolojiye giriş, Mikrobiyoloji 2000, Tünger A, 358- 363, Asya Tıp Yayıncılık, İzmir, 1998.

23. Mitchell T: Medical mycology, In: “Medical Microbiology”, Ed. Brooks GF, Butel JS, Morse SA, 21<sup>th</sup> Ed, Appleton and Lange; 583- 616, 1998.

24. Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M: Intruductory Mycology. 4<sup>th</sup>Ed, John Wiley and Sons. Inc, New York, 1996.

25. Yuluğ N: Mantar infeksiyonlarına genel bakış, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş, 1022- 1024, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.

26. Hazen KC, Howell SA: *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeast of medical importance, In “Manual of Clinical Microbiology”, Ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, 8<sup>th</sup> Ed, 1693- 1712, DC, ASM pres, Washington, 2003.

27. Koç AN: Tıbbi bakımdan önemi olan *Candida* türlerinin mikolojik özellikleri, *Candida* mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı; 36- 46, Eskişehir, 2002.

28. Yücel A, Kantarcıoğlu AS: *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler, Cerrahpaşa J Med;30 (3), 236- 246, 1999.
29. Erbakan N: Derinin Mantar Hastalıkları; 1- 90, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, 1989.
30. Murray PR, Rosenthal KS, Phaller M: Mycology, In“Medical Microbiology”, 5<sup>th</sup> Ed, 709- 817, Elsevier Mosby, Philadelphia, 2005.
31. Rodriguez- Todela JL, Martinez- Suarez JV: Improved medium for fluconazole susceptibility testing of *Candida albicans*, Antimicrobiol Agents and Chemother; 38: 45-48, 1994.
32. Hoepfich PD, Rinaldi MG: Candidiasis, In “ Infectious Diseases ”, Ed. Hoepfich PD, Jordan MC, Ronald AR; 498- 508, JB Lippincott Company, Philadelphia, 1994.
33. Goodway GW: Cell membrane, In “The Growing Fungus”, Ed. Neil AR, Geoffrey MG; 443- 462, Chapman and Hall, London, 1995.
34. Kiraz N: Klinik örneklerden izole elden *Candida albicans* suşlarının fenotiplendirilmesi ve farklı fenotiplerin bazı antifungal maddelere duyarlılıklarının araştırılması, Yan dal uzmanlık tezi, İstanbul, 1996.
35. Çerikcioğlu N: Candida'ların ince yapısı, *Candida* mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı; 47- 55, Eskişehir, 2002.
36. Herrera JR, Elorza MV, Valentin E, Sentandreu R: Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity, FEMS; 1- 16, 2005.
37. Yücel A, Kantarcıoğlu AS: Candida'ların patojenlik belirgenleri, Cerrahpaşa J Med, Cerrahpaşa J Med; 31 (3), 172- 186, 2000.
38. Vartarian SE: Virulence properties and nonimmune pathogenetic mechanisms of fungi, Clin Infect Dis; 14 (Suppl 1), 30- 36, 1992.
39. İnci R: Candida infeksiyonlarının patogeneğinde konağın rolü, *Candida* mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı; 71- 85, Eskişehir, 2002.
40. Hostetter MK: Adhesins and ligands involved in the interaction of *Candida* spp. with epithelial and endothelial surfaces, Clin Microbiol Rev; 7: 29- 42, 1994.
41. Kojic EM, Darouiche RO: Candida Infections of Medical Devices, Clin. Microbiol. Rev, April 1; 17(2): 255 – 267, 2004.
42. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL: Candida biofilms: an update, Eukaryot Cell; April 1, 4(4). 633- 638, 2005.

43. Nikawa H, Nishimura H, Hamada T, Yamashiro H, Samaranayake LP: Effects of modified pellicles on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces, *Mycoses*; 42: 37-40, 1999.
44. Howard DH: Acquisition, transport and storage of iron by pathojenik fungi, *Clin Microbiol Rev*; 12: 394- 404, 1999.
45. Hube B, Naglik J: *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family, *Microbiology*; 147: 1997- 2005, 2001.
46. Zepelin MB, Meyer I, Thomssen R, Würzner R, Sanglard D, Telenti A: HIV-Protease inhibitors reduce cell adherence of *Candida albicans* strains by inhibition of yeast secreted aspartic proteases, *J Invest Dermatol*; 113: 747- 751, 1999.
47. De Bernardis F, Chiani P, Ciccozzi M, Pellegrini G, Ceddia T et al: Elevated aspartic proteinase secretion and experimental pathogenicity of *Candida albicans* isolates from oral cavities of subjects infected with Human Immunodeficiency Virus, *Infect Immun*;64: 466- 471, 1996.
48. Kaminishi H, Miyaguchi H, Tamaki T, Suenaga N, Hisamatsu M et al: Degradation of humoral host defense by *Candida albicans* proteinase, *Infect Immun*; 63: 984- 988, 1995.
49. Ghannoum MA: Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis, *Clin Microbiol Rev*; 13: 122- 143, 2000.
50. Martinez JP, Gill ML, Lopez- Ribot JL, Chaffin WJ: Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*, *Clin Microbiol Rev*; 11: 121- 141, 1998.
51. Kanbe T, Han Y, Redgrave B, Reisselman MH, Cutler JE: Evidence that mannans of *Candida albicans* are responsible for adherence of yeast forms to spleen and lymph node tissue, *Infect Immun*; 61: 2578- 2584, 1993.
52. Yeaman MR, Soldan SS, Ghannoum MA, Edwards JE, Filler SG: Resistance to platelet microbicidal protein results in increased severity of experimental *Candida albicans* endocarditis, *Infect Immun*; 64: 1379- 1384, 1996.
53. Ellepola NB, Morrison CJ: Laboratory diagnosis of invasive candidiasis, *J Microbiol*; 43: 65- 84, 2005.
54. Hilmioğlu S: *Candida* infeksiyonlarının laboratuvar tanısı, *Candida mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı*; 125- 131, Eskişehir, 2002.
55. Yücesoy M, Marol S: Performance of CHROMAGAR candida and BİGGY agar for identification of yeast species, *Annals Clin Microbiol and Antimicrobial*, 2003

56. Nakamoto S: Germ tube formation of *Candida albicans* in Cornmeal broth using the non-slip slide glass incubation method, *Yonago Acta Medica*; 41: 65- 72, 1998.
57. Wickerham LJ, Burton KA: Carbon asimilation tests for the classification of yeasts, *J Bacteriol*; 56(3): 363- 371, 1948.
58. Verweij PE, Breuker IM, Rijs AJMM, Meis JFGM: Comperative study of seven commercial yeast identification systems, *J Clin Pathol*; 52: 271- 273, 1999.
59. Campbell CK, Davey KG, Holmes AD, Szekely A, Warnock DW: Comparison of the API Candida system with the AUXACOLOR system for identification of commen yeast pathogens, *Clin Microbiol*; 37 (3): 821- 823, 1999.
60. Bar W, Hecker H: Diagnosis of systemic Candida infections in patients of the intensive care unit. Significance of serum antijens and antibodies, *Mycoses*; 45: 22- 28, 2002.
61. Çerikcioğlu N: Mantar infeksiyonlarında seroloji ve deri tesleri, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ustaçelebi Ş, 1145- 1151, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
62. Eisen DP, Bartley PB, Hope W, Sigmundsdottir G, Pehrson C, Larsson L, Christensson B: Urine D- arabinitol/ L- arabinitol ratio in diagnosing Candida infection in patients with haematological malignancy and HIV infection, *Diagn Microbiol Infect Dis*; 42(1): 39- 42, 2002.
63. Saraçlı MA: Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısında moleküler ve genetik tanı yöntemleri, *Candida mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı*; 133- 143, Eskişehir, 2002.
64. Soll DR: The ins and outs of DNA fingerprinting the infectious fungi, *Clin Microbiol Rev*; 13(2): 332- 370, 2000.
65. Merz WG, Roberts GD: Algorithms for detection and identification of fungi, In “Manual of Clinical Microbiology”, Ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, 8<sup>th</sup> Ed, 1668- 1686, DC, ASM pres, Washington, 2003.
66. Yeğenoğlu Y: Candida infeksiyonlarının epidemiyolojisi, *Candida mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı*; 55- 64, Eskişehir, 2002.
67. Coleman DC, Sullivan DJ, Bennett DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB: Candidiasis: the emerge of a novel species, *Candida dubliniensis*, *AIDS*; 11(5): 557- 567, 1997.
68. Phaller MA: Epidemiology of candidiasis, *J Hosp Infect*; 30 Suppl: 329- 338, 1995.

69. Mahayni R, Vazquez JA, Zervos MJ: Nosocomial candidiasis: epidemiology and drug resistance, *Infect Agents Dis*; 4(4): 248- 253, 1995.
70. Singh N: Changing spectrum of invasive candidiasis and its therapeutic implications, *Clin Microbiol Infect*; 7 Suppl 2: 1- 7, 2001.
71. Ener B: Nadir görülen fırsatçı mikozlar, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ustaçelebi Ş, 1105- 1108, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
72. Sugita T, Nishikawa A, Shinoda T: Identification of *Trichosporon asahii* by PCR based on sequences of the internal transcribed spacer regions, *J Clin Microbiol*; 36(9): 2742- 2744, 1998.
73. Meunier F, Aoun M, Bitar N: Candidemia in immunocompromised patients, *Clin Infect Dis*; 14 Suppl 1: 120- 125, 1992.
74. Tümbay E: *Cryptococcus neoformans*, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ustaçelebi Ş, 1087- 1090, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
75. Kiraz N: Antifungal tedavide yenilikler, *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Derg*; 1(2), 2003.
76. İnci R: Antifungal ilaçlar, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ustaçelebi Ş, 1115- 1158, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
77. Saniç A: Antifungal ilaçlar, *İnfeksiyon* 2001: 233- 236.
78. Arıkan S, Rex JH: Antifungal agents, In “*Manual of Clinical Microbiology*”, Ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH, 8<sup>th</sup> Ed, 1858- 1868, DC, ASM pres, Washington, 2003.
79. White TC, Marr KA, Bowden RA: Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance, *Clin Microbiol Rev*; 1(2): 382- 402, 1998.
80. Ghannoum MA, Rice LB: Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance, *Clin Microbiol Rev*; 12(4): 501- 517, 1999.
81. Espinel- Ingroff A, Pfaller MA: Susceptibility test methods: Yeast and filamentous fungi, In “*Manual of Clinical Microbiology*”, Ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH, 8<sup>th</sup> Ed, 1880- 1893, DC, ASM pres, Washington, 2003.
82. Kuştimur S: Antifungal duyarlılık testleri, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ustaçelebi Ş, 1159- 1165, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
83. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast, Approved Standard- Second

edition, M27-A2, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania, 2002.

84. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel- Ingroff A: Antifungal susceptibility testing: Practical aspects and current challenges, *Clin Microbiol Rev*; 14 (4): 643- 658, 2001.

85. Druetta A, Freydiere A, Guinet R, Gille Y: Evaluation of five commercial antifungal susceptibility testing systems, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 12: 336- 342, 1993.

86. Rex JH, Pfaller MA, Rinaldi MG, Polak A, Galgiani JN: Antifungal susceptibility testing, *Clin Microbiol Rev*; 6(4): 367- 381, 1993.

87. Avcı M, Özgenç O, Coşkuner A, Mermut G, Arı A: Yoğun bakım ünitesinde hastane enfeksiyonu etkenleri ve en sık soyutlanan mikroorganizmalarda yıllara göre değişen antibiyotik direnç profili, *Ankem Derg*; 21 (3): 179- 183, 2007.

88. Doğruman Al F, Aktaş AE, Tuncel E, Ayyıldız A, Uslu H, Aktaş O: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Mikrobiyoloji laboratuvarında klinik örneklerden izole edilen maya türleri, *İnfeksi Derg*;16: 205- 210, 2002.

89. Zer Y, Balcı I, Meriç G: Identification and antifungal susceptibility of *Candida* isolated from intensive care unit patients, *New Microbiol*; 25 (4): 489- 94, 2002.

90. Kocazeybek B, Ordu A, Ayyıldız A, Aslan M, Bayındır O, Sönmez B: Yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen mayalar, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*; 30: 38- 40, 2000.

91. Bayram A, Balcı İ: Patterns of antimicrobial resistance in a surgical intensive care unit of a university hospital in Turkey, *BMC Infec Dis*; (6):155, 2006.

92. Cömert F, Kulah C, Aktaş E, Eroğlu Ö, Özlü N: Identification of *Candida* species isolated from patients in intensive care unit and invitro susceptibility to fluconazole for a 3- year period, *Mycoses*;50: 52- 57, 2006.

93. Ergon MC, Yücesoy M: Evaluation of species distribution of yeasts isolated from intensive care units during the four years period, *Microbiyol Bul*; 39: 309- 318, 2005.

94. Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG: Results from the ARTEMİS DİSK Global Antifungal Surveillance Study: a 6,5 year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing, *J Clin Microbiol*;43: 5848- 5859, 2005.

95. St- Germain G, Laverdie M, Pelletier R, Bourgault M, Libman M, Lemieux C, Noel G: Prevalence and antifungal susceptibility of 442 *Candida* isolates from blood and

other normally sterile sites: Results of a 2- year (1996 to 1998 ) multicenter surveillance study in Quebec, Canada, J Clin Microbiol; 39 (3): 949- 953, 2001.

96. Abi- Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S: The epidemiology of hematogenous Candidiasis caused by different Candida species, Clin Infect Dis; 24: 11, 1122- 1128, 1997.

97. Passos XS, Sales WS, Maciel PJ, Costa CR, Miranda KC, Lemos JA, Batista MA, Silva MRR: *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine, Mem Inst Oswaldo Cruz; 100 (8): 925- 928, Rio de Janeiro, 2005.

98. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Messr SA, Houston A, Coffman S, Hollis RJ: Bloodstream infections due to Candida species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997- 1998, Antimicrob Agents Chemother; 44 (3): 747- 751, 2000.

99. Yıldırım ŞT: Nozokomiyal fungal infeksiyonlar, [www.gata.edu.tr/kitap/3](http://www.gata.edu.tr/kitap/3)

100. Yücel A: Tıp mikolojisinin dünü ve bugünü, Cerrahpaşa J Med; 30 (2): 191- 198, 1999.

101. Torres- Rodriguez JM, Alvarado- Ramirez E: In vitro susceptibilities to yeasts using the ATB FUNGUS 2 method, compared with Sensititre Yeast One and Standard CLSI (NCCLS) M27- A2 methods, J Antimicrob Chemother; 2007.

102. Bae HG, Sohn YH, Shin JH, Kim MN: The evaluation of clinical utility of ATB FUNGUS 2 for antifungal susceptibility testing in Candida species, Korean J Clin Microbiol; 7 (2): 156- 163, 2004.

103. Quindos G, Salesa R, Carrillo- Munoz AJ, Lipperheide V, Jaudenes L, San-Millian R, Torres-Rodriguez JM, Ponton J: Multicenter evaluation of ATB fungus: a standardized micromethod for yeast susceptibility testing, Chemother; 40 (4): 245- 251, 1994.

104. Adiloğlu AK, Şirin MC, Cicioğlu- Arıdoğan B, Can R, Demirci M: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Candida kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması, ADÜ Tıp Fak Derg; 5(3): 33- 36, 2004.

105. Kaya K, Kaya S, Avunduk H, Özyazıcı G, Bakıcı MZ: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 10 aylık periyotta saptanan kandiduri etkenlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları, C. Ü. Tıp Fak. Derg; 26 (2): 71- 74, 2004.

106. Koçoğlu E, Bayram A, Balcı İ: Klinik örneklerden izole edilen Kandida türleri ve antifungal duyarlılıkları, Van Tıp Derg; 12 (3): 195- 200, 2005.

107. Yenişehirli G, Bulut Y, Günday E: Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* suşlarında antifungallere duyarlılık, *Ankem Derg*; 21(3): 146- 149, 2007.
108. Borg- von Zepelin M, Kunz L, Rüchel R, Reichard U, Weig M, Gross U: Epidemiology and antifungal susceptibilities of *Candida* spp. to six antifungal agents: results from a surveillance study on fungaemia in Germany from 2004 to August 2005, *Antimicrob Chemother*; 60 (2): 424- 428, 2007.
109. Bedini A, Venturelli C, Mussini C, Guaraldi G, Codeluppi M, Borghi V, Rumpianesi F, Barchiesi F, Esposito R: Epidemiology of candidaemia and antifungal susceptibility patterns in an Italian tertiary- care hospital, *Clin Microbiol Infect*; 12 (1): 75- 80, 2006.
110. Fındık D, Tuncer İ: Nosocomial fungal infections in a teaching hospital in Turkey: Identification of the pathogens and antifungal susceptibility patterns, *Turk J Med*; 35- 38, 2002.
111. Colombo AL, Nucci M, Park BJ et al: Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers, *J Clin Microbiol*; 44 (8): 2816- 2823, 2006.
112. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B et al: In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002- 2003, *J Antimicrob Chemother*; 55(2):194- 199, 2005.
113. Skrodeniene E, Dambrauskiene A, Vitkauskiene A: Susceptibility of yeasts to antifungal agents in Kaunas University of Medicine Hospital, *Medicina (Kaunas)*; 42 (4): 294- 299, 2006.
114. Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, Warnock DW: Comparative evaluation of FUNGİTEST and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*, *J Clin Microbiol*; 36 (4): 926- 930, 1998.
115. Phaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP: National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in SCOPE Program, *Diagn Microbiol Infect Dis*; 31 (1): 327- 332, 1998.

116. Kuzucu Ç, Yetkin G, Çalışkan A: Bir yıl içerisinde kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları, Erciyes Tıp Derg; 29 (2): 115- 119, 2007.

117. Özkan S, Kaynak F, Abbasoğlu U, Gür D: Çocuk hastalardan izole edilen Candida türlerinin çeşitli antifungallere duyarlılıklarının araştırılması, Türk Mikrobiyoloji Cem Derg; 34: 253- 256, 2004.

118. Kiremitçi A, Durmaz G, Akgün Y, Kiraz N, Aybey A, Yelken B: Anestezi yoğun bakım ünitesinde çeşitli klinik örneklerden üretilen mikroorganizmalar ve antibiyotik direnç profilleri: 2003 yılı verileri, Enfeksiyon Derg; 20 (1): 37- 40, 2006.

## 11. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Diyarbakır'ın Ergani ilçesinde doğdu. İlkokulu Diyarbakır Faik Ali İlköğretim Okulu'nda, ortaokul ve lise eğitimini ise Diyarbakır Anadolu Lisesi'nde tamamladı. Üniversiteyi Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesinde 1999 yılında tamamladıktan sonra bir süre pratisyen hekim olarak çalıştı. 20.02.2004 tarihinde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. Halen bu bölümde uzmanlık eğitimine devam etmektedir.