

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AFYON YÖRESİNDE KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN  
CANDIDA TÜRLERİNİN İDENTİFİKASYONU ve  
ANTİMİKOTİK DUYARLILIKLARI**

**Meltem PİYADE**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Mustafa ALTINDIŞ**

**Tez No: 2004-024**

**2004- AFYON**



## ÖNSÖZ

Karşılaştığım güçlüklerin çözümünde olduğu gibi; tez konumun yürütülmesinin her aşamasında bilgi ve desteğinden yararlandığım, tezimin yazılım aşamasında da büyük yardımlarını gördüğüm Danışman Hocam Yrd. Doç. Dr. Mustafa Altındış'e en içten şükran duygularımı sunarım.

Mikrobiyoloji Anabilim Dalında çalışmaya başladığım günden bu yana sürekli ilgi, destek ve teşviklerini gördüğüm Hocalarım Yrd. Doç. Dr. Zafer Çetinkaya'ya, Yrd. Doç. Dr. Orhan Cem Aktepe'ye ve Yrd. Doç. Dr. İhsan Hakkı Çiftçi'ye de teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Önsöz.....	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
Tablo Listesi.....	VII
Şekil Listesi.....	VIII
<b>ÖZET</b> .....	1
<b>SUMMARY</b> .....	2
<b>1. GİRİŞ</b> .....	3
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	5
2.1. Tarihçe.....	5
2.2. <i>Candida</i> 'ların Hücre Yapısı.....	5
2.3. Virulans Faktörleri.....	8
2.4. <i>Candida</i> Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	9
2.5. Tıbbi Bakımdan Önemli <i>Candida</i> Türlerinin Mikolojik Özellikleri.....	13
2.6. <i>Candida</i> 'ların Patogenezi.....	17
2.7. Enfeksiyona Yol Açan Kolaylaştırıcı Faktörler.....	19
2.8. <i>Candida</i> Enfeksiyonları.....	20
2.8.1. Mukoza Enfeksiyonları.....	20
2.8.2. Deri Enfeksiyonları.....	21
2.8.3. Derin/Sistemik Enfeksiyonlar.....	22
2.8.4. Allerjik Hastalıklar.....	24
2.9. Epidemiyoloji.....	24
2.10. <i>Candida</i> Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı.....	25
2.10.1. <i>Candida</i> Türlerinin İdentifikasyonu.....	27
2.11. Tedavi.....	30
2.11.1. Polyen Grubu Antifungaller.....	31
2.11.2. Azoller.....	32
2.11.3. Primidin Sentezi İnhibitörleri.....	34

<b>2.11.4. Ekinokandinler.....</b>	<b>34</b>
<b>2.11.5. Yeni Antifungal Ajanlar.....</b>	<b>35</b>
<b>2.12. Antifungal Duyarlılık Testleri.....</b>	<b>36</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. İzolasyon.....</b>	<b>38</b>
<b>3.2. İdentifikasyon.....</b>	<b>38</b>
<b>3.3. Antifungal Duyarlılık Testi.....</b>	<b>41</b>
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>46</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>53</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>61</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>63</b>

**KISALTMALAR**

<b>ABCD</b>	: Amfoterisin B Colloidal Disporsiyon
<b>ABLC</b>	: Amfoterisin Lipid Kompleks
<b>ADT</b>	: Antifungal Duyarlılık testi
<b>AM<sub>3</sub></b>	:Antibiyotik Medium 3
<b>Amp-B</b>	: Amfoterisin B
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
<b>DK</b>	: Dissemine Kandidiyaz
<b>DMSO</b>	: Dimetil Sulfoksit
<b>EIA</b>	: Enzimimmunoassay
<b>5-FC</b>	: 5-Flusitozin
<b>GIS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>KOH</b>	: Potasyum Hidroksit
<b>KMK</b>	: Kronik Mukokütenöz Kandidoz
<b>LA</b>	: Lateks Aglutinasyon
<b>MİK</b>	: Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
<b>MOPS</b>	: 3-(N- Morfolino) Propan Sulfonik Asit
<b>NCCLS</b>	: National Committee for Clinical Laboratory Standards
<b>NK</b>	: Natural Killer Hücreleri
<b>PNL</b>	: Polimorf Nüveli Lökositler
<b>RES</b>	: Retikülo-Endotelyal Sistem
<b>RIA</b>	: Radyoimmunassay
<b>AGA</b>	: Arjinin-Glisin-Asparajin
<b>SDA</b>	: Sabourauds Dekstroz Agar

**TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1:** Klinik örneklerde üretilen *Candida* türlerinin kültür, mikroskopi ve biyokimyasal özellikleri.

**Tablo 2:** Bazı önemli *Candida* türlerinin mısırunu-Tween 80 agarda morfolojik özellikleri.

**Tablo 3:** Klinikte sık kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları.

**Tablo 4:** NCCLS M27 antifungal duyarlılık testi yönteminin temel prensipleri.

**Tablo 5:** Alternatif antifungal duyarlılık testleri.

**Tablo 6:** Amfoterisin B ve Ketokonazol dilüsyonlarının hazırlama şekli.

**Tablo 7:** Flukonazol dilüsyonunun hazırlama şekli.

**Tablo 8:** Klinik Örneklerden izole edilen *Candida* türleri.

**Tablo 9:** İzole edilen *Candida*'ların klinik örneklere göre dağılımı.

**Tablo 10:** İzole edilen *Candida* türlerinin klinik örneklere göre dağılımı.

**Tablo 11:** *Candida* türlerinin Amfoterisin B için MIK değerleri

**Tablo 12:** *Candida* türlerinin Ketokonazol için MIK değerleri

**Tablo 13:** *Candida* türlerinin Flukonazol için MIK değerleri

## ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1:** *Candida*'larda ergosterol biyosentezinin şematik olarak gösterilmesi.

**Şekil 2:** *Candida*'ların SDA besiyerindeki krem renkli, S tipi tipik kolonileri.

**Şekil 3:** *C. albicans*'ın mısırunlu-Tween 80 agarda oluşturduğu uç klamidosporeleri.

**Şekil 4:** *C. kefyr*'nin mısır unlu-Tween 80 agarda blastokonidyumların dizilimi.

**Şekil 5:** Amfoterisin B'nin *Candida* türlerinde inhibitör etki gösterdiği konsantrasyonların yüzde dağılımı.

**Şekil 6:** Ketokonazol'ün *Candida* türlerinde inhibitör etki gösterdiği konsantrasyonların yüzde dağılımı.

**Şekil 7:** Flukonazol'ün *Candida* türlerinde inhibitör etki gösterdiği konsantrasyonların yüzde dağılımı.



## ÖZET

### **Afyon Yöresinde Klinik Örneklerden Soyutlanan *Candida* Türlerinin İdentifikasyonu ve Antimikotik Duyarlılıkları**

Sağlıklı kişilerin normal florasında bulunan *Candida*'lar fırsatçı funguslardır. Bu mikroorganizmalar, immun sistemi birtakım nedenlerle baskılanmış kişilerde hayatı tehdit eden patolojilere yol açabilirler.

Son 10 yılda *Candida*'larla oluşan enfeksiyon insidansı artmıştır. Enfeksiyonlardan en sık izole edilen tür *C. albicans* olmakla beraber non-albicans *Candida* türleri ile oluşan enfeksiyon insidansında da artış görülmektedir. Ayrıca bu türlere karşı kullanılan antifungal ajanlara direnç görülmesi de önemli bir problem oluşturmaktadır .

Bu çalışmada, klinik örneklerden izole ettiğimiz maya türü mantarlardan *Candida*'ların tür düzeyinde tanımlanması, varsa dirençli türlerin görülme sıklığı ve antifungal duyarlılık paternlerinin belirlenmesini amaçladık.

Çalışmada, hastanemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerden izole edilmiş toplam 100 *Candida* suşunun biyokimyasal tiplendirilmesi yapılmıştır. Bu suşların 50'si *C. albicans* (%50), 15'i *C. glabrata* (%15), 13'ü *C. tropicalis*, 10'u *C. krusei* (%10), 7'si *C. kefyr* (%7), 3'ü *C. parapsilosis* (%3) ve 2'si *C. guilliermondii* (%2) olarak tanımlandı.

Tanımlanan bu türlerin Amfoterisin B, Ketokonazol ve Flukonazole karşı duyarlılıkları mikrobuyyon dilusyon yöntemi ile araştırılarak incelenmiştir.

Yapılan antifungal duyarlılık sonuçlarına göre izolatlarımızın MIK değerleri Flukonazol için 0,125-64 µg/ml, Amfoterisin B ve Ketokonazol için 0,03-16 µg/ml arasında saptanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Amfoterisin B, Antifungal Duyarlılık Testleri, *Candida albicans*, Flukonazol, Ketokonazol.

## SUMMARY

### **Identification and Antifungal Susceptibility of Candida Species Isolated From Clinical Specimens in Afyon Region**

*Candidas* are opporunistic fungi found in the normal flora of healthy persons. These microorganisms can cause life-threatening pathology in patients whose immune system has been repressed by illness.

The incidence of *Candida* infections has increased in the last 10 years. Although *C. albicans* is the most frequently isolated species, there also been an increase in the incidence of infection with non-albicans *Candida* species. The development of resistance to the antifungal agents used againts these species is also becoming an important problem.

We aimed to identify the *Candida* species isolated from clinical specimens and determine the percentage of resistant species and the antifungal sensitivity pattern. We carried out biochemical typing of the 100 *Candida* strains isolated from various specimens that had been sent to the Microbiology and Clinical Microbiology Laboratory of our hospital. Of these strains, 50 (50%) were identified as *C. albicans*, 15 (15%) as *C. glabrata*, 13 (13%) as *C. tropicalis*, 10 (10%) as *C. krusei*, 7 (7%) as *C. kefyr*, 3 (3%) as *C. parapsilosis* and 2 (2%) as *C. guilliermondii*.

Susceptibility of these strains to Amphotericine B, Ketoconazole and Fluconazole were carried out by using microbroth susceptibility testing method.

Susceptibility testing results revealed that the susceptibility range of our isolates to Fluconazole was 0,125-64,0 µg/ml and was 0,03-16 µg/ml to Amphotericine B and Ketoconazole.

**Key Words:** Amphotericine B, Antifungal Sensitivity tests, *Candida albicans*, Fluconazole, Ketoconazole.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sağlıklı kişilerin ağız, üst solunum yolları, barsak, vajen mukozaları ve derinin normal florasında bulunan *Candida*'lar, fırsatçı funguslardır (1,2). Normal florada bulunan *Candida*'lar dokuya yerleşebilir ve immun sistemi birtakım sebeplerle baskılanmış kişilerde hayatı tehdit eden patolojilere yol açabilirler (1).

Son 10 yıldır mantar enfeksiyonları sıklığında artış görülmektedir (3). Mantar enfeksiyon etkenleri arasında en sık rastlananlar *Candida*'lardır (1,4). Başlıca insidans artış nedenleri arasında geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, uzun süreli kanser tedavisi, organ transplantasyonu, HIV enfeksiyonlarındaki artış, genetik defektler vb. bulunmaktadır (4,5).

Bugün tesbit edilen 200 kadar *Candida* türü vardır. Bunlardan 15'i (*C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. catenulata*, *C. dattila*, *C. fomata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*, *C. tropicalis* ve *C. zeylanoides*) patojen olarak kabul edilmektedir (1,2). Fakat artan ilaç kullanımı, cerrahi girişim, organ nakli, AIDS vb. durumlara bağlı olarak diğer türlerin de patojen olabileceği düşünülmektedir (1,2).

*Candida* enfeksiyonlarında etken olarak ilk sırada *Candida albicans* yer almakla birlikte non-albicans *Candida* türlerinde de artış gözlenmektedir. Ayrıca, kullanılan antifungal ajanlara karşı direnç görülmesi önemli bir problem oluşturmaktadır (1). *Candida* enfeksiyon insidansının yükselmesi, dirençli suşların görülmeye başlanması ve sistemik etkili yeni antifungal ajanların kullanıma girmesi antifungal duyarlılık testlerine daha fazla ilgi gösterilmesine neden olmuştur (1,3).

Antifungal duyarlılık testleri (ADT)'nin standardizasyonu için National Committee for Clinical Laboratory Standards'ın (NCCLS) antifungal alt komitesi 1982 yılından beri çalışmalar yapmaktadır (4). İlk kez *Candida* türleri ve *Cryptococcus neoformans* için M27-P isimli belge ile makrodilüsyon yöntemi önerilmiştir.

Daha sonra ise M27-T ve M27-A belgeleri ile makrodilüsyona alternatif mikrodilüsyon yöntemi önerilmiştir. Bu yöntemlerle direnç gelişimi izlenerek, gerekli önlemler alınabilecektir (4).

Çalışmalar antifungal duyarlılık testlerinin (ADT) ancak tür tanımlanması ile birlikte klinisyen için daha fazla tatmin edici olacağını vurgulamaktadır (1,2).

Bu alışmada; Afyon y6resinde Tıp Fak6ltesi Uygulama ve Araştırma Hastanesine gelen klinik 6rneklerden maya t6r6 mantarlar içerisinde izole edilen *Candida*'ların t6r d6zeyinde tanımlanmasını; amfoterisin B, flukonazol ve ketokonazol ilaçlarına karşı antifungal duyarlılık paternlerinin belirlenmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe:

*Candida*'larla ilgili ilk bilgiler 4. yüzyılda Hippocrates'e kadar uzanır. Galen ve Pepy (1665)'de pamukçuğun çocuklardaki sıklığını göstermiştir. 1771'de Rosen Von Rosentein pamukçuğun yenidoğan hastalığı olduğunu açıklamıştır. Pamukçuk etkeninin ilk keşfi 1839'da Langenbeck tarafından, tifüslü bir hastanın ağzındaki aftı kazıyarak bir mantarı gözlemiş, ancak bunun tifüs hastalığının etkeni olduğunu zan etmiştir (5). İlk olarak 1841'de Berg ve 1844'te Bennett pamukçuğun mantar niteliğinde olduğunu göstermişlerdir. 1849'da Wilkinson ilk vajinal kandidozu tanımlamıştır. *Candida albicans*'ın isimlendirilmesinde ilk adım 1843'te Rabince pamukçuk etkeni "*Oidium albicans*" olarak atılmış, bunu 1840'da Zapf'ın "*Manilia albicans*" tanımlaması izlemiştir ve 1923'te Berkhout *Candida albicans* terimini kullanan ilk kişi olmuştur. *C. albicans* için 100'den fazla sinonim bulunmaktadır (5).

*Candida*'lar *Deuteromycota*'da *Blastomycetes* sınıfının *Cryptococcales* takımında *Cryptococcaceae* ailesinde sınıflandırılan, blastosporlarla çoğalan, yalancı misel yapan, gerçek misel yapıları müstesna olan ve eşeyli şekilleri *Hemiascomycetes* sınıfında bulunan bir grup anamorfoz mayadır (6-8).

### 2.2. *Candida*'ların Hücre Yapısı:

*Candida*, "fungi imperfecti" (deuteromycetes) sınıfında yer alan bir cinstir (8,9).

#### Hücre Sitoplazması

Ökaryot hücre olduklarından membranla çevrili bir çekirdek içerirler. Çekirdek içinde ise, bir çekirdekçik ve lineer kromozomlar bulunur.

Sitoplazmada; mitokondri (anaerobik mantarlarda yoktur), golgi aygıtı, vakuoller, çeşitli veziküller ve 80 S ribozomlarda yer alır (9).

**Hücre İskeleti:** Hücre iskeleti, turgor basınca karşı koyan, ancak, dinamik bir yapıdır. Hücre duvarı ve hücre membranı ile ilişkidir. Hücre iskeleti mayoz, mitoz, tomurcuklanma, septum oluşumunda ve protein kinaz gibi bazı enzimlerin

düzenlenmesinde rol alır. Hücre iskeleti mikrotübüller, aktin ve miyozinden oluşur (9).

**Mikrotübüller:** Alfa ve beta peptid polimerlerinden oluşurlar ve membranın hareketliğinde rol alırlar (9).

**Aktin:** Protein yapıda kablolardır. Sitoplazmik akışkanlığı sağlar (9).

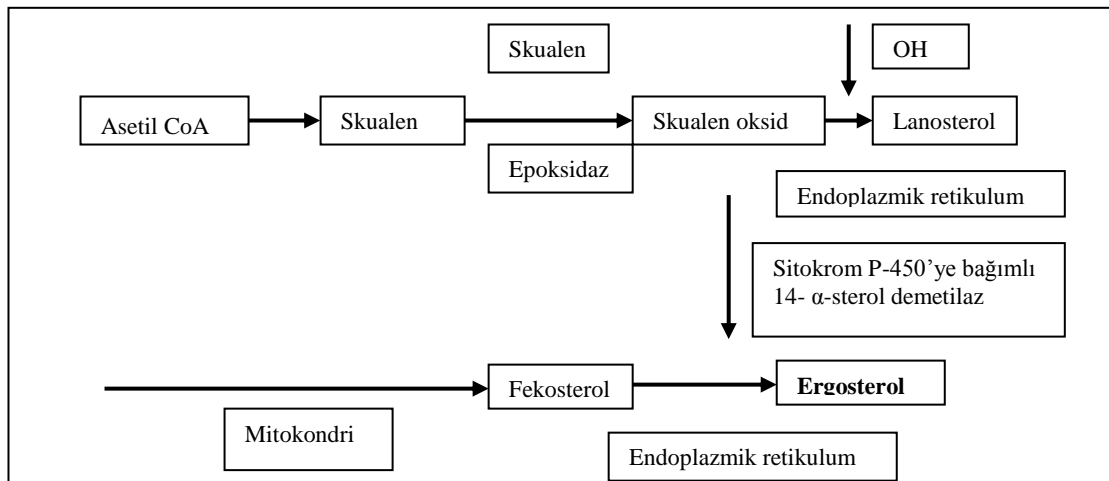
**Miyozin:** Aktinle bağlantılı olup, organellerin hareketliliğinde rol alırlar. Bu komponentler “kalmodulin” gibi bazı proteinlerin ve  $Ca^{++}$  gibi bazı iyonların varlığında işlevsellik kazanırlar (9).

### Hücre Membranı

**Membran Proteinleri:** Moleküllerin membrandan transferini sağlayan ozmoenzimler, membranda bulunurlar. Duvar sentezinde rolü olan kitin sentetaz ve sinyal transdüksiyonunda rol olan fosfolipaz C, adenil siklaz, proteinaz gibi enzimler de membranda bulunurlar (6,7,9).

**Membran Fosfolipitleri:** Bunlar; fosfotidil kolin, fosfotidil etanolamin, fosfotidil serin ve fosfotidil inositoldür. Bazı toksik fungusitler, özellikle fosfotidil kolin sentezini inhibe ederek membran bütünlüğünü bozarlar (8,9).

**Membran Steroidleri:** Sterol, membran lipidlerinin %22’sini oluşturur. Zimo ve ergosterol formunda bulunur. Ergosterol %95 oranında olup ana steroldür ve membrana dinamizm sağlar (9). *Candida* kökenlerinde ergosterol biyosentezi Şekil 1’de gösterilmiştir.



**Şekil 1:** *Candida*'larda Ergosterol Biyosentezinin Şematik olarak gösterilmesi

### **Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı**

Hücre duvarı, katı bir yapıdadır. Hücreye şeklini verir, osmatik basınca bağlı patlamaya karşı koyar, moleküllerin hücre içinde ve dışına geçişinde rol alır (5,9). *Candida* hücre duvarı diğer saprofitik mayaların duvar yapısı ile benzer özellik gösterir. Duvar; hücrenin kuru ağırlığının %30'unu oluşturmaktadır. Dinamik bir yapıya sahip olup plazma membranına eksternal olarak lokalizedir. *Candida* hücre duvarında antijenik belirteçleri bulundurur ve mantar hücresinin konak hücrelere tutunmasını sağlar (6,9).

*Candida* hücre duvarının en temel komponentleri karbonhidratlar (%80-90), proteinler (%5-15) ve lipidlerdir (%2-5). Karbonhidratların ise %20-30'u mannopteinlerden (mannan), %50-60'ı beta-glukanlardan ve %0,6-9'u kitinden oluşur. *Candida* kökenlerinin hifal formlarında kitin miktarı, maya formunun 3 katı kadar fazladır (9).

***Candida albicans*'da Mannoproteinler:** Mannoproteinler duvarın en dışında ve de duvarın farklı kısımlarında yaygın olarak bulunur (6,9). Mannoprotein; 40 kDA moleküler ağırlığında olup, %7'si protein ve %93'ünün çoğu mannoz ve çok düşük miktarda glikozdan oluşur (10). *C. albicans*'da dallanmış ve birbirine  $\alpha$ -1,6 ile bağlı mannoz ünitelerinden oluşan bir polisakkarit gövdeye bağlayan ve N-asetil-glukozamin, asparajin, treonin gibi aminoasit rezidüleri ile birbirine tutunmuş olan bir protein de vardır (9). Yapıya  $\alpha$ -1,2 yada  $\alpha$ -1,3 bağlarıyla bağlanmış mannoz üniteleri de bağlanarak yan zincirleri oluştururlar. *C. albicans* kökenlerindeki A ve B serotipleri arasındaki farklılık bu yan zincirlerin kompozisyonu ile ilgilidir (5,10).

***Candida albicans*'da Beta-glukanlar:** Beta-glukanlar, hücre duvarının bütünlüğünden sorumludurlar. Maya ve hifal formlarda asitte çözünebilen  $\beta$ -1,6 ve  $\beta$ -1,3 glukan fraksiyonları birlikte bulunurlar. Germ tüpü ise  $\beta$ -1,3'ten zengindir; bu komponentin sentezinde rol alan  $\beta$ -1,3 glukan sentetaz enzimi, ekinokandin ve benzeri antifungal ilaçlar tarafından inaktive edilir (6,9).

***Candida albicans*'da Kitin:** Kitin, tomurcuklanma skarlarında ve daha yüksek miktarlarda olmak üzere mantarın hifal formunda bulunur (6,9).

Kitin, N-asetil-glukozaminin  $\beta$ -1,4 polimerlerinden oluşur. Kitin, plazma membranında bulunan kitin sentetaz tarafından sentezlenir. Kitin ve glukan mikrofibrilleri birbirleri ile sıkı bağlantılar yaparak, duvarın katılığını güçlendirir (9,10).

***Candida* Hücre Duvarında Yer Alan Proteinler:** Duvar proteinlerinden en önemlileri: N-asetil-glukoz aminidaz, asit fosfataz, glukonaz, proteinaz ve bazı reseptörlerdir (6,9).

***Candida* Hücre Duvarında Yer Alan Lipidler:** Lipidler %1-5 oranında bulunur. Tüm mantarlarda olduğu gibi, *Candida*'ların da hücre membranında bulunan sterol, membran lipidlerinin %20'sini oluşturur. Sterolün %95'i, ergosterol formundadır. Ergosterol, antifungal ilaçlar için en önemli hedeftir (6,9).

### 2.3. Virulans Faktörleri:

Patojenlik bir mikroorganizmanın hastalık oluşturma yeteneği olarak belirlenir. Hastalık yapıcı karakterdeki bir mantarın vücuda girmesi enfeksiyonun oluşmasındaki ilk aşamadır ancak enfeksiyonun meydana gelmesi için yeterli değildir (11-17).

Etkenin hastalık yapıcı birçok faktörü ile konağın duyarlılığı gibi birtakım özellikler, insanlarda sıradan bir kommensal olarak bulunan ancak konağın savunması zedelendiğinde dokulara yayılarak ona zarar verebilen *Candida*'ların yaptıkları enfeksiyonların altındaki gerçeği oluşturur (11-17). *Candida*'ların özellikle majör patojen olan *C. albicans*'ın kandidoz patogeneğinde rolü olduğu ileri sürülen virulans faktörleri aşağıdaki başlıklarda toplanabilir (11-17);

Patojenite Faktörleri:

- Adezyon
- Hücre yüzeyi
- Çimlenme borusu ve dimorfizm
- Fenotipik değişim



- Enzimler (Proteinazlar ve Fosfolipazlar)
- Toksinler
- Tür ve köken
- Slime faktörü
- Virülans kodlayan genler

## **2.4. *Candida* Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri**

### **Morfoloji ve Boyanma Özellikleri**

Birkaç istisna dışında, *Candida* cinsi içindeki mayaların makroskopik ve mikroskopik özellikleri farklılık göstermez (1,18). *Candida* türleri genellikle çapları 4-6 µm arasında değişen yuvarlak veya yuvarlağımsı tomurcuklanan maya mantarlarıdır. *Candida* türleri tek hücreli, hücre duvarında kitin ve/veya selüloz içeren ökaryotik kemoheterotrop organizmalardır (1,18).

Tomurcuklanma (blastospor) veya ortadan ikiye bölünme ile çoğalırlar. Tomurcuklanarak meydana gelen yavru hücre ana hücrenin aynısıdır, ana hücreden ayrılır veya ayrılmaz (18,19). *Candida* türlerinde oluşan blastokonidyumlar ana hücreden ayrılmadan peşi sıra uzayarak yalancı hif (pseudohif), hücre duvarı birbirine paralel gerçek hif ve bir hifin ucunda veya arada bulunan tek hücreli, kalın duvarlı, oval geniş yapı olan klamidospore oluşturabilirler (6,19). *Candida* türlerinde blastokonidyumlar, yalancı hif, klamidospore ve germ tüt oluşumu tür tanımında önemlidir (7,19).

Gram ile boyandıklarında tüm *Candida* türleri gram olumludur. Maya elemanlarının klinik örneklerden aranmasında Potassium Hydroxide-Calcofluor White Fluorescent boyanması kullanılır. Bu boya ile maya hücresi yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir (6,7,19).

### **Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri**

*Candida* türleri çoğu yaygın kullanılan mikolojik ve bakteriyolojik kültür ortamlarında iyi ürer. Koloniler genellikle 24 saatte görülmesine rağmen, belirgin üreme genellikle 48-72 saat arasında aerop/fakültatif anaerop ortamda gerçekleşir. Mayaların 37 °C'de üreyebilmeleri önemli özelliklerindedir. Özellikle patojen olan türler 25-37 °C'de, saprofitler ise daha düşük ısıda üreyebilirler (6,7,19).

Mayaların üreyebilmesi için besiyeri ortamında glukoz, amonyum tuzu, fosfat, biotin ve serbest metallerin (Fe, Zn, Ca gibi) bulunması, ortam pH'sının 2-8 arasında olması yeterlidir. *Candida* türleri kemoheterotrofturlar, yani organik bir azot ve karbon kaynağına gereksinimleri vardır (6,7).

Besinlerini absorpsiyon yolu ile buldukları ortamdan kolayca sağlayabilmeleri için ortamın relatif nem oranının %95-100 arasında olması gerekir.

*Candida* türleri SDA gibi rutin besiyerlerinde oda ısında ve 37 °C'de 24 saatte üreyip genellikle kirli beyaz veya krem rengi, yumuşak kıvamlı ve tipik olarak mayamsı kokulu, S tipi koloniler oluştururlar (Şekil 2) (6,7,19). Koloninin besiyerinde kalan bölümü blastokonidyumlardan oluşmuştur; besiyerinin yüzeyinin altında ise yalancı hifler bulunur.

*Candida* kolonileri kendiliğinden S şeklinden R şekline dönüşebilir. R şeklindeki kolonilerin oluşumu fazla miçel gelişimi ile ilgilidir. (19,20).



**Şekil 2:** *Candida*'ların SDA besiyerindeki krem renkli, S tipi tipik kolonileri

Bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremesini baskılayarak seçicilik sağlamak üzere primer besiyerinin bileşimine gentamisin, kloramfenikol gibi antibiyotikler eklenebilir (6,7,20).

*Candida* türleri, oksijen varlığında spesifik karbonhidratları tek karbon kaynağı olarak kullanabilirler. Bazı mayalar fermentatiftir. Klinik örneklerde CO<sub>2</sub> ve

alkol açığa çıkarırlar (19). Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin *C. lipolytica* ve *C. krusei* suşları haricinde üreaz enzimleri yoktur (20).

*Candida* türlerinin SDA gibi rutin besiyerinde oluşturdukları kolonileri ve mısırunu-Tween 80 gibi besinden fakir besiyerlerinde saptanan blastokonidyumlarının özellikleri ve blastokonidyumlarının yalancı hif boyunca dizilimlerine göre farklılıklar gösterir. Mısırunu-Tween 80 besiyerindeki morfolojileri ayırıcı tanıda yardımcıdır.

Ancak türlerin kesin tanısı daha sonra yapılan şeker fermentasyon ve asimilasyon deneyleri ile konulur (18,19).

Klinik örneklerden izole edilen bazı *Candida* türlerinin kültürel, mikroskobik morfoloji ve biyokimyasal özellikleri Tablo 1 'de özetlenmiştir (1,8,21).

**Tablo 1:** Klinik örneklerde üretilen *Candida* türlerinin kültür, mikroskopi ve biyokimyasal özellikleri

TÜRLER	37°C de üreme	Pseudo/gerçek hif	Klamido spor	Germ tüp	ASİMİLASYON											FERMANTASYON					Üreaz	KNO3	Asko spor	
					D	M	S	L	G	M	S	İ	K	R	T	D	D	M	S	L				S
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	F	-	-	F	-	-	-
<i>C. catenulata</i>	+d	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	Fd	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. dubliniensis</i>	+	+	+	+	+	+	+	d	+	-	-	-	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. famata</i>	+	-	-	-	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	+	d	Fd	-	Fd	-	-	-	-	-d
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	F	-	F	Fd	F	-	-	-d
<i>C. kefyr</i>	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	d	-	d	+	-d	-	F	-	F	Fd	F	-	-	-
<i>C. krusei</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	+d	-	-d
<i>C. lambica</i>	+d	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-d
<i>C. lipolytica</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-d
<i>C. lusitanae</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	-	F	-	F	-	-	-d
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. pelliculosa</i>	+	+	-	-	+	+	d	-	+	+	+	-	+	-	+	-	F	Fd	F	-	F	-	+	+
<i>C. pintolopestisii</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. rugosa</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	*	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	F	F	F	-	F	-	-	-
<i>C. zeynaloides</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-d	-	-d	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: olumlu, -: olumsuz, d: değişken, F: Fermantatif, \*: *C. tropicalis* nadir olarak klamidospora benzer yapılar oluşturabilir. D:dekstroz, M:maltoz, S:sukroz, L:laktöz, G:galaktöz, M:mellobiyoz, S:sellebiyoz, İ:inositol, K:ksiloz, R:rafinoz, T:trehaloz, D:dulsitol

## 2.5. Tıbbi Bakımdan Önemli *Candida* Türlerinin Mikolojik Özellikleri

*Candida* türleri insanları etkileyen en yaygın fungal patojendir. Bu organizmalar invaziv olmayan yüzey enfeksiyonlarından, derin dokuları tutan enfeksiyonlara kadar geniş hastalık spektrumuna sahiptir (22).

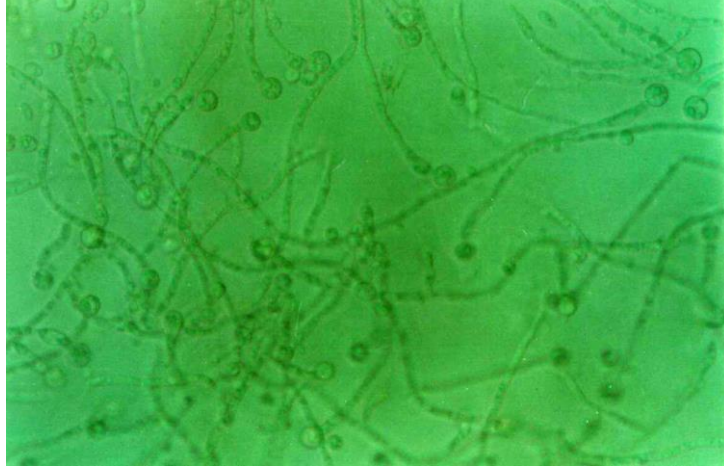
*Candida* türleri eşeyli ve eşeysiz sporları aracılığı ile ürerler, üreme şekilleri baz alınarak sınıflandırılır. Bu cinste yaklaşık 200 tür bulunmaktadır. En sık etken olan tür *C. albicans*'tır, bunu takip eden *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*'dir ve %50-%70 en sık etkenlerdir. Diğer hastalık nedeni olan başlıca türler; *C. catenulata*, *C. ciferreii*, *C. kefyr*, *C. lambia*, *C. lusitanae*, *C. norvegensis*, *C. pelliculosa*, *C. rugosa*'dır. Bu sayı ve sıralama gün geçtikçe değişebilir (29).

### ***Candida albicans*:**

Kandidozun en yaygın nedenidir (6,7,22). SDA besiyerinde *C. albicans* krem renginde, yumuşak krem veya tereyağı kıvamında S ve/veya R tipi koloni oluşturur (22). Bu kolonilerden hazırlanan preparasyonlar gram yöntemi ile boyandığında maya hücrelerinin gram pozitif, oval veya yuvarlak, tek tek veya gruplar halinde oldukları görülür.

Serumda 37°C'de, 2 saat inkübasyon sonunda hücrelerden boğum oluşturmaksızın uzayan çimlenme boruları (germ tüp) oluştururlar (6,7,22). Diğer *Candida* türlerinden farklı olarak mısırunlu- Tween 80 agarda yalancı hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler yapan blastospor ve yalancı hif uçlarında kalın duvarlı, tek veya birkaç tane klamidospor oluşturur (Şekil 3) (19,22). Klamidosporlar *C. albicans*'ın en belirgin özelliğidir ve herhangi başka bir *Candida* türü tarafından nadiren meydana getirilir (22).

*C. albicans* bulunduğu ortam koşullarına bağlı olarak farklı morfolojide görülür. Besin değeri yüksek, nötr pH'da oksijenli ortamda maya şeklinde ürer; besin değeri zayıf, düşük oksijen konsantrasyonunda ve asit pH'da yalancı hif ve klamidospor teşkil eder (22).



**Şekil 3:** *C. albicans*'ın mısır unlu-Tween 80 agarda oluşturduğu uç klamidosporeleri

### ***C. tropicalis:***

Krem renginde, yumuşak krem gibi ve çevresinde miçelin çıktığı “kırma” koloni oluştururlar. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26 °C’de 72 saat inkübasyonu sonunda yalancı hif, yalancı hif boyunca tek tek veya ufak kümeler yapacak biçimde dizilim gösteren blastosporlar oluşturur (6,7,22). Bazen de yalancı hiflerin ucunda ince duvarlı, yuvarlak klamidospora benzer yapılar oluşturabilir. Ancak bunlar *C. albicans*'a ait klamidosporelerden, bir destek (süspansör) hücrenin bulunmamasıyla farklılık gösterir (22).

Diğer yandan *C. tropicalis*, çimlenme borusuna benzeyen uzamış yalancı hifimsi hücreler de yapabilir. Çimlenme borusuna benzeyen bu borucuğun *C. tropicalis*'e ait maya hücresinden çıktığı yerde bir daralma görülür. Bu daralma durumu *C. albicans*'ın çimlenme borusunda görülmemektedir (7,19).

### ***C. glabrata:***

Krem renginde, yumuşak krem gibi veya tereyağı kıvamında S tipi düzgün koloni oluşturur. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26°C’de 72 saat sonunda küçük oval, tek tomurcuklu, kapsülsüz olarak ürerler. Yalancı ve gerçek hif oluşturmaz (22). İdrar yolu enfeksiyonlarında, yeni doğanlarda fungemilerde, immunkompresimize konaklarda önemli etkenlerdendir.

***C. parapsilosis:***

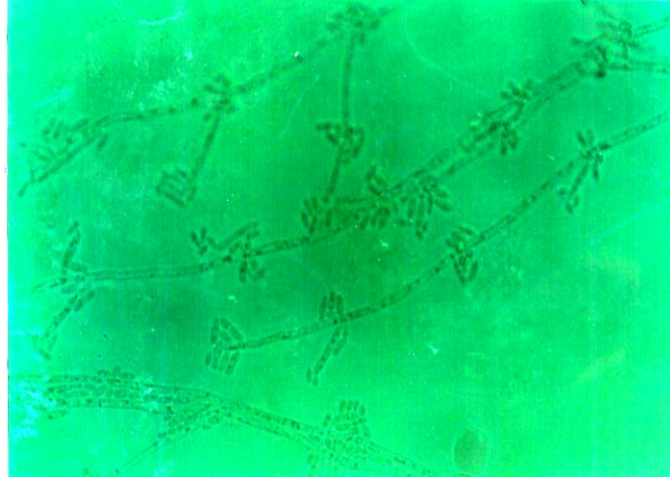
Krem renginde, yumuşak krem gibi ve bazen çevresinde dantel şeklinde koloni yaparlar. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26 °C’de 72 saat sonunda yalancı hif, bunun etrafında tek tek bazen kümeler yapan blastokonidyumlar oluşturur. En önemli özelliği arada iri hiflerin görülmesidir; bunlara “dev hücreler” de denir (22). Kataterle ilişkili enfeksiyonlarda, fungemilerde önemli etkenler arasındadır (17,22).

***C. krusei:***

Yassı, kuru, donuk, krem renginde çevresinde miçelin çıktığı “kıırma” koloniler oluşturur. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26 °C’de 72 saat sonunda yalancı hif, bunun etrafında uzun “ağaca benzer” dizilim gösteren blastokonidyumlar oluşturur (22). Üreaz pozitifdir. Flukonazol profilaksisi alan immünoyetersiz hastalarda önemli etkindir (6,7).

***C. kefyr:***

Krem renginde, yumuşak krem gibi veya tereyağı kıvamında S tipi düzgün koloni oluşturur. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26 °C’de 72 saat inkübasyon sonunda yalancı hif ve uzun blastospor yapar (6,7). Çoğunlukla blastosporlar yalancı hiften ayrılıp birbirine paralele dizilim gösterirler ve bu görünümleri ile “ırmakta yüzen kütük dizileri”ni andırırlar (Şekil 4) (22). Eski yada sinonim ismi *C. pseudotropicalis*’tir (22).



**Şekil 4:** *C. kefyr*’nin mısır unlu-Tween 80 agarda blastokonidyumların dizilimi

***C. guillermondii:***

S biçiminde, yassı, kıyıları düzgün, krem renginde koloniler yapar, ancak yaşlandıkça koloni renginde pembeleşme görülebilir. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26°C'de 72 saat inkübasyon sonunda küçük maya hücreleri ve az sayıda küçük yalancı hif, bunun etrafında küçük küme yapmış blastokonidyumlar oluşturur (22).

***C. stellatoidea:***

Krem renginde, yumuşak krem gibi veya tereyağı kıvamında düzgün koloni oluşturur. Koloni kıyıları yıldızı anımsatacak biçimde çıkıntılıdır. Mısır unlu-Tween 80 agarda yalancı hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler yapan blastospor ve yalancı hif uçlarında kalın duvarlı, tek veya birkaç tane klamidospor oluşturur (22).

Morfoloji özellikleri gibi biyokimyasal özellikleri de benzerlik gösterir, fakat *C. stellatoidea* sukrozu asimile etmez (7,22). Antijen yapıları bakımından da benzerlik gösterdiğinden *C. stellatoidea* bazı araştırmacılar tarafından *C. albicans*'ın virulan olmayan bir çeşidi olarak kabul edilir (22,23).

***C. dubliniensis:***

Son zamanlarda tanımlanan ve fenotipik olarak *C. albicans* ile çok yakın ilişkisi olan, Özellikle HIV'li hastalarda oral kandidozda flukonazol direnci ile kendini gösteren, yeni gündeme gelen bir türdür.

*C. albicans* ile aynı mikroskopik morfolojiye sahiptir. Germ tüp ve klamidospor oluşturabilir. Ancak klamidosporu çok fazla küme yapmış şekilde olabilmektedir. *C. albicans* ile benzer biyokimyasal özelliğe sahiptir. Ancak ksilozu kullanımı ve methyl-D-glikosidase aktivitesi olumsuzdur. Yine *C. albicans*'tan farklı olarak 45°C'de üreyemez (6,19).

Bazı önemli *Candida* türlerinin mısır unlu-Tween 80 besiyerindeki morfolojileri Tablo 2'de özetlenmiştir (7).



**Tablo 2:** Bazı önemli *Candida* türlerinin mısırunu-Tween 80 agarda morfolojik özellikleri

<i>Candida</i> türü	Mısırunu-Tween 80 agarda morfoloji
<i>C.albibans</i>	Yalancı ve gerçek hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler oluşturmuş yuvarlak blastokonidyumlar ve hif uçlarında türe özgü kalın duvarlı, tek veya birkaç tane klamidospore
<i>C.tropicalis</i>	Yalancı hif boyunca tek tek veya küçük kümeler oluşturmuş yuvarlağımsı blastokonidyumlar; bazen yalancı hif uçlarında klamidospore benzer ancak ince duvarlı yuvarlak ve armut şeklinde hücreler
<i>C.guilliermondii</i>	Az sayıda kısa yalancı hif ve bunların boğumları çevresinde küçük blastosporların oluşturduğu kümeler
<i>C.parapsilosis</i>	Yalancı hif boyunca tek tek veya bazen küçük kümeler yapacak biçimde dizilmiş blastokonidyumlar. Çok önemli bir özelliğı, arada iri hiflerin bulunmasıdır ( <i>dev hücreler</i> ).
<i>C.krusei</i>	Yalancı hifler ve uzun, “ağaca benzer” dizilim gösteren blastokonidyumlar
<i>C.glabrata</i>	Küçük, oval ve uçlarından tomurcuklanan blastokonidyumlar. Yalancı hif oluşturmazlar.
<i>C.kefyr</i>	Yalancı hifler ve uzun blastokonidyumlar. Blastokonidyumlar çoğı kez yalancı hiften ayrılıp birbirine koşut bir dizilim gösterirler ( <i>irmakta yüzen kütük dizileri</i> ).

**2.6. *Candida*'ların Patogenezi:**

*Candida*'lar normal koşullarda, özellikle gastrointestinal sistemde flora elemanı olarak bulunurlar. Bu yüzden *Candida* enfeksiyonları genelde endojen kaynaklıdır (5,23). İnsanların fungal enfeksiyonlara karşı geniş bir konak savunma mekanizması vardır. Deri ve mukoza hasarına yol açan herhangi bir olay etkenin invazyonuna olanak tanırken fagositer hücrelerin sayı ve işlev bozuklukları ile hücresel bağışık yanıttağı değişiklikler de enfeksiyon gelişimini kolaylaştırır (7,23).

Yerleşik floradaki bakteriler, besin maddelerini hızla tüketerek, çevre koşullarını *Candida* 'lar için uygun olmayacak şekilde değıştirir veya toksik maddeler üreterek *Candida* 'ların çoğalmasını engeller (6).

*Candida*'lara karşı yapısal savunma elemanları:

- Polimorf nüveli lökositler (PNL)
- Nötrofil, Bazofil ve Eozinofiller
- Plateletler (Trombosit)
- Makrofajlar ve Retikulo-endotelial sistem (RES) hücreleri
- Lenfositler

- Natural killer (NK) hücreleri
- IgG ve diğer serum öğeleri
- Kompleman
- Histiositler
- Serum demir bağlama proteinleri
- Histidin

PNL'ler mantarların pseudohiflerini parçalama ve fagosite etme; blastosporlarını öldürme yeteneğine sahiptirler. Nötrofiller *Candida*'ları öldürmede PNL'lerden daha etkilidirler (6,23).

Fagositler için daha iyi bir öldürme mekanizması ise kimotripsinik katyonik proteinlerle olmaktadır. Bu proteinler muhtemelen artan membran geçirgenliği ile etkili olmaktadır. Enfeksiyon alanında patojene ilk saldıran hücre nötrofillerdir. Patojenin fagositozu sırasında nötrofiller ekstrasellüler ortama myeloperoksidaz salgılar. Isıya duyarlı ve dirençli opsoninler, nötrofillerin *Candida*'ları fagositozunu kolaylaştırır (6,23).

Plateletler *Candida* hücre duvarı parçalarını aglütine ederek antifungal etki gösterirler (6).

*Candida*'lara karşı korunmada lenfositlerin rolü ve hücrel immunitenin gelişimi kompleks bir konudur ve son zamanlarda geniş bir şekilde tartışılmıştır (6). Kronik Mukokutenöz Kandidozlu (KMK) hastalarda özellikle T lenfosit yanıtta ciddi bir eksiklik vardır. Bunlarda geçikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonu görülür ancak sitokin salınımı bozulmuştur (6).

Deneysel kanıtlar mannan polisakkaritinin lenfosit cevabını etkileyen önemli bir antijen olduğunu göstermiştir. Kronik kandidozda mannoprotein ve manan metabolitleri IL-1, IL-2 ve TNF aktivitesini etkiler (6).

NK hücrelerinin de anti-kandidoz aktivitesi saptanmıştır (6).

Doğal dirençte yer alan bir dizi madde ise serum faktörüdür. İn vitro ortamda *Candida*'ların çoğalmasını inhibe eden ısıya dirençli, proteaz enzimine duyarlı bir serum faktörü belirlenmiştir. "Clumping faktör" olarak tanımlanan bu serum faktörü mantar hücrelerinin kümeleşmesine yol açtığı ve kümeleşme olayının anti-*Candida* antikoru varlığında inhibe olduğu gösterilmiştir (6,23).

Serum demir bağlama proteinleri *Candida*'ların üremesi için gerekli olan demiri bağlayarak etki yapar (6).

Konak savunmasında rol alan bir diğer etmen ise komplemandır. İn vitro ortamda kompleman optimal opsonizasyon için gereklidir. Ayrıca komplemanın 3b (C3b) komponenti *Candida* blastosporlarına bağlanabilmektedir ve *Candida* yüzey molekülleri insan kompleman reseptörlerinden CR2 ve CR3'e benzemektedir. Bunlar özellikle endotel hücreler için adezin görevi görmektedir. Kompleman sistemindeki C5 ve C3 eksikliğinde konağın *C. albicans*'a direnci azalır (6,23).

Histidinden zengin insan ağız salgısındaki 12 çeşit protein içeriği olan histatinlerin, *C. albicans* dahil bazı *Candida*'ların hücre duvarını etkileyerek *in vitro* antifungal aktiviteleri gösterilmiştir (6).

*Candida*'ların glukoprotein yapısındaki toksinleri patojenitede rol oynayan virulans faktörleridir. Bakteri toksinleri gibi pirojen olup hayvanlarda anaflaktik şoka neden olabilir, ancak bakteri toksinleri kadar etkili değildir (6,23). Hidrolitik enzimlerinden fosfolipazlar membran fosfolipidlerini, asit proteinazlar salgısal IgA'yı parçalayarak epitel hücrelerine yapışmada rol oynarlar (6).

Dokuda maya ve hif formunda bulunabilmelerinin (dimorfizmin) de patojenite de yeri vardır. Hif formu dokuya daha kolay yapışır, fagositik hücreler tarafından sindirilemez ve plastik yüzeylere yapışmayı sağlayan fibriler bir tabaka oluşturur (6,24).

Hastanede uzun süreli yatan ve damar içi katater kullanan hastalarda yaygın kandidoz açısından risk altındadır. Deri florasında bulunan, yüzey hidrofobik özelliği ve slime faktör üretimi fazla olan *C. parapsilosis* bu tür hastalarda en fazla karşımıza çıkan tür olmaktadır (6,24).

## **2.7. Enfeksiyona Yol Açan Kolaylaştırıcı Faktörler:**

*C. albicans*'ın sağlıklı bireylerin oral kavitelerinde %25-30, gastrointestinal sistemde %50, vajende %30 oranında kolonizasyon saptanmıştır. İnsanda kommensal olarak bulunan mikroorganizmanın patojen olması için konağın normal savunma mekanizmasının bozulması gereklidir (25). Hücrel immun defektler ve deri maserasyonu mukokutenöz kandidoza neden olabilir (25).

Son yıllarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı artmıştır. Antibiyotikler özellikle gastrointestinal sistemde normal florayı baskılayarak *Candida*'ların çoğalmasına olanak tanır. Örneğin; sülfanomidler *Candida*'ları hücre içinde öldüren nötrofilleri azaltırken; tetrasiklin, doksasiklin ve aminoglikozidler nötrofil fagositozunu azaltırlar.

Diabetes mellitus, prematüre veya düşük doğum ağırlığı, AIDS, abdominal cerrahi girişimler, transplantasyon, neoplastik hastalıklar, ağır yanıklar ve steroid kullanımı kandidoz oluşumunu artırır (16,22,25,26). *Candida*'ların vasküler sisteme girişinde etkili olan faktörler arasında, intravenöz kataterler, eroin kullanımı, polietilen kataterler, aşırı sıvı alınması, basınç cihazları, prostetik kalp kapakları ve yapay kalp sayılabilir (25). Kronik yatağa bağımlı hastalar ve intra venöz narkotik kullanıcılar da kandidoz oluşumu için risk grubudurlar (25).

Antifungal ajanların yaygın kullanımı endojen florayı baskılar. Bunun sonucu daha az virulan fakat daha dirençli non-albicans *Candida* türlerinin enfeksiyonlarına neden olabilirler (25).

## **2.8. *Candida* Enfeksiyonları:**

### **2.8.1. Mukoza Enfeksiyonları:**

#### **Ağız Kandidozu:**

Oral *Candida* enfeksiyonları sıklıkla; Thrush (akut pseudomembranöz kandidoz); oral kandidozun spesifik bir formudur ve dilde, ağız içinde tüm mukozada görülebilir (6,27). Lezyonlar krem beyaz lekelerle karakterize olup sürtme ile kolayca ayrılır, geride kanamalı ve ağrılı bir yüzey bırakılır. Bu lekeler altında *Candida* içeren hasara uğramış epitel hücreleri, lökositler, bakteri, keratin, nekrotik doku ve kan artıklarından oluşmuş pseudomembrandır (28). Thrush'ın çok görüldüğü diğer hastalıklar kanser ve AIDS'tir (27,28).

Kandida enfeksiyonlarında, klasik lezyonlara ek olarak diğer klinik formlar; akut psödomembranöz kandidoz sonucunda oluştuğu düşünülen ve dilin non spesifik atrofi olan akut atrofik kandidoz, ağız köşelerinde inflamatuvar reaksiyon şeklinde gelişen angular cheilitis, yanak dudak ve dilde izlenen, nadiren prekanseröz olabilen *Candida* leukoplakia şeklinde sıralayabiliriz (27,28).

**Genital Kandidoz:**

Vulvovaginitlerin en sık etkenlerinden biri *Candida*'dır (29). Vulvovaginal kandidoz daha çok doğurganlık çağındaki kadınlarda görülür (28). *Candida*, kadınların %15-25'inin vaginasında semptom vermeden bulunur (29). Konağın genel direncini kıran ve/veya vajina florasında değişikliklere neden olan bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında mantar önce üreyip bir kolonizasyon ve ardından enfeksiyon yapar (29).

Kadınların %75'inde hayatın bir döneminde *Candida* vajiniti oluşmuş, ancak çoğunda altta yatan neden saptanamamıştır (28). *Candida* vajinitinde bulgular; beyaz sarımsı kuvvetli akıntı ve vulva da ciddi kaşıntı ile karakterizedir (28,29). Genital kandidoz bazen cinsel ilişki ile bulaşabilir. İnfekte cinsel eşlerin birlikte tedavi görmeleri önemlidir (6).

**2.8.2. Deri Enfeksiyonları:**

Gövde ve ekstremitelerde yaygın erüpsiyonlar ile karakterize yaygın deri kandidozu gelişebilir. Etken çocuk ve erişkinlerde sık olarak izlenen genitokrural bölge, aksilla, eller ve ayaklarda ciddi döküntüler yapabilir (23).

*Candida*'lar peniste; veziküler şeklinde başlayan, lekelere dönüşen ve "thrush"a benzer ciddi kaşıntı ve yanma meydana getiren balanitise neden olabilir (28). Bacak, skrotum, kalçalara yayılabilir (23,28).

**Onikomikoz:**

*Candida*'ya bağlı tırnak enfeksiyonu ellerde daha sık görülür. Tırnak ile birlikte çevresindeki yumuşak dokunun da enfekte olması karakteristiktir (paroniki) (23). Yumuşak doku kızarıklık, ödemli olup piyojenik bir enfeksiyon görünümü verir. Harap olan tırnak zamanla düşebilir (28). Tırnak kandidozunda da nem önemli bir predispozan faktördür (6,23).

**Kronik Muko-Kutenöz Kandidoz (KMK):**

Genellikle erken çocukluk döneminde başlayan, hücrel immün yetmezlik ve endokrinopatilerle ilişkili bir hastalıktır (6,23). Konjenital endokrinopatiler veya hücrel bağışıklık sistemindeki bozukluklara bağımlı olarak ortaya çıkan ve saçlı deri; ayaklar, yüz öncelikli olmak üzere; bazen tırnak ve parmak uçlarını da tutan bir

enfeksiyondur (23). Hayatın ilk üç yılında gelişebilir; ve nadiren derin bir enfeksiyondur (30).

### **2.8.3. Derin/Sistemik Enfeksiyonlar:**

Derin/ Sistemik kandidoz, kandidemiye izler. Kandidemiye neden olan faktörler; santral damar kataterleri, cerrahi girişimler, aspirasyon, deri veya gastro-intestinal mukozadaki harabiyet ve damar içi narkotik madde kullanımındır (30).

#### **Kandidemi:**

Kanıtlanmış organ tutulumu olmaksızın bir yada daha fazla kan kültürlerinde *Candida* üremesi demektir (23,31). En sık belirtisi yüksek ateştir. Önceleri kandidemi, kontamine kataterle ilişkili ve geçici bir durum olarak değerlendirilirken; *Candida*'ya bağlı mortalitenin %40 olduğunun belirlenmesi, kandideminin önemini göstermiştir (32). Dahası; ciddi organ tutulumu olanların yaklaşık %50'sinde kandidemi saptanamayabilir.

Öte yandan kan kültürü (+) çıkanların hepsine derin enfeksiyon olduğu iddia edilemezse de kanında *Candida* saptanan hastalar, gerek enfeksiyonun akut etkilerini gerekse uzun dönemli sekellerini önlemek üzere tedavi edilmelidir (30-32).

#### **Menenjit:**

Dissemine kandidozun bir belirtisi olarak yada bağımsız bir klinik tablo şeklinde gelişebilir. Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde veya ventriküloperitoneal şanti bulunan hastalarda, hematogen yayılım sonucu yada bir travma ile mantarın doğrudan subdural bölgeye inokülasyonuna bağlı olarak ortaya çıkar (6,23).

*Candida* menenjitli hastaların hemen hepsinde Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)'nda pleositoz vardır. Olguların %90'ında sorumlu patojen *C. albicans*'tır. Ayrıca *C. tropicalis* enfeksiyonlarına da rastlanmaktadır (6).

*Candida* hem parankimal beyin dokusu hem de meninksleri tutar. Genellikle dissemine kandidozun komplikasyonu olarak santral sinir sistemi kandidozu gelişebilir (23).

**Pulmoner Kandidoz:**

Solunum sistemi kandidozu kandidal pnömonisi olarak karşımıza çıkar. *Candida* pnömonisi sıklıkla lokal veya nodüler diffüz infiltratlar şeklinde olarak iki formda görülür. Lokal diffüz bronkopnömoni; etkenin akciğerlerde endobronşial inokülasyonu ile olur. Nodüler yapıda infiltratlar ise hematojen yolla yayılır. Özellikle ağır hastalarda solunum sisteminde maya kolonizasyonunun yüksek oranda görülmesi nedeniyle tanı yalnız balgamda mayaların gösterilmesi ile tek başına konulamaz (6,23) .

**Dissemine Kandidoz (DK):**

DK en sık neoplastik hastalar, yanıklı hastalar, postoperatif komplikasyonlu hastalar (transplantasyon kalp cerrahisi, GİS cerrahisi geçirenler) da görülür. En sık tutulan organlar böbrek, beyin, myokard, göz, immunosupresyon uygulanan hastalarda karaciğer ve dalaktır. DK tanısı ancak %15-40 hastada, yeterli tedaviye izin verecek kadar erken konabilir. Erken tanı için serolojik testlerin değeri tartışmalıdır. Kesin tanı ise histopatolojik yöntemlerle konur (23).

**Gastrointestinal (GİS) Kandidoz:**

Ender bir klinik tablodur. En çok ağır durumundaki kanser hastalarında, AIDS'lilerde görülür. Mukozada ülserler oluşur. Yeni doğanlarda *C.albicans*'a bağlı diyareler olabilmektedir (6,23).

**Üriner Sistem Enfeksiyonları:**

Ürogenital kandidozlar; *Candida* türlerinin üst ve alt idrar yolu ve genital yolda oluşturduğu enfeksiyonlardır. Ürogenital sistemde kandidoz daha çok böbrekler, mesane, üretra, penis ve vulvo-vaginada görülür; prostat gibi sistemin diğer organlarında ender olarak rastlanır (6,23).

Diabetes mellitus, uzun süreli antibiyotik kullanımı, Foley katater ve üriner sistemde diğer yabancı cisimlerin varlığı risk faktörleridir (16,22,26). Sonda kullanımına bağlı kandidüri genellikle antifungal ilaç kullanılmadan kendiliğinden geçer (33). Ancak böbrek transplantasyonu yapılmış hastalar, nötropenik olgular, çok

düşük doğum kilolu bebekler ve idrar yolu manipülasyonu geçirenlerdeki kandidüri antifungal sağaltım gerektirir (33).

#### **2.8.4. Allerjik Hastalıklar:**

Klinikte kandidid olarak bilinen ve *Candida* metabolitlerine bağlı olan allerji, iyi tanımlanmış bir fenomendir. Lezyonlar dermatofitlerdeki klinik görünüm, morfolojisi ve yayılımı andırır. Erken veya geç hipersensivite yapabilir (34). *Candida*'nın hipersensivite uyaran diğer sendromlardaki rolü iyi tanımlanmıştır. Olasılıkla *Candida*'nın bronş kolonizasyonu veya daha önce hasar görmüş yada normal florada organizmanın aşırı çoğalması toksisite ve alerji belirtileriyle ortaya çıkabilir (34).

#### **2.9. Epidemiyoloji:**

*Candida*'lar doğada yaygın olarak bulunan mantarlardır. Bunlardan bir bölümü insan ve hayvanlarda kommensal olarak bulunabilir (35).

*Candida* türlerinin insan florasındaki yerleşim ve dağılımı değişik özellikler gösterir (35-37). Deri florasında *C. albicans* pek sık bulunmaz, daha çok nemli kat yerlerinde olmak üzere *C. parapsilosis*, *C. gullermondii*'ye rastlanır (5). Sıkı giyim ve lokal antibiyotik kullanımı *Candida* kolonizasyonunu arttırır (37). *C. albicans*'ın deride bulunabileceği yerler daha çok ağız çevresi, anorektal bölge gibi mukokutenöz birleşme yerleri ve parmak aralarıdır (36).

Sağlıklı bireylerin ağızda %30, jejunum ve ileumda %55 ve gaitada %65 oranında *Candida* türlerine rastlanmıştır.

Ağız florasında en çok bulunan tür *C. albicans* (%75) olup bunu *C. tropicalis* (%8), *C. krusei* (%3-6) ve *C. glabrata* (%2-6) izler (36). Ağız hijyenin bozulması, diş protezi uygulanması, sigara içilmesi durumlarında ve diyabetik hastalarda sayıları artar (36,37).

Anorektal ve dışkı florasındaki *Candida*'ların %50'sini *C. albicans*, %20'sini de *C. tropicalis* ve *C. glabrata* oluşturur. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süre kullanılması, *Candida*'ların GİS kolonizasyonunu arttırır. Sindirim sistemindeki *Candida*'ların sayısı üzerinde diyet, sindirim sistemindeki bakteri florası ve laktik asitin etkisi vardır (38).



Gebe olmayan kadınların %5-11'inde, gebe olmayan ve vajinal akıntısı olan kadınların %18'inde, oral kontraseptif kullanan kadınların %20-30'unda ve gebe kadınların %30'unda vajinal *Candida* kolonizasyonu vardır (5,36). En sık *C. albicans* olmak üzere sıklık sırasına göre *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* izole edilir. Genital kandidozda, eşler arası bulaş söz konusudur (29).

*Candida* vajiniti olan kadınlardan doğan bebeklerde henüz ağız bakteri florası yerleşmediğinden az sayıdaki *Candida* bile pamukçuk oluşturabilir. Yeni doğanda pamukçuk oranı annenin durumuna da bağlı olarak %4-18 arasındadır (7,36). *Candida* enfeksiyonları çoğunlukla endojen orijinli olmalarına rağmen insandan insana geçişde söz konusudur. Örneğin, yeni doğan pamukçuğu maternal vajenden bulaşabilmektedir (37,39).

*Candida* enfeksiyonlarının hastaneden kazanıldığını gösteren çalışmalar da vardır (34). Bu olgularda bulaş hastadan hastaya, hastane personelinin kontamine olmuş elleri ve kontamine olmuş tıbbi gereçler ile gerçekleşir (39,40). Nosokomial fungal enfeksiyonlarında her ne kadar *C.albicans* en sık izole edilen tür olsa da, son zamanlarda non albicans *Candida* türlerinde oranı artmıştır (38,41,42).

## 2.10. *Candida* Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı:

Diğer mikrobiyal enfeksiyonlarda olduğu gibi *Candida* enfeksiyonlarının tanısı klinik bulgular ve laboratuvar sonuçlarının birlikte değerlendirilmesine bağlıdır (20,43).

Kandidozların laboratuvar tanısında;

- Klinik örneklerin direkt mikroskopik incelenmesi
- Kan, vücut sıvıları, dokular veya diğer bölgelerden alınan örneklerden *Candida* türlerinin soyutlanması
- *Candida* türünün belirlenmesi
- Doku örneklerinde *Candida* benzeri mikroorganizma saptandığında bunun doğrulanması gerekmektedir.

Tanıda ilk aşamada klinisyenin rolü önemlidir. Klinisyenin öncelikle enfeksiyonu temsil edecek doğru örneği almalıdır (20). Mayalar; deri, mukozlar, tırnak, balgam, bronko-alveolar lavaj sıvısı, idrar, beyin-omurilik sıvısı (BOS), kan, biyopsi ve nekropsi örneklerinden soyutlanabilirler (20,43,44).

Deri ve mukoza kandidozlarının tanısında en önemli işlem klinik örneğin mikroskopik incelenmesidir. Bu amaçla %10-30 arasındaki konsantrasyonlarda potasyum hidroksit (KOH) kullanılmalıdır. Hazırlanan KOH preparasyonunda tomurcuklanan blastosporların yanında pseudohiflerin de görülmesi, tanıda kültürden daha değerlidir (20,43,44).

Tırnak kandidozunun klinik görünümü tipik olmakla birlikte klinik tanıyı desteklemek amacıyla mikroskopik inceleme gereklidir. Şişmiş periungual bölgeden tırnağa hafifçe baskı uygulanarak irin veya nemlendirilmiş eküvyonla alınan örnekler inceleme için uygundur. (20,43,44).

Solunum yolu kandidozlarında, balgam ve bronşiyal sekresyonlarda örneğin santrifüjlendikten sonra incelenmesi uygun olur. Müşini parçalamak amacıyla örneğin homojenize edilmesi duyarlılığı daha da artırır. Solunum örneklerinin pankreatik enzimler veya N-asetil sistein ile alınması *Candida*'ların hem mikroskopik incelemede görülmesi hem de kültürde üremesini kolaylaştırır. Bronkoskopi yolu ile alınan bronş sekresyonları kolonizasyonu veya enfeksiyonu belirleme açısından daha güvenilir örneklerdir (20,43,44).

Kandidemilerin tanısında *Candida* türlerinin kandan soyutlanması derin kandidozların tanısında da laboratuvarların en önemli stratejisini oluşturur. Derin kandidoz kuşkusu olan tüm hastalardan kan kültürü yapılmalıdır. Bunlarla birlikte çoğu kez *Candida*'ların üretilmesi için kültürün birkaç kez alınması gereklidir. Kan hem damar kataterinden hem de venden alınmalıdır. Yaygın kandidozlu nötropenik hastaların bile ancak %50'sinde kan kültürleri olumludur. Son yıllara kadar kan kültürlerinden *Candida* üretilmesi deri kontaminasyonu olarak yorumlanmaktaydı. Ancak, ikinci kan kültürlerinde *Candida* üremesinin beklenmesi hayat kurtarıcı sağaltımı geciktirdiğinden, günümüzde *Candida* üreten her kan kültürü aksi kanıtlanıncaya kadar kandidemi olarak değerlendirilmektedir (43,44).

Kan örneğinden mayanın saptanması amacıyla kullanılan en duyarlı yöntem Lysis santrifügasyon yöntemidir (20,44). Kültür amacıyla alınacak kan miktarı en kritik faktördür ve 8-10 ml (yeni doğanlar için 1-2 ml) olması önerilmektedir (20).

Damar içi kataterler kandideminin en önemli kaynaklardan biridir. Damar içi katater *Candida*'ların giriş kapısı olabildiği gibi başka bir odaktan, özellikle GIS'den

dolaşıma geçen *Candida*'lar için de hedef oluşturabilirler. Katater çekildiğinde ucundaki 5 cm'lik parça incelenmek için laboratuvara gönderilmelidir (20,43,44,51).

Ağız kandidozunun klinik görünümü genelde özgündür. Ancak, bazen başka klinik tablolar ile karışabilir. Bu nedenle lezyonlardan eküvyonla veya mukoza kazıntısı şeklinde alınan örneklerin direkt incelenmesinde *Candida*'ların görülmesi ve kültürde görülmesi ile klinik tanı desteklenmektedir (20,43).

Vajinal kandidozların tipik klinik semptom ve bulgular ve mantarların örneklerde gösterilmesi ve/veya kültürde üretilmesi ile konulur. Mantarların klinik örnekte gösterilmesinin tanı duyarlılığı ve güvenilirliği %40, kültürlerde üretilmesinin ise %90'dır. Sürüntü örnekte gösterilmesi vagina yan duvarlarından alınmalı ve transport besiyerinde laboratuvara gönderilmelidir (3,20,44).

İdrar yolu kandidozlarının tanısında, üreter katateri olmayan bir hastanın idrarından *Candida* üretilmesi sıklıkla ciddi bir enfeksiyonun göstergesidir. Küçük çocuklarda en iyi idrar örneği subrapubik idrardır (43,44). Yaygın kandidozun göstergesi olması açısından, idrardan *C. tropicalis*'in soyutlanması, *C. albicans*'ın soyutlanmasından daha önemlidir (20).

Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarının tanısında BOS'tan *Candida* soyutlanması menajit tanısı için güvenli bir sonuç sağlar, ancak sıklıkla çok miktarda BOS ile kültürlerin tekrarlanması gerekir (44).

### **2.10.1. *Candida* Türlerinin İdentifikasyonu:**

Kan, BOS, sinoviyal sıvı gibi steril bölgeden soyutlanan mayalar laboratuvarında tanımlanmalı veya bir referans laboratuvara gönderilmelidir. Klinik örneklerden soyutlanan mayaların yaklaşık %70-80'i *C. albicans*'tır. Normalde germ tüp testi olumlu ise daha ileri identifikasyon gerekmemektedir.

*Candida* türlerinin geleneksel identifikasyonu morfolojik ve biyokimyasal özellikleri temel alınarak yapılır (20). Bunlar;

- Kolonilerin ilk üretilme besiyerindeki görünümü ve rengi
- Hücrelerin büyüklüğü ve şekli
- Hif ve/veya pseudohif oluşumu
- Germ tüp oluşturma yeteneği
- Klamidospor oluşturma yeteneği

- Nitrat asimilasyon
- Şeker fermantasyonu
- Karbohidrat asimilasyon
- Üreaz testi

Geleneksel yöntemlerin bazıları, özellikle biyokimyasal testler zor ve zaman alıcıdır. Ayrıca birçok hızlı tanı sistemi geliştirilmiş ve ticari olarak mikrobiyoloji laboratuvarına sunulmuştur (44).

*Candida* türleri, genelde SDA, koyun kanlı agar, at kanlı agar gibi rutinde kullanılan mikolojik ve bakteriyolojik besiyerlerinde iyi ürerler. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* gibi bazı türler sikloheksimid varlığında ürerler. SDA'da 25 °C ve 37 °C'de üremiş *Candida* kolonileri, beyazdan bej renge ve S tipinden buruşuk yapılı kolonilere kadar değişen renk ve yapıda olabilirler (19,20).

Karışık örneklerdeki değişik *Candida* türleri, kromojenik maddeler içeren CHROMagar besiyerinde birbirinden ayrılırlar. CHROMagar'da 37 °C'de 48 saatlik inkübasyonundan sonra *C. albicans* açık mavi-yeşil, *C. dubliniensis* koyu yeşil, diğer türleri ise pembe veya mor koloniler oluştururlar (45-49).

#### **Klamidospor oluşturma:**

Czapek dox, pirinç unu veya mısır unu agar besiyerlerinden birisine test edilen maya kolonisinden bir parça alınıp iğne öze ile birbirine paralel çizgiler şeklinde ekim yapılır. Kapatılan lamelin ortamın oksijenini azaltması ve Tween 80'in yüzey gerilimini düşürmesi klamidospor ve pseudohif üretimini artırır (18,50).

*C. albicans* kökenlerinde terminal veya kısa dallar üzerinde; iri, aşırı kırılğan, kalın duvarlı klamidosporlar görülür. *C. albicans* kökenlerinin %60'ı klamidospor oluştururlar (19). Uzun yıllar sadece *C. albicans*'in tanımlanmasında kullanılmış olan mısır unlu agarda diğer maya türleri de mikroskopik morfolojik özelliklerine göre tanımlanabilmektedir (Tablo 2) (18).

#### **Germ tüp Oluşturma:**

Germ tüp testi *C. albicans*'in tanısında hızlı bir testtir ve hem primer hem de saf kültürlerden yapılabilir. *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in %95-97'sinde olumludur

(19,20). *C. stellatoidea* da germ tüp üretir. *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*'de pseudo germ tüp oluŐunu gözlenebilir (19,20).

Germ tüp, blastospordan orijin alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca hiç kabarıklık yapmayan bir filament olarak gözlenir. Pseudo-germ tüp ise daha büyük bir blastospor vardır ve hif ile bağlantı bölgesinin daha belirgin olduğu gözlenir (19,20).

Germ tüp testi için insan serumu, yumurta albumini, koagüle tavŐan plazması, koyun serumu, Tripticase Soy Broth (BBL) besiyeri kullanılabilir. Rutinde en sık insan serumu tercih edilir (46).

### ***Candida* Türlerinin Dokuda Histopatolojik Görünümü:**

*Candida* türleri doku kesitlerinde maya hücresi ve pseudohifler yada sadece maya hücreleri Şeklinde g r l rl r. *C. albicans* diğer mayalardan, maya hücreleri yanında hif ve/veya pseudohiflerin de görülmesi ile ayrılır. Maya hücreleri tek tek veya çok sayıda tomurcuklanma gösteren, yuvarlak veya oval, 4-8  m boyutlu hücrelerdir (20).

### **Kandidozların Serolojik Tanısı:**

Özellikle invaziv kandidozların klinik ve mikroskobik tanısında yaŐanan sorunlar kültür dışındaki tanı yöntemlerinin geliŐtirilmesini hızlandırmıŐtır. Son yıllarda hasta serumu ve vücut sıvılarında anti-*Candida* antikorlarını, *Candida* antijenlerini, metabolitlerini ve hücre duvarı komponentlerini saptayan testler geliştirilmiştir. Bu testler özel hasta gruplarında fungeminin doğrulanmasında yardımcıdır (20).

Erken tanı amaçlı antijen ve antikor testleri ile çoğu zaman negatif sonuçlar alınmaktadır. Antikor aramada mannan ve somatik antijenler kullanılır (7,20). Ancak mukozadaki kolonizasyon veya yüzeyel enfeksiyonlara bağlı oluşan antikorlarla derin kandidozda oluşan antikorlar ayırt edilemezler. IgG antikorları, IgM antikorlarından kısa bir süre sonra ortaya çıkar, yaklaşık 6-12 haftada pik yapar ve enfeksiyondan aylar sonra pozitif kalır. Bu nedenle tek bir defa yüksek bulunmuŐ

IgG titresi yeni veya geçirilmiş enfeksiyonun ayırımında kullanılmaz. Bu durum antikor arama yöntemiyle kandidoz tanısını güçleştirir. Bu yüzden antijen arama daha güvenlidir. Antijen ve antikor arama testleri çok sık yinelenmelidir (7,20).

Yoğun bakım hastalarında ve organ nakilli hastalarda invaziv kandidozun tanısı amacıyla moleküler ve serolojik yöntemlerin karşılaştırıldığı ve sadece serolojik incelemelerinin yapıldığı çalışmalarda hiçbir yöntemin tek başına tanıya yeterli olmadığı bildirilmiştir. Mukozaların *Candida*'larla özellikle *C. albicans* ile kolonizasyonu, antifungal sağaltım gerektirecek kandidemi ve doku invazyonundan ayırabilecek tek bir tanı yönteminin bulunması çağımızın sihirli değneği olacaktır (20,51).

### **Moleküler Biyolojik Yöntemler:**

Yeni çalışmalar, mantar dizilerine özgü DNA dizilerini klinik örneklerden saptama yöntemlerinin mantarların tanısına uygun ve etkin olduğunu ancak yeterli olmadığını göstermektedir (52-54). Mantar epidemiyoloji ile ilgili çalışmalarda moleküler yöntemler başarıyla uygulanmaktadır (51).

*Candida* hücresi 500-4500 kilobaz çifti uzunluğunda 5-14 genomik DNA molekülüne sahiptir (51,54). Bir çok DNA molekülünden sadece birinin bütün sekanslarını belirleme uzun zaman alır. Bu nedenle son yıllarda DNA ve RNA moleküllerinin karşılaştırılmasına dayanan yöntemler geliştirilmiştir (51,53). Testlerde nDNA (nükleer DNA), mtDNA (mitokondrial DNA) ve total DNA kullanılmaktadır (54).

### **2.11. Tedavi:**

Son yıllarda artan kemoterapi gereksinimi ve transplantasyon gibi tedavilere paralel olarak nozokomiyal *Candida* enfeksiyonları insidansı artmıştır (26,55). *Candida* türleri kan kültürlerinden üretilen patojenler arasında ABD hastanelerinde üçüncü

veya dördüncü sırayı almaktadır. Antifungal tedaviye rağmen kandidemilerde mortalite oranı artmıştır (56).

Mantar hücreleri ökaryotik yapıda olduğundan memeli hücre yapısına çok benzerler. Bu durum protein, DNA ve RNA biyosentezini inhibe eden antifungal ilaçların insanlar için toksik özellikte olması ve sonuç olarak bu alandaki ilerlemelerin yavaşlamasına yol açmaktadır (57). Antifungal ilaç gelişimi için son yıllarda birçok çalışma yapılmasına karşın henüz dokuz ilaç lisans alabilmiştir. Bunlar (57);

**1-Polyen grubu:** Amp-B ve lipit formülasyonları (Polyen amfoterisin-B, Lipozomal amfoterisin-B, Amfoterisin-B lipid kompleks, Amfoterisin-B kolloidal dispersiyon), Nistatin

**2-Azoller:** Triazoller: Flukonazol, Itrakonazol,

İmidazoller: Ketokonazol, Mikonazol

**3- Primidin sentezi inhibitörleri:** Flusitozin

**4- Ekinokandinler:** Silofungin, Anidulofungin, Kaspofungin, FK463

Tablo 3’de (56,57) klinikte sık kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları özetlenmiştir.

**Tablo 3:** Klinikte sık kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları

Antifungal Ajan	Etki Mekanizması
<b>Poliyenler:</b> Polyen Amfoterisin-B Lipozomal amfoterisin-B Amfoterisin-B lipid kompleks Amfoterisin-B colloidal dispersiyon	Mantar hücre duvarı ergosteroline bağlanarak hücre duvarı geçirgenliğini artırır. Özellikle hücre içi K <sup>+</sup> kaybı hücre canlılığının yitirilmesine neden olur.
<b>Primidin Sentezi İnhibitörleri:</b> 5-Flusitozin	RNA ve DNA sentez inhibisyonu yapar.
<b>İmidazoller:</b> Mikonazol Ketokonazol	Sitokrom P450’nin hem kısmına bağlanarak lanosterolün $\alpha$ -demetilasyonunu inhibe ederek ergosterol sentezini inhibe eder.
<b>Triazoller:</b> Flukonazol Itrakonazol	İmidazollerle aynı

Terbinafin	Squalen epoksidaz inhibitörü
------------	------------------------------

### 2.11.1. Polyen Grubu Antifungaller:

#### Amfoterisin-B (Amp-B):

Doğal olarak *Streptomyces nodulus*'tan elde edilmektedir. 1950'li yıllarda kandidemi, aspergilloz ve mukormikoz tedavilerinde kullanılmaya başlanmıştır (56,57). Işık , ısı ve asit pH aktivitesini azaltır (57).

Amp-B fungal hücre membranındaki ergesterole geri dönüşümsüz olarak bağlanıp porlar oluşturarak ve hücre zarının geçirgenliğini bozarak etki gösterir (56,58). Direk membran toksisitesi oksidatif hasarına bağlıdır ve fungusidaldir (58). Amp-B fungus hücre duvarı yapısındaki ergesterolün yanı sıra memeli hücre membranında bulunan ve membran stabilitesini sağlayan kolestrerole de bağlanır. Bunun sonucu tedavideki kullanımlarında yan etkiler oluşur (58).

Amp-B'nin lipoid ve lipid kompleks formları derin yerleşimli fungal enfeksiyonlarda amp-B'nin kullanımını arttırmak ve toksisitesini azaltmak için geliştirilmiştir (56,59,60). Bu preparatlar fungus hücreleri için selektif toksisiteye sahiptir, fakat memeli hücrelerine toksik etki yoktur (60). Amp-B'nin kompleks preparatlarını Amfotericin-B Colloidal Disporsiyon (ABCD), Amfotericin-B Lipid Kompleks (ABLK), Lipozomal Amfoterisin-B şeklinde sıralayabiliriz (60,61).

Amp-B başlıca sistemik mikozlar, kandidoz, blastomikoz, histoplazmoz, koksidomikoz, sporotrikoz, kriptokokkoz ve mukormikoz sağaltımında etkilidir (59).

#### Nistatin:

Mukoza ve deri kandidozlarının tedavisinde lokal olarak kullanılabilir (62). Nistatinin GİS'ten emilimi çok az olduğundan sistemik toksik etkisi bulunmaz. Bu nedenle özellikle GİS ve vajinal kolonizasyonun kaldırılmasında uygun bir ajan olarak kullanılabilir. *Candida*'lara karşı düşük oranda nistatin direnci gelişebilir (62).

### 2.11.2. Azoller:

1960'ların sonlarında antifungal terapi için klinik kullanıma sunulmuştur. Azollerden bugüne kadar dört adeti (Mikonazol, Ketokonazol, Itrakonazol, Flukonazol) sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde klinik onay almıştır (55).



Azoller sitokrom P-450 bağımlı enzimi inhibe ederler. Bu inhibisyon ergosterol sentezinde ilk ara ürün olan 14- $\alpha$ -metil sterollerin birikmesine neden olur (57). Bunun sonucunda ergestrol sentezi bozulur ve fungal hücre membranındaki ergestrol tükenir (56). Fungal hücre permeabilitesi artar ve büyümesi engellenir. Genelde azoller özellikle triazoller Amp-B'ye alternatif olarak sistemik *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde güvenli ve etkin olarak kullanılmaktadır. Azollerle tedavi sırasında *Candida* türleri direnç açısından sorun oluşturabilirler (56).

#### **A. Triazoller:**

##### **Flukonazol:**

1990 yılında klinik kullanıma girmiştir. Flukonazol küçük molekülü, suda çözünebilen, kolay absorbe olan ve plazma proteinlerine düşük oranda bağlanan bir yapıdadır (56,57).

Klinik olarak; *Candida* türlerinin (*C. krusei*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* hariç), *Cryptococcus neoformans*'ın ve *Coccidioides immitis*'in neden olduğu enfeksiyonlarda kullanılır (59,63).

Flukonazol kandidoz tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Oral ve genital kandidozlu AIDS hastalarında uzun süreli Flukonazol kullanımında ilaca karşı direnç geliştiği gözlenmiştir (50,56). Direnç oluşumunda fungal hücre duvar permeabilitesindeki değişiklikler, aktif efflüks pompasındaki değişiklikler ve sitokrom P-450 enzimidaki mutasyonlar değişikliklerin rol oynadığı ileri sürülmektedir (57,64). Direnç, suşların transport genlerinin mRNA düzeyindeki artışı ve flukonazol toplanmasının başarısızlığı ile sonuçlanmaktadır. Fungal hücre duvar permeabilitesindeki değişime bağlı olarak ilaç penetrasyonu azalmaktadır (55).

##### **Itrakonazol:**

Lipofilik özelliği, dokulara iyi dağılımı, iyi oral absorpsiyonu ve serumda yarılanma ömrünün uzun oluşuyla karakterizedir (55). Ketokonazole ve flukonazole göre 8-12 kez daha aktif bir azol bileşiğidir (57,64). Yarılanma ömrü 20-40 saattir. Bazal tabakaya geçerek 3-4 hafta kadar deride sabit bir şekilde durur (55).

Klinik olarak daha çok *Aspergillus* enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Ayrıca *Candida* türleri, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* enfeksiyonlarında kullanılabilir (10,56,59).

## **B. İmidazoller:**

### **Ketokonazol:**

1977’de klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır. GİS’ten emilimi için pH değerinin asidik olması gerekir (55). Amp-B’ye alternatif olarak sistemik olmayan, mukokutanöz kandidoz, histoplazmoz, blastomikoz ve parakoksidomikoz tedavisinde kullanılabilir (10,59).

### **Mikonazol:**

1970’te kullanılmaya başlanmıştır. Sistemik fungal enfeksiyonlarının tedavisinde intravenöz olarak kullanılan ilk azoldür (57). Toksisitesinin yüksek olması ve yüksek relaps oranları nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Çocuklardaki kriptokkal menenjit ve koksidual menenjitlerde sınırlı olarak kullanılabilir (55).

*Candida* türleri, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplazma capsulatum* enfeksiyonlarında etkilidir (55).

### **2.11.3. Primidin Sentezi İnhibitörleri:**

#### **Flusitozin (5-FC):**

Bir antitümör ajanı olarak keşfedilmiştir. Fungostatik etkilidir (29). Ancak tedavide tek ilaç kullanımına yaygın olarak direnç geliştirmektedir. Bu yüzden tedavide kullanımı sınırlıdır (40).

Klinik olarak persistan kandidemilerde, derin doku kandidozlarında Amp-B ile kombine kullanımı tedavide etkili olmuştur (21). Flusitozin’in etki tarzı timidilat sentatazi inhibe ederek fungal DNA oluşumunu engellemesidir (24).

### **2.11.4. Ekinokandinler:**

1970’li yıllarda geliştirilen ilk ekinokandin Silofungin’dir (57). Çözücüsünün (polietilen glikol) toksik etkilerinden dolayı kullanımdan kaldırılmıştır. 1980-1990’lı yıllarda suda çözünen Anidulofungin, Kaspofungin ve FK463 geliştirilmiştir (64).

Asetilenmiş siklik hekzapeptid yapısındadır. Mannan sentezi ve nükleik asitler etkilenmeden,  $\beta$ -(1-3) gluklan sentetaz enzimi inhibe olur (57). Ergosterol ve lanosterol bileşimi azalan hücre duvarında kitin ise artar. Bu hücre duvarı

kalınlaşmış, tomurcuklu ama tomurcukların ana hücreden ayrılmadığı, hızla yıkıma giden bir hücredir (63).

Etki spektrumları dardır. *Candida*, *Aspergillus* türleri ve *Pneumocystis carinii*'ye karşı fungisid aktiviteli lipopeptidlerdir (65). Azollere karşı dirençli *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde, güvenilir ve etkin bir seçenek olarak kullanılabilir (65).

### **2.11.5. Yeni Antifungaller:**

#### **Vorikonazole:**

Voriconazole kuşak azollerden olup maya türü mantarlarda in vitro yüksek aktiviteye sahiptir. Voriconazole, fluconazole ajanının sentetik derivativesidir (66). Fluconazole'in triazole halkasına bir pirimidin ve  $\alpha$ -metil grup eklenmesi ile elde edilmiştir ve fluconazole ile karşılaştırıldığında daha geniş aktiviteye sahiptir (58,66,67).

Diğer tüm azol türü ajanlarda olduğu gibi voriconazolede de mekanizma aynıdır. Mantar hücre membranında ergastrol sentezini sağlayan cytokrom P450 (CYP450)- 14- $\alpha$ -lonasterol dimetilinin inhibisyonu sağlayarak etki gösterir (67).

İnvasiv Aspergilloz ve bir çok *Scedosporium/Pseudallesheria* ve *Fusarium* enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olarak kullanılmaktadır (60,67). Bu ilacın etkisi fluconazole'den daha iyidir (60,67).

#### **Lipozomal Nistatin:**

Lipozomal Nistatin Anorex Pharmaceuticals tarafından geliştirilmiş, başta *Candida* türleri olmak üzere, *C. neoformans* ve *Aspergillus* türlerine de etkili bir antifungaldir. Nistatin normalde oral olarak emilmemekte ve parantral olarak ciddi toksik reaksiyonlar geliştirmektedir. Dimisterol gliserol içeren lipozomlara bağlanarak toksik etkisi azaltılmıştır (60,67). Lipozomal Nistatinin etki mekanizması nistatin ile aynıdır. Lipozomlar nedeniyle RES hücrelerine giriş ve enfeksiyon bölgesine taşınması nistatinden daha kolaydır (67,67).

#### **Terbinafin:**

1990'lı yılların sonunda kullanıma geçen bir antifungaldir. Ergosterol sentezini

squalen epoksidazı inhibe ederek engeller, böylece hücre zarında skualen oksitleri birikir (10,66). Sonuçta hücre zarında ergosterol yoksunluğu gelişir (66). Dar spektrumludur. Lipofilik yapıdaki terbinafin dermis, epidermis ve yağ dokusunda yoğunlaşır (66).

### **2.12. Antifungal Duyarlılık Testleri (ADT):**

Son yıllarda mayalara bağlı enfeksiyonlarda artış olması ve özellikle bazı dirençli *Candida* türlerinin daha sık olarak karşımıza çıkmasının yanında, sağaltımda kullanılabilen yeni ajanların üretilmesi ve antifungal direncin bildirilmesi nedeniyle, ADT'leri hasta sağlığının önemli bir komponenti haline gelmiştir (68,69).

Bu nokta da; antifungal ajanların aktivitelerini güvenilir biçimde , *in vivo* aktivite ile paralel ve sağaltım sonuçlarını ölçebilen, duyarlı mikroorganizma topluluğu içinde dirençli suşların gelişimini saptayabilen ve yeni üretilen ajanların sağaltım güçlerini değerlendirebilen testlere gereksinim ortaya çıkmaktadır (68-71).

NCCLS'nin mayalar için duyarlılık testi geliştirmesinden önce MİK sonuçları güvenilir değildi. ADT sonuçları (inokulum miktarı, inkübasyon ısı ve süresi, besiyeri, pH, MİK son nokta tayini gibi) testte kullanılan teknik ile incelenen fungusun ve antifungal ajanın özellikleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Bu nedenle ADT standardizasyona ilişkin çalışmalar önem kazanmıştır.

ADT geliştirilmesi ve standardizasyonu için 1982 yılında NCCLS bünyesinde ADT alt komitesi kurulmuştur. Bu komite bir çok laboratuvarla yaptığı ortak çalışmalar sonucunda mayalar için makrodilüsyon yöntemini standart referans yöntem olarak önermişlerdir. Böylece, NCCLS ADT'in standardizasyon çalışmalarını ortak bir görüş olarak M27-P, M27-T ve M27-A belgeleri ile yayınlamışlardır (Tablo 4) (4,26,68,71).

Zaman alıcı, pahalı, rutinde uygulanımı zor bir yöntem olan makrodilüsyon yöntemi daha kullanışlı, kolay, pratik olan, mikrodilüsyon ve E test gibi klinik testler için alt yapı oluşturmuştur.

Tablo 4’de M27 ADT’in temel prensipleri özetlenmiştir (4,68,69).

**Tablo 4:** NCCLS M27 antifungal duyarlılık testi yönteminin temel prensipleri

Özellik	Standart
Yöntem (M27-T)	Makrodilüsyon (Son hacim 1 ml) Mikrodilüsyon (Son hacim 200 µg/ml)
İnokulum Hazırlanması	0,5 McFarland bulanıklık standardına göre spektrofotometrik ölçüm ile
İnokulum Konsantrasyonu	0,5-2,5 x 10 <sup>3</sup> maya hücresi/ml
Besiyeri	RPMI 1640
Tampon	Morfolinopropansülfonik asit (MOPS) 0,165 M
pH	7
İnkübasyon Isısı	35°C
İnkübasyon süresi	48 saat ( <i>C. neoformans</i> için 72 saat)
MİK Duyarlılık/ Dirençlilik Sınırı Saptanması	Amfoterisin B: Bulanıklığın görülmediği konsantrasyon Azoller ve Flusitozin: Bulanıklığın %80 azaldığı konsantrasyon

NCCLS M27 standart makrodilüsyon yöntemine alternatif mikrodilüsyon ve agar difüzyon testleri (E test) de geliştirilmiştir ve standart yöntemi ile uyumlulukları %76-100 arasında değişmektedir (Tablo 5) (68-73).

**Tablo 5:** Alternatif antifungal duyarlılık testleri

Test yöntemi	MİK değeri belirleme yöntemi	Standart makrodilüsyon yöntemi ile uyumu (%)
Mikrodilüsyon	Görsel	≥ 90
	Spektrofotometrik	89-100
	Kolorimetrik	≥90
E Test	Görsel	76-100
Disk Difüzyon	Görsel	80

Mikrodilüsyon yöntemi, prensip olarak referans yöntemi ile aynıdır. Mikroplak çukurlarındaki ilaç konsantrasyonları son konsantrasyonun iki katı şeklinde olacak biçimde ayarlanır. Başlangıç inokulum sayısı referans yöntemin iki katı olacak şekilde ( $1-5 \times 10^3/\text{ml}$ ) hazırlanmaktadır (4,26,68,73).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM:**

2002-2003 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli örneklerden izole ettiğimiz 100 *Candida* suşu çalışmaya alındı. Standart suş olarak *C.albicans* ATCC 10039 kullanıldı.

#### **3.1. İzolasyon:**

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen klinik örnekler rutinde kullanılan kanlı, SDA (Merck-Germany) besiyerlerine ekimleri yapıldı. 26 °C ve 37 °C inkübasyona bırakıldı. Üremeler günlük olarak kontrol edildi ve 72 saat sonunda üremesi olmayan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

*Candida*'lar SDA'da hamur kıvamında beyaz ve krem renkli, genellikle düzgün sınırlı ve kendine özgü maya kokusu olan koloniler oluşturdu. Tipik koloniler mikroskopta incelemeye alındı.

#### **Mikroskopi:**

Kanlı ve SDA besiyerinde üreyen şüpheli kolonilerden lam-lamel arası preparat ve gram boyama hazırlandı. Işık mikroskobunda X400 büyütmede incelendi.

Lam-lamel preparasyonu için; lam üzerine bir damla serum fizyolojik (%0,85'lik NaCl) damlatıldı. Üreyen koloniden öze yardımı ile bir miktar alıp serum fizyolojik içine süspansiyon edildi ve üzerine lamel kapatılıp mikroskopta incelendi. Yine şüpheli kolonilerden bir miktar lam üzerine serum fizyolojik ile yayıp gram boyama yapıldı.

Saf olduğu anlaşılan kùltürlerden, identifikasyonun ileri aşamalarda kullanılmak üzere yatık SDA tüplerine pasajlandı ve +4 °C’de saklandı. Çalışmadan bir gün önce saf olduğu görùlen kolonilerden tek kolonilerden tek koloni alınarak SDA’ya tekrar pasaj yapıldı ve çalışmaya bir gece inkübe edilen suşlar alındı.

### 3.2. İdentifikasyon:

*Candida* suşlarının türlerini tayin edebilmek amacıyla suşun; germ tüp yapımı, klamidospor oluşumu, karbonhidrat fermantasyon reaksiyonları gibi özellikleri sırasıyla incelendi. Çalışmada kalite kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 10039 kullanıldı. Suş tanımlamasında API ID 32 C referans yöntem olarak kabul edildi.

### Germ-tüp Testi:

Taze canlandırılmış maya kolonisinden koloniden küçük bir parça, 0,5 ml insan serumu içerisine eklenip karıştırıldı ve 37 °C’de 2,5-3 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda cam tüplerdeki karışımlardan 20 µl alınarak lam-lamel arasında ışık mikroskopunda X400’luk büyütmede incelendi.

Blastospordan köken alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca belirgin kabarıklık olmayan filamentler şeklindeki yapılar germ-tüp olarak değerlendirildi. Mikroskopik incelemede germ tüpe benzeyen, ancak ana hücreden boğumlanarak dışarı doğru uzama gösteren, hifal yapıların duvarlarının birbirine paralellik göstermediği pseudogerm tüp oluşumları da izlendi. Germ tüp oluşturan maya kökenleri *C.albicans* olarak tanımlandı. Germ tüp testi için kalite kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 10039 kullanıldı.

### Klamidospor Oluşumunun İncelenmesi:

Klamidospor oluşumu Pirinçunu–Tween 80 Agar (PT 80 Agar) besiyeri kullanılarak araştırıldı.

PT 80 Agar aşağıdaki şekilde hazırlandı;

Distile su içerisinde 50 g pirinç kaynatılıp birkaç katlı gazlı bezden süzùldü. Bunun içine 20 g agar, 20 g glikoz, 10 ml Tween 80 eklendi. Distile su ile 1 lt’ye

tamamlandı. Daha sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril petri kaplarına döküldü.

SDA'ya taze pasajlanmış saf maya kolonilerinden iğne uçlu öze yardımıyla bir parça alınıp PT 80 Agarda birbirine paralel üç çizgi şeklinde ekim yapıldı. Ekimlerin besiyerini yırtmadan ve özeyi dibine kadar batırmadan yapılmasına dikkat edildi. Her bir maya için ekim yapıldıktan sonra ekim çizgileri üzerine gelecek şekilde steril lamel kapatıldı ve 26 °C'de 48-72 saat inkübasyona bırakıldı. Çalışmada kalite kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 10039 kullanıldı. İnkübasyon sonunda ışık mikroskopunda X100 ve X400 büyütme ile klamidospor, blastospor, pseudohif ve hif oluşturma özellikleri yönünden incelendi.

Değerlendirmeler mayaların bu besiyerindeki mikroskobik görünümüne göre yapıldı. Pseudohiflerin uçlarında ve yan dallarında görülen büyük, kalın duvarlı, yuvarlak klamidosporlar ile hif brileşme yerlerindeki blastospor kümeleri *C. albicans*; ağaca benzer şekilde dizilmiş uzun blastosporlar ve pseudohif *C. krusei*; pseudohif ve hif boyunca tek tek veya ufak kümeler yapacak biçimde dizilim gösteren blastosporlar *C. tropicalis*; pseudohif yapısı olmadan ucunda tomurcuklanmalar görülen küçük oval blastosporlar *C. glabrata*; uzun blastosporların yalancı hiften ayrılıp birbirine paralel dizilim gösterdiği ve bu görünümü ile "ırmakta yüzen kütük dizileri"ni andıran *C. kefyr*; küçük maya hücreleri ve az sayıda küçük yalancı hif, bunun etrafında küçük küme yapmış blastokonidyumlar *C. guilliermondii*; yalancı hif, bunun etrafında tek tek bazen kümeler yapmış blastokonidyumlar oluşturan ve arada iri hiflerin görüldüğü suşlar *C. parapsilosis* olarak değerlendirildi.

### **Karbonhidrat Asimilasyon Testi:**

API ID 32 (bioMerieux-France) hazır ticari kitleri kullanılarak 100 adet klinik ve bir adet kontrol suşu ile tanımlandı.

API ID 32 C'le mayaların karbonhidrat asimilasyon yetenekleri, 24-48. saatlerde değerlendirilir.

Testin yapılışı:

1. İnokulum'un hazırlanması: SDA'daki 24 saatlik *Candida* kolonilerinden steril bir öze ile alınarak, 2 ml'lik Süspansiyon Medium (%0,85 NaCl) içinde



karıştırılarak yoğunluğu 2 Mc Farland'a ayarlandı. Bu süspansiyonun 250 µl'sı kit içeriğinde olan C Medium içine aktarıldı.

2. "Strip"e aktarımı: C mediumdan "Strip"ın her birine steril pipet ucu kullanarak 135 µl dağıtıldı. 30 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı.
3. Stripin okunması: Gözle: Bulanık olan kuyucuklarda üreme pozitif kabul edildi. Negatif kontrol'de üremenin olmamasına dikkat edildi. Otomatik olarak geliştirilmiş mini *API* ile değerlendirme yapıldı (ID 32 C, bioMerieux, France kit prosedürü)

### 3.3. Antifungal Duyarlılık Testi:

Çalışmaya alınan *Candida* türlerinin Amfoterisin B, Flukonazol ve Ketokonazol'e karşı antifungal duyarlılık testlerinde NCCLS tarafından önerilen M27-A mikrodilüsyon (microbroth dilution) yöntemi kullanıldı (4). Çalışmada kalite kontrol suşu olarak *C. albicans* ATCC 10039 kullanıldı.

#### Mikrodilüsyon yöntemi:

Bu yöntemde aşağıdaki yol izlendi (4) :

#### 1. Antifungal Stok Solüsyonları ve Dilüsyonların Hazırlanması (4)

##### 1. Antifungal İlaç Miktarları:

**Ağırlık (mg) = [Hacim (ml) x Konsantrasyon (µg/ml)] / Potens (µg/mg)** formülüne göre hesaplandı ve hassas terazide tartıldı.

##### Amfoterisin B (Sigma, U.S.A):

Potens: %100 (100 mg'da 100 mg, 1 mg'da 1000 µg; yani potens 1000 µg/ml)

Stok solüsyon konsantrasyonu: 1600 µg/ml

Hacim: 20 ml DMSO

Ağırlık = (20 x 1600)/1000 = 32 mg = 0,032 g

##### Ketokonazol (İlsan-İltaş, Türkiye):

Potens: %100 (100 mg'da 100 mg, 1 mg'da 1000 µg; yani potens 1000 µg/ml)

Stok solüsyonun konsantrasyonu: 1600 µg/ml

Hacim: 20 ml DMSO

Ağırlık= (20 x 1600)/1000= 32 mg= 0,032 g

**Flukonazol (Pfizer, France):**

Potens: %99.7 (100 mg'da 99,7 mg, 1 mg'da 997 µg; yani potensi 997 µg/ml)

Stok solüsyon konsantrasyonu: 5120 µg/ml

Hacim: 20 ml Distile su

Ağırlık: (20 x 5120)/997= 102,6 mg= 0,1026 g

**2.** Amp-B ve ketokonazol konsantrasyonu 1600 µg/ml olacak şekilde %100 dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma, U.S.A) içinde eritildi (100 x, Stok solüsyon). Flukonazol, konsantrasyonu 1280 µg/ml olacak şekilde steril distile su içinde eritildi (20x, Stok solüsyon)

**3.** Her bir stok solüsyon 5'er ml olarak dört steril tüpe aktarıldı. Çalışmaya kadar -20 °C'de saklandı. Amp-B solüsyonunun ışıktan korunmasına özen gösterildi.

**4.** Antifungal dilüsyonlar hazırlanırken de her antifungal için bir tüp stok solüsyon çıkarıldı, eridikten sonra her bir antifungal için ayrı ayrı şemaya göre tüpler isimlendirilerek dilüsyonlar hazırlandı (Tablo 6,7).

**5.** Bu dilüsyonlar tekrar işleme alındı.

**6.** Amp-B, önce 1/10 oranında "antibiyotik medium 3" (AM<sub>3</sub>, Oxoid, England) besiyeri ile sulandırılarak 10X'lik ilaç konsantrasyonları elde edildi. Daha sonra 1/5 oranında AM<sub>3</sub> besiyeri ile dilüe edilerek 2X ilaç konsantrasyonuna erişildi. Böylece 16-0.0313 µg/ml arasında seri konsantrasyonlar elde edildi (Tablo 6).

**7.** Flukonazol, 1/5 oranında RPMI 1640 Medium (L-glutaminli, Bikarbonatsız) (Sigma, U.S.A) besiyeri içinde dilüe edilerek 2X'lik seri ilaç konsantrasyonları (64-0,0625 µg/ml arasında) elde edildi (Tablo 7).

**8.** Ketokonazol, 1/50 oranında RPMI 1640 Medium (L-glutaminli, Bikarbonatsız) besiyeri içinde dilüe edildi. Böylece 16-0.0313 µg/ml arasında seri ilaç konsantrasyonu elde edildi (Tablo 6).

**9.** Steril Mikroplağın yatay sırasındaki son kuyucuğu (12. kuyucuk) sterilite kontrol kuyucuğu olup sadece RPMI 1640'dan 100 µl konuldu. Mikroplağın 11. (sondan bir önceki) kuyucuğu üreme kontrol kuyucuğudur. Buraya RPMI'dan 100 µl (daha

sonra örnek inokulumdan 100 µl eklenecek) konuldu. En düşük ilaç konsantrasyonu **10.** Kuyucukta, en yüksek ilaç konsantrasyonu 1. kuyucukta olmak üzere tüplerdeki antifungal ilaç dilüsyonları pipetle steril pipet ucu kullanılarak 100'er µl olacak şekilde dağıtıldı.

**11.** Eğer İnokulumlar bu aşamada eklenmeyecekse mikroplaklar -80 °C'de saklanmak üzere kaldırıldı ve çalışmadan önce oda sıcaklığında bir süre bekletildi.

**12.** Sonuçta bir mikroplakta bir antifungal ilaç, 10 dilüsyon ve 8 *Candida* türü çalışılabilir.

**Tablo 6:** Amfoterisin B ve Ketokonazol dilüsyonlarının hazırlama şekli

Step	Konsantrasyon (µg/ml)	Kaynak	Hacim+Çözücü (ml)		Ara konsantrasyon (µg/ml)	Final konsantrasyon (µg/ml)	Log <sub>2</sub>
1	1600	Stok			1,600 µg/ml	16	4
2	1600	Stok	0,5	0,5	800	8,0	3
3	1600	Stok	0,5	1,5	400	4,0	2
4	1600	Stok	0,5	3,0	200	2,0	1
5	200	Step 4	0,5	0,5	100	1,0	0
6	200	Step 4	0,5	1,5	50	0,5	-1
7	200	Step 4	0,5	3,0	25	0,25	-2
8	25	Step 7	0,5	0,5	12,5	0,125	-3
9	25	Step 7	0,5	1,5	6,25	0,0625	-4
10	25	Step 7	0,5	3,5	3,13	0,0313	-5

**Tablo 7:** Flukonazol dilüsyonunun hazırlama şekli

Step	Konsantrasyon (µg/ml)	Kaynak	Hacim+Medium (ml)		Ara konsantrasyon (µg/ml)	Final konsantrasyon (µg/ml)	Log <sub>2</sub>
1	5120	Stok	1	7	640 µg/ml	64	6
2	640	Step 1	1	1	320	32	5
3	640	Step 1	1	3	160	16	4
4	160	Step 3	1	1	80	8	3
5	160	Step 3	0,5	1,5	40	4	2
6	160	Step 3	0,5	3,5	20	2	1
7	20	Step 6	1	1	10	1	0

8	20	Step 6	0,5	1,5	5	0,5	-1
9	20	Step 6	0,5	3,5	2,5	0,25	-2
10	2,5	Step 9	1	1	1,25	0,125	-3
11	2,5	Step 9	0,5	1,5	0,625	0,625	-4
12	2,5	Step 9	0,5	3,5	0,0313	0,0313	-5

## 2. RPMI 1640'ın Hazırlanması (4):

1. Flukonazol'ün ve Ketokonazol'ün antifungal duyarlılık testlerinde besiyeri olarak L-glutaminli ve bikarbonatsız RPMI-1640 Medium (Sigma, U.S.A.) kullanıldı.

2. Bir litrede 34.53 gr olacak şekilde MOPS (n-morpholinopropane sulphonic asit) (Merck, Germany) ile tamponlandı. Homojenizasyon sağlanması için iyice karıştırıldı.

3. Besiyerini kullanırken pH'nın 6,9-7,0 olmasına dikkat edildi. Bunun için 10 N NaOH (Sodyum Hidroksit) ile pH ayarlaması yapıldı. NaOH hazırlamak için 100 ml distile su içerisine 40 g NaOH eklendi, balon joje içinde karıştırılarak çözüldü (Bir litre RPMI için yaklaşık 5 ml NaOH gerekiyor).

4. Sterilizasyon işlemi için besiyeri 0.22 µ çaplı membran fitreler (Sartorius, Germany) ile steril edildi ve kullanıncaya kadar +4 °C'de saklandı. Sterilite kontrolü için besiyerinden 1 ml alınarak kanlı besiyerine ekildi.

## 3. AM<sub>3</sub>'ün Hazırlanması (4):

1. Bir litre sıcak (60 °C) su içine 17.5 gr toz AM<sub>3</sub> (Oxoid, England) eklendi.

2. İyice çözülmeye kadar karıştırdıktan sonra 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavlandı. Kullanıncaya kadar +4 °C de saklandı.

## 4. Maya İnokulümünün Hazırlanması (4):

1. Test edilecek *Candida* türlerinin SDA plaklarındaki subkültürleri, 30 °C'de 24 saat inkübe edilerek yapıldı.

2. Bir mm'den büyük yaklaşık 5 koloni, 1 ml % 0.9 NaCl (serum fizyolojik) içinde homojenize edildi. Bulanıklığının 0.5 McFarland olması için spektrofotometrede (Densimat; bioMerieux, France) transmittansı 530 nm'de %85T'ye ayarlandı. Gereken inokulum miktarı kantitatif ekim sonunda koloni sayımı yapılarak doğrulandı. Böylece  $1-5 \times 10^6$  CFU/ml oranında maya içeren stok maya süspansiyonu elde edildi.

3. Daha sonra her bir tür serum fizyolojik içinde 1/50 sulandırılarak çalışma dilüsyonu; ardından da flukonazol ve ketokonazol için RPMI 1640'da, amfoterisin B için AM<sub>3</sub>'de 1/20 oranında sulandırılarak son çalışma dilüsyonu (2 x test inokulum,  $0,5-2,5 \times 10^3$ ) elde edildi.

#### 5. Testin Uygulanması:

1. Daha önceden Amp-B, ketakonazol ve flukanazol ilaç dilüsyonları hazırlanarak -70 °C'de saklanan mikrotitrasyon plakları oda ısısına getirildi.

2. Her bir çukur üzerine 100 µl test inokulumu eklendi. Böylece istenilen ilaç ve inokulum son konsantrasyonları elde edildi.

3. Üreme kontrolü olarak, antifungal ilaç içermeyen bir çukura 100 µl test inokulumu (RPMI 1640+maya) konuldu.

4. Kalite kontrol suşu olarak *C.albicans* ATCC 10039 kullanıldı.

5. Mikrotitrasyon plakları 35 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra değerlendirildi.

#### 6. MİK Aralığının Saptanması (4):

Sonuçlar değerlendirilmeden önce mikroplaklar karıştırıcıda iyice karıştırıldı. İnkübasyonun ardından MİK değerleri, okuma aynası ve iyi bir ışık kaynağı yardımıyla birden fazla deneyimli personel tarafından görsel olarak saptandı.

Amp-B ve Ketokonazol için MİK aralığı üremenin %100 önlendiği konsantrasyon olarak kabul edildi. Flukonazol için ise üremenin kontrol tüpüne göre %80 önlendiği en düşük ilaç konsantrasyonu MİK aralığı olarak kabul edildi.

Skorlama yapıldı:

0: %0, Hiç bulanıklık yok, berrak

1: Üreme kontrol kuyucuğundaki bulanıklığın %25'i kadar bulanıklık var.

2: Üreme kontrol kuyucuğundaki bulanıklığın %50'si kadar bulanıklık var.

3: Üreme kontrol kuyucuğundaki bulanıklığın %75'i kadar bulanıklık var.

4: Üreme kontrol kuyucuğu ile aynı bulanıklığı (%100).

Amp-B için MİK değeri, yukarıdaki skorlamaya göre 0 iken, Ketokonazol ve Flukonazol için 2'dir.

#### 4. BULGULAR:

Hastanemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen klinik örneklerden elde ettiğimiz 100 *Candida* suşunun klasik yöntemlerle (germ tüp oluşturma, Pirinçunlu-Tween 80 agar, karbonhidrat asimilasyon testleri ile) tanımlanması sonucu bunların 50'si *C. albicans* (%50), diğer 50'si (%50) ise non-*albicans Candida* türü olarak değerlendirildi. Klinik örneklerden izole edilen 100 *Candida* türü Tablo 8'de verilmiştir.

**Tablo 8:** Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türleri

TÜRLER	İZOLAT SAYISI (n)	%
<i>C. albicans</i>	50	50
<i>C. glabrata</i>	15	15
<i>C. tropicalis</i>	13	13
<i>C. krusei</i>	10	10
<i>C. kefyr</i>	7	7
<i>C. parapsilosis</i>	3	3
<i>C. guilliermondii</i>	2	2
<b>TOPLAM</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

İzole edilen *Candida* türlerinin klinik örneklerle göre dağılımı Tablo 7’de gösterilmiştir. Toplam 100 *Candida* suşundan 34 (%34)’ü ağızdan, 33 (%33)’ü vajinal sürüntüden, 22 (%22)’si balgamdan, 6 (%6)’sı gaitadan, 2 (%2)’si idrardan, 1 (%1)’i yara yerinden, 1 (%1)’i ayak parmak arasından ve 1 (%1)’i sonda ucu örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen *Candida*’ların klinik örneklerle göre dağılımı Tablo 9’da verilmiştir.

**Tablo 9:** İzole edilen *Candida*’ların klinik örneklerle göre dağılımı

ÖRNEK TÜRÜ	İZOLAT SAYISI (n)	%
Ağız	34	34
Vajinal sürüntü	33	33
Balgam	22	22
Gaita	6	6
İdrar	2	2
Yara yeri	1	1
Ayak parmak arası	1	1
Sonda ucu	1	1
<b>TOPLAM</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

İzole edilen *Candida* türlerinin klinik örneklerle göre dağılımı Tablo 10’da verilmiştir.

**Tablo 10:** İzole edilen *Candida* türlerinin klinik örneklerle göre dağılımı (n=100).

Tür	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. kefyr</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>C.guilliermondii</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Örnekler</b>														
<b>Ağız (34)</b>	22	67,6			5	14,7	2	5,8	2	5,8	3	8,8		
<b>Vajinal sürüntü (33)</b>	15	45,4	9	27,2	3	9,09	3	9,09	2	6,06			1	3,03
<b>Balgam (22)</b>	12	54,5	4	18,1	3	13,6			2	9,09			1	4,54
<b>Gaita (6)</b>			1	16,6			4	66,6	1	16,6				
<b>İdrar (2)</b>			1	50	1	50								
<b>Yara yeri (1)</b>					1	100								
<b>Ayak parmak arası (1)</b>							1	100						
<b>Sonda ucu (1)</b>	1	100												
<b>TOPLAM (100)</b>	<b>50</b>		<b>15</b>		<b>13</b>		<b>10</b>		<b>7</b>		<b>3</b>		<b>2</b>	



Klinik örneklerden izole edilen ve tür tanımlaması yapılan 100 *Candida* türünün Amp-B, ketokonazol ve flukonazole karşı invitro antimikotik duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile incelenerek MİK değerleri sırasıyla Tablo 11,12 ve 13’de verilmiştir.

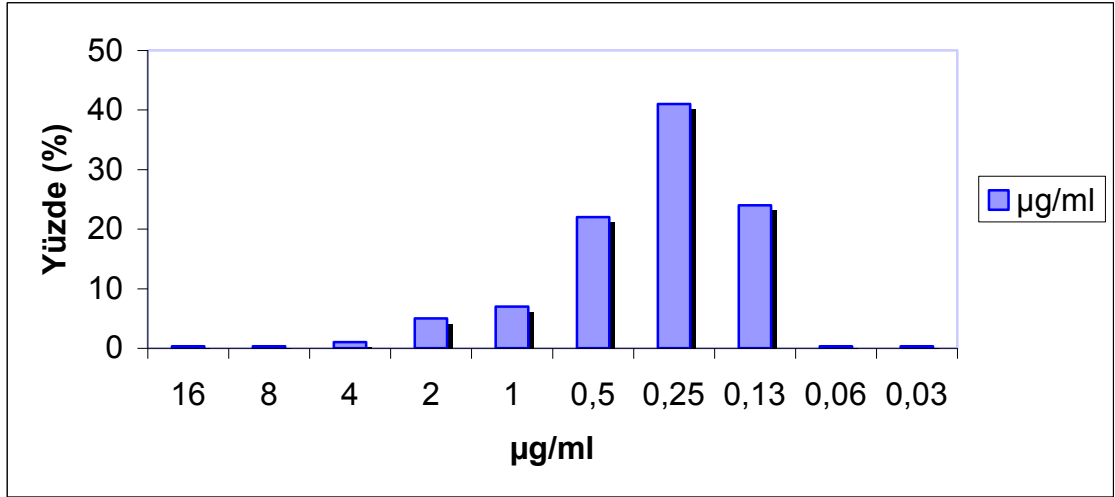
**Tablo 11:** *Candida* türlerinin Amfoterisin B için MİK değerleri

<i>Candida</i> Türleri (Sayısı)	MİK değerleri (µg/ml)									
	≥ 16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<i>C. albicans</i> (50)	-	-	1	2	-	11	19	17	-	-
<i>C. glabrata</i> (15)	-	-	-	-	2	3	6	4	-	-
<i>C. tropicalis</i> (13)	-	-	-	1	1	2	8	1	-	-
<i>C. krusei</i> (10)	-	-	-	1	1	4	3	1	-	-
<i>C. kefyr</i> (7)	-	-	-	1	1	2	2	1	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (3)	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i> (2)	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
<b>TOPLAM (100)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>22</b>	<b>41</b>	<b>24</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Amp-B’ye ilişkin MİK aralığı 0,03-16 µg/ml arasında MİK  $90 \leq 1$  µg/ml olarak saptandı. *Candida* türlerinin amp-B için MİK değerleri 1’inde 4 µg/ml; 5’inde 2 µg/ml; 7’inde 1 µg/ml; 22’inde 0,5 µg/ml; 41’inde 0,25 µg/ml; 24’ünde ise 0,125 µg/ml olarak saptandı.

NCCLS kriterlerine göre amp-B için 1 µg/ml üzerinde olan türler dirençli kabul edilmektedir (4). Bu kritere göre 100 *Candida* türünün 6’sında MİK değeri 1 µg/ml üzerinde bulunmuştur. Bu türlerden 3’ü *C. albicans*, 1’i *C. tropicalis*, 1’i *C. krusei* ve 1’i *C. kefyr* olarak saptanmıştır. Buna göre *Candida* türlerinin %94’ü Amp-B’ye duyarlı bulundu.

Amfoterisin B’nin *Candida* türlerinde inhibitör etki gösterdiği konsantrasyonların yüzde dağılımı Şekil 5’de verilmiştir.



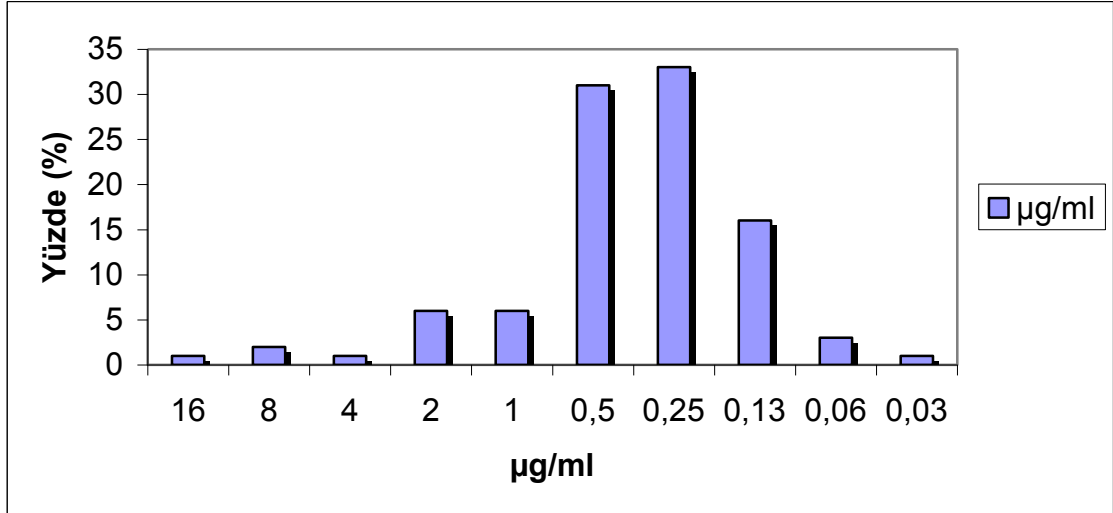
**Şekil 5:** Amfoterisin B'nin *Candida* türlerinde inhibitör etki gösterdiği konsantrasyonların yüzde dağılımı

Ketokonazol için 100 *Candida* türlerinin MİK aralığı 0,03-16 µg/ml arasında, MİK  $90 \leq 0,5$  µg/ml olarak saptandı (Tablo 12). *Candida* türlerinin Ketokonazole için MİK değerleri 1'inde  $\leq 16$  µg/ml; 2'sinde 8 µg/ml; 1'inde 4 µg/ml; 6'ında 2 µg/ml; 6'sında 1 µg/ml; 31'inde 0,5 µg/ml; 33'ünde 0,25 µg/ml; 16'ında ise 0,125 µg/ml; 3'ünde 0,06 µg/ml ve 1'inde ise 0,03 µg/ml; olarak bulundu (Şekil 6).

**Tablo 12:** *Candida* türlerinin Ketokonazol için MİK değerleri

<i>Candida</i> Türleri (Sayısı)	MİK değerleri (µg/ml)									
	$\leq 16$	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<i>C. albicans</i> (50)	-	-	-	3	3	14	17	10	3	-
<i>C. glabrata</i> (15)	-	-	-	-	1	9	3	1	-	1
<i>C. tropicalis</i> (13)	-	1	-	2	1	5	2	2	-	-
<i>C. krusei</i> (10)	1	1	1	-	1	2	4	-	-	-
<i>C. kefyr</i> (7)	-	-	-	-	-	-	5	2	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (3)	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-
<i>C. guilliermondii</i> (2)	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-
<b>TOPLAM (100)</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>31</b>	<b>33</b>	<b>16</b>	<b>3</b>	<b>1</b>

NCCLS kriterlerine göre çalışmaya alınan türlerin 3'ü ketokonazole dirençli bulundu ( $MİK \geq 8 \mu\text{g/ml}$ ) (4). Bu türlerden 1'i *C. tropicalis*, 2'si *C. krusei* olarak saptandı. Türlerin %84'ü ketokonazole duyarlı bulundu ( $MİK \leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ ).



**Şekil 6:** Ketokonazol'un *Candida* türlerinde inhibitör etki gösterdiği konsantrasyonların yüzde dağılımı

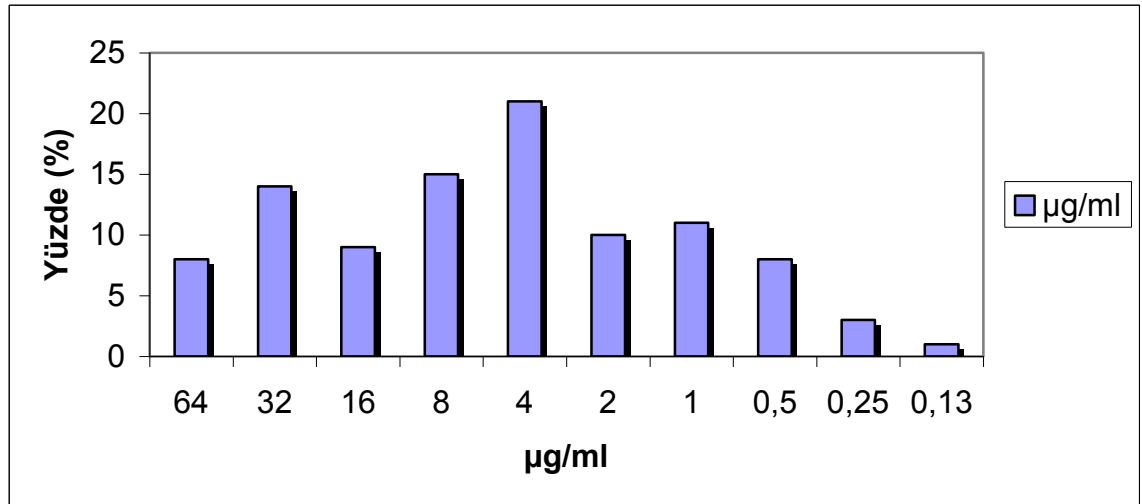
Flukonazol için çalışmaya alınan 100 *Candida* türlerinin MİK aralığı 0,125-64 µg/ml arasında, MİK  $90 \leq 32 \mu\text{g/ml}$  bulundu (Tablo 13). *Candida* türlerinin Flukonazole için MİK değerleri 8'inde  $\leq 64 \mu\text{g/ml}$ ; 14'ünde 32 µg/ml; 9'unda 16 µg/ml; 15'inde 8 µg/ml; 21'inde 4 µg/ml; 10'unda 2 µg/ml; 11'inde 1 µg/ml; 8'inde ise 0,5 µg/ml; 3'ünde 0,25 µg/ml ve 1'inde ise 0,125 µg/ml; olarak saptandı (Şekil 7).

NCCLS kriterlerine göre Flukonazole 8 *Candida* türünün dirençli olduğu ( $MİK \geq 64 \mu\text{g/ml}$ ) saptandı (4). Bu türlerden 4'ü *C. albicans*, 2'si *C. glabrata*, 2'si *C. krusei* olarak bulundu.

Türlerin %64'ü Flukonazole duyarlı idi ( $MİK \leq 8 \mu\text{g/ml}$ ).

**Tablo 13:** *Candida* türlerinin Flukonazol için MİK değerleri

<i>Candida</i> Türleri (Sayısı)	MİK değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	$\leq 64$	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
<i>C. albicans</i> (50)	4	3	5	7	14	4	7	3	2	1
<i>C. glabrata</i> (15)	2	4	1	4	2	1	1	-	-	-
<i>C. tropicalis</i> (13)	-	2	2	2	1	1	1	3	1	-
<i>C. krusei</i> (10)	2	4	-	2	1	1	-	-	-	-
<i>C. kefyr</i> (7)	-	1	1	-	2	2	1	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (3)	-	-	-	-	-	1	-	2	-	-
<i>C. guilliermondii</i> (2)	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-
<b>TOPLAM (100)</b>	<b>8</b>	<b>14</b>	<b>9</b>	<b>15</b>	<b>21</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>1</b>

**Şekil 7:** Flukonazol'un *Candida* suşlarında inhibitör etki gösterdiği konsantrasyonların yüzde dağılımı

## 5. TARTIŞMA:

Özellikle immun sistemi baskılanmış olan kişilerde fırsatçı enfeksiyonlara yol açan *Candida*'lar ekzojen olarak doğada ve endojen olarak mikroflorada yaygın olarak bulunurlar (6,7). Ayrıca, tür düzeyinde identifikasyon tedaviye yanıtın izlenmesinde ve klinik relapsların değerlendirilmesinde de yararlı olmaktadır (59).

Bu çalışmada, maya enfeksiyonlarının tanı ve tedavisine yaralı olur düşüncesiyle klinik örneklerden izole edilen maya türü mantar olan *Candida*'lar tanımlanarak antifungal duyarlılık profilleri belirlenmiştir.

*C. krusei*'nin flukonazole intrinsik dirençli olması gibi bazı *Candida* türleri bazı antifungallere dirençlidir. Bu nedenle ilaç seçiminde *Candida*'nın türünün belirlenmesi de önemlidir (26). Çalışmamızda *Candida*'ların identifikasyonunda öncelikle klasik mikolojik yöntemler kullanılmıştır. Germ tüp testi *C. albicans*'ın hızlı identifikasyonu için yıllardır kullanılan ve bugünde değerini koruyan, basit ve oldukça duyarlı bir testtir. Ancak germ tüp testi ile *C. albicans* dışındaki türlerin identifikasyonunun yapılamaması bir dezavantajdır. *C. albicans* suşlarının %95-97'si nin germ tüp pozitif olduğu bildirilmiştir (7,22). Çalışmamızda germ tüp pozitif olan türler Pirinç unlu- Tween 80 agara ekildi (19,22). Germ tüp pozitif olan türlerin tamamında *C. albicans* için karakteristik olan klamidosporlar gözlenmiştir (7,22). Germ tüp negatif olan türler hem pirin unlu-Tween 80 agara ekilmiş hem de ticari bir tiplendirme kiti olan ve karbonhidrat asimilasyonuna dayanan API 32 ID C ile işleme alınmıştır. Bu işlemler sonucunda isimlendirilemeyen tür olmamıştır.

Bu bulgulara göre, iş yükü fazla olan laboratuarlarda mayaların identifikasyonunda germ tüp testi ve pirinç unlu-Tween 80 agarda oluşturdukları morfoljik görünümle ile tanımlamanın yeterli olabileceği düşünülmüş, ancak biyokimyasal testlerin morfoljik testlerden daha güvenilir sonuçlar verdiği bir kez daha gözlenmiştir.

Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen 100 mayanın 50'si *C. albicans* (%50), 15'i *C. glabrata* (%15), 13'ü *C. tropicalis* (%13), 10'u *C. krusei* (%10), 7'si *C. kefyr* (%7), 3'ü *C. parapsilosis* (%3) ve 2'si *C. guilliermondii* (%2) olarak tanımlanmıştır (Tablo 6).

Ağız sürüntüsünden elde edilen 34 izolatin 23 (%67,6)'ü *C. albicans*, 5 (%14,7)'si *C. tropicalis*, 3 (%8,8)'ü *C. parapsilosis*, 2 (%5,8)'si *C. krusei* ve 1 (%2,9)'i *C. kefir* olarak belirlenmiştir.

Vajinal sürüntüsünden izole edilen 33 izolatin 16 (%48,8)'i *C. albicans*, 9 (%27,2)'u *C. glabrata*, 3 (%9,09)'ü *C. krusei*, 2 (%6,06)'si *C. tropicalis*, 2(%6,06)'i *C. kefir* ve 1 (%3,03)'i *C. guilliermondii* olarak belirlenmiştir.

Balgam örneklerinden izole edilen 22 izolatin 12 (%54,5)'si *C. albicans*, 4 (%18,1)'ü *C. glabrata*, 3 (%13,6)'ü *C. tropicalis*, 2 (%9,09)'si *C. kefir* ve 1 (%4,54)'i *C. guilliermondii* olarak belirlenmiştir.

Gaita örneklerinden elde edilen 6 izolatin 4 (%66,6)'ü *C. krusei*, 1 (%16,6)'i *C. kefir* ve 1 (%16,6)'i *C. glabrata* olarak saptanmıştır. İdrar örneklerinden elde edilen 2 izolatin 1 (%50)'i *C. glabrata* ve 1 (%50)'i *C. tropicalis* olarak belirlenmiştir. Yara yeri sürüntüsünden izole edilen 1 maya izolatu *C. tropicalis* olarak saptanmıştır. Ayak parmak arasından izole edilen 1 maya izolatu *C. krusei* olarak belirlenmiştir. Sonda ucundan elde edilen 1 maya izolatu *C. albicans* olarak saptanmıştır.

Piriçgiller (2), çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 210 mayanın 109'unu *C. albicans*, 27'sini *C. kefir*, 23'ünü *C. glabrata*, 14'ünü *C. krusei*, 14'ünü *Trichosporon spp.*, 8'ini *C. parapsilosis* ve 1'ini *Cryptococcus neoformans* olarak; Pfaller ve arkadaşları (74), 802 izolattan 358'sini *C. albicans*, 151'ini *C. glabrata*, 83'ünü *C. parapsilosis*, 79'unu *C. tropicalis*, 66'sını *C. krusei*, 36'sını *C. lusitaniae*, 14'ünü *C. guilliermondii* ve 15'ini *Candida spp.* olarak saptamışlardır. Yine Azel (75) ve ark. çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 76 mayanın 55'ini *C. albicans*, 7'sini *C. tropicalis*, 6'sını *C. glabrata*, 5'ini *C. krusei*, 2'sini *C. kefir*, 1'ini *C. parapsilosis* olarak; Kuştimur ve ark. (76) 40 izolattan 19'unu *C. albicans*, 5'ini *C. tropicalis*, 4'ünü *C. kefir*, 3'ünü *C. krusei*, 2'sini *C. glabrata*, 2'sini *C. lusitaniae*, birer tanesini de *C. parapsilosis*, *C. famata*, *C. rugosa* ve *C. dubliniensis* olarak belirlemiştir.

Çoşkun ve ark. (77), kandidemili hastalardan izole ettiği *Candida* türü mantarlarından ilk sırada *C. albicans* (%52,4), *C. glabrata* (11,9), *C. parapsilosis* (%7,1), *C. kefir* (%7,1), *C. tropicalis* (%4,8), *C. famata* (%4,8) ve *C. maris* (%4,8) olarak tanımlamıştır.

Ağız florasında en sık bulunan ve invaziv olan tür *C. albicans*'tır (%75). Bunu *C. tropicalis* (%8), *C. krusei* (%3-6) ve *C. glabrata* (%2-6) izlemektedir (78). Öztürkcan ve ark. (79), 52 diyabetik hastada oral kandida insidansını araştırmışlar ve *C. albicans* (%63,3), bunu takiben en sık izole edilen türleri *C. kefyir* (12,2), *C. parapsilosis* (%9), *C. krusei* (%9), *C. stelloidea* (%6,5) olarak bildirmişlerdir. Antibiyotik alan 148 çocuk hastanın ağız sürüntüsü örneklerini inceleyen Mete ve ark. (80), *C. albicans*'ı (%73,9), *C. tropicalis* (%12), *C. kefyir* (%5) ve *C. stelloidea* (%3)'nın izlediğini saptamışlardır. Piriçgiller (2), ağız örneklerinden izole ettikleri 40 maya kökeninin 25'ini *C. albicans*, 8'ini *C. kefyir*, 4'ünü *C. krusei* 2'sini *C. tropicalis*, 1'ini *C. parapsilosis* olarak saptamıştır. Çalışmamızda ağız sürüntü örneklerinden elde ettiğimiz sonuçların diğer sonuçlarla benzer şekilde korelasyon gösterdiği bulunmuştur (79).

Genel olarak hastanede kültürü yapılan idrar örneklerinin %1-5'inde maya türü mantar üremektedir. İdrardan en sık izole edilen mayalar sırasıyla *C. albicans*, *C. glabrata* ve daha az sıklıkla *C. tropicalis*'tir (78). Ergüven ve ark. (81), 33 idrar örneğinde *C. albicans* (%66,6) ve *C. tropicalis* (%33,3) saptamışlardır. Göller (82), idrar örneklerinde en sık izole edilen tür *C. albicans* (%53,1), *C. tropicalis* (%18,7), *C. kefyir* (%12,5), *C. glabrata* (%6,4) olarak bulunmuştur. Yine Yücesoy M. ve ark. (83) 77 *Candida* suşunu idrar kültüründe soyutlamış bunlardan 60'sını *C. albicans*, 13'ünü *C. tropicalis*, 2'sini *C. parapsilosis*, 1'ini *C. kefyir* ve 1'ini *C. rugosa* olarak saptamıştır. Piriçgiller (2), idrar örneklerinden izole ettikleri 40 maya kökeninin 23'ünü *C. albicans*, 5'ini *C. tropicalis*, 5'ini *C. glabrata*, 4'ünü *C. kefyir*, 2'sini *C. parapsilosis* ve 1'ini *C. krusei* olarak saptamıştır.

*Candida*, vulvo-vajinit etkenleri arasında en sık rastlanan mikroorganizmalardan birisidir (29). Vajinal kandidoz olgularında en sık etken *C. albicans* olmakla beraber *C. glabrata*, *C. parapsilosis* gibi non albicans *Candida* türleride enfeksiyonlardan izole edilmektedir (29). Kaya ve ark. (84), vajinal akıntı örneklerinden izole ettikleri 100 maya izolatında *C. albicans* (%65), *C. glabrata* (%14), *C. krusei* (%8) ve *C. gullerimondii* (%3) saptanmıştır. Berktaş ve ark. (85), 195 sağlıklı gebe kadında yaptıkları çalışmada 72 maya izolatının *C. albicans* (%63,9), *C. glabrata* (%23,6), *C. tropicalis* (%5,5), *C. stelloidea* (%2,8) ve *C. kefyir* (%2,8) olarak saptamıştır.

Tümbay ve ark. (86), vajinal akıntı örneklerinden izole ettikleri 374 maya izolatında *C. albicans* (%68,9), *C. tropicalis* (%9,3) *C. glabrata* (%6,4), *C. krusei* (%3,5) ve *C. kefyri* (%2,4) olarak saptamıştır. Hilmioğlu ve ark. (87), vulvovajinal kandidoz atkeni olarak soyutlanan 106 *Candida* kökeninden en sık olarak yine *C. albicans* (%42,5), *C. glabrata* (%41,5), *C. tropicalis* (%9,4), *C. krusei* (%4,7) ve *C. kefyri* (%1,9) olarak saptamıştır. Pirinçgiller (2), vajinal sürüntü örneklerinden elde edilen 40 maya kökeninin 16'sını *C. albicans*, 13'ünü *C. glabrata*, 7'sini *C. krusei*, 3'ünü *C. kefyri*, 1'ini *C. tropicalis* olarak saptamıştır. Bizim çalışmalarımızda da literatür sonuçlarına benzer sonuçlar bulunmuştur (84-87).

Son yıllarda *C. albicans* ve diğer *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlardaki artış ve bu türlerin kullanılmakta olan antifungal ajanlara karşı farklı duyarlılıkları invitro duyarlılık testinin terapötik karar verme aşamasında çok önemli bir yeri olduğunu göstermiştir (54,60).

1950'lerde kullanıma sunulan amp-B her ne kadar her mantar enfeksiyonuna etkili olmasada ve toksik özelliği olsa da uzun süre alternatifi üretilmemiştir. Flusitozisin ise dar spektrumu ve hızlı direnç kullanımını sınırlandırmıştır (65).

1980'li yıllardan önce sınırlı sayıda olan antifungal ilaçlar daha sonraki yıllarda artış göstermiştir. Nitekim son 10 yılda görülen mantar enfeksiyonlarındaki artış antifungal ilaçların gelişimine yol gösterici olmuştur. Son yıllarda antifungal ajanların artan kullanımı endojen fungal florayı suprese etmiş ve duyarlı suşların supresyonu ile de daha dirençli suşlar ortaya çıkmıştır (57,65).

Bir çok *Candida* izolatında amfoterisin B'ye direnç gösterilmiştir (34,72). Bazı kandida izolatları ise ketokonazole dirençlidir. *C. albicans*'da flusitozine karşı %10-30 direnç bilinirken, non-albicans *Candida* türlerinde de artmış dirençten bahsedilmektedir. *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* gibi türlerde flukonazole karşı doğal yada kazanılmış direnç saptanmıştır (73). Bu nedenle ilaç seçiminde *Candida*'ların türünün belirlenmesi de önemlidir (65,69).

Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen 100 *Candida* suşunun Amp-B, Ketokonazol, Flukonazol gibi antifungallere olan duyarlılıkları NCCLS broth mikrodilasyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir (4).

Test ettiğimiz antifungallerin *Candida* türlerine karşı olan in vitro aktiviteleri Tablo 11-13'de gösterilmiştir.



Her ne kadar antifungal duyarlılık testleri amp-B için rutin olarak yapılmamasında *Candida* türlerinde seyrek de olsa amfoterisin B'ye direnç bildirilmektedir (60). *C. lusitanea* ve *C. guilliermondii* gibi non albicans *Candida* türlerinde de primer olarak amp-B'ye karşı direnç gelişimi saptanmıştır. Sekonder direnç daha çok kanser hastalarında izole edilen *Candida*'ların neden olduğu enfeksiyonlarla birlikte, nadiren *C. albicans*'ta gözlemlenmektedir (50).

*C. albicans*, *C. lypolytica*, *C. norvegensis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* gibi türlerde amp-B'ye karşı direnç rapor edilmektedir (50). NCCLS tarafından 1997 yılında yayınlanan M27-A protokole göre Amp-B ile ilgili çalışmalarda direnç sınırı  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$  olarak bildirilmiştir (4).

Davey ve ark (71), 180 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,125-2  $\mu\text{g/ml}$  arasında, Shawar ve ark. (88) ise 14 *Candida* izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,5-1  $\mu\text{g/ml}$  arasında değiştirdiğini bildirmişlerdir. Espinel-İngroff ve ark. (89) 30 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 1-2  $\mu\text{g/ml}$  arasında saptamışlardır. Howser ve ark. (90) 98 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,125-4  $\mu\text{g/ml}$  arasında saptamışlardır. Espinel-İngroff (91), 117 maya izolatu ile yaptıkları bir başka çalışmada MİK değerlerini 0,25-8  $\mu\text{g/ml}$  arasında değiştirdiğini bildirmişlerdir. Pfaller ve ark. (92) 597 izolatlık çalışmalarında MİK aralığını 0,03-4  $\mu\text{g/ml}$  arasında bulmuşlardır. Bu araştırmacılar suşların 36 (%6)'sında amp-B'ye direnç saptamışlardır ve bu dirençli izolatların %64'ünün *C. lusitaniae* ve *C. krusei* olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde Durupınar ve ark (93), 60 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,06-1  $\mu\text{g/ml}$  arasında; Arıkan ve ark. (94) 63 izolatlık çalışmada MİK aralığını 0,06->16  $\mu\text{g/ml}$  olarak; Gün ve ark. (95) 50 hastalık grubunda MİK aralığını 0,06-0,25 olarak saptamışlardır. Kiraz ve ark. (96) 63 maya izolatını aldıkları çalışmada MİK aralığını 0,03-4  $\mu\text{g/ml}$  olarak; Göller (82) ise 150 *Candida* suşunun MİK aralığını 0,03-16  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptamıştır.

Amp-B için MİK aralığı genellikle 0,25-1  $\mu\text{g/ml}$  arasındadır. Bu nedenle kesin bir sınır değer olmamakla beraber NCCLS kriterlerine göre 1  $\mu\text{g/ml}$  üzerinde olanlar dirençli kabul edilmektedir (4). Çalışmamızda ise MİK aralığının 0,03-16  $\mu\text{g/ml}$  arasında değiştirdiğini saptadık. 100 *Candida* izolatından 6 (%6)'sı amp-B'ye dirençli bulundu (MİK  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$ ). Bu suşlar arasında 3 *C. albicans*, 1 *C. tropicalis*, 1

*C. krusei*, 1 *C. kefir* yer almaktaydı. *Candida* suşlarında amp-B'ye karşı oldukça yüksek bir duyarlılık saptadık. *Candida* suşlarının %94'ü amp-B'ye duyarlı bulundu ( $MİK \leq 1 \mu\text{g/ml}$ ). Amp-B'ye karşı saptadığımız MİK değerlerini ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmalarda kıyasladığımızda benzer sonuçlarla birlikte bizim yaptığımız çalışmada amp-B'ye karşı oldukça yüksek bir duyarlılık saptanmıştır (88-96). Dirençli 6 türün arasında 3 *C. albicans*, 1 *C. tropicalis*, 1 *C. krusei*, 1 *C. kefir* gibi türlerin yer alması, bu türlere karşı direnç oluşumu ile uyumlu bulunmuştur. Dirençli izolatlardan bir tanesi *C. krusei* olarak bulunmuştur. *C. krusei* flukonazole karşı direnç göstermektedir. Bunun yanı sıra son zamanlarda amp-B'ye de direnç gösterdiği gözlemlenmektedir (65).

NCCLS kriterlerine göre Ketokonazol için direnç sınırı  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$  olarak bildirilmektedir (4). Ketokonazolle ilgili bildirilen direnç oranları %0-25 arasında değişmektedir. Espinel-İngroff (94) 30 maya izolatu ile yaptığı çalışmada MİK aralığını 0,25->4  $\mu\text{g/ml}$  arasında bulmuştur. Espinel-İngroff (91) 117 maya izolatu ile yaptığı bir başka çalışmada MİK aralığını  $\leq 0,12-8 \mu\text{g/ml}$  arasında değiştiğini belirlemiştir. Howser ve ark. (90), 98 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,03-16  $\mu\text{g/ml}$  arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Ülkemizde Gün ve ark. (95) 50 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,03-2  $\mu\text{g/ml}$  arasında bulmuşlar, Oldacay ve ark. (97) vajenden elde ettikleri 52 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada 4 *Candida* suşuna karşı (1 *C. tropicalis*, 3 *C. albicans*) direnç saptamışlardır. Göller (82) ise 150 *Candida* suşuyla yaptığı çalışmada MİK aralığını 0,03-16  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptamıştır.

Çalışmamızda Ketakonazol için MİK aralığını 0,03-16  $\mu\text{g/ml}$  arasında saptadık. 100 *Candida* suşunun 3'ü ketokonazole dirençli bulundu ( $MİK \geq 8 \mu\text{g/ml}$ ). Bu türler arasında 1 *C. tropicalis*, 2 *C. krusei* yer almaktaydı. Suşların %84'ü ketokonazole duyarlı saptandı ( $MİK \leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ ).

Ketokonazole karşı saptadığımız MİK değerlerini ülkemizde ve yurtdışında yapılan çalışmalarla kıyasladığımızda benzer sonuçlar yanında farklı sonuçlarında olduğu gözlemlenmektedir (90,91,94,95,97). Ketokonazolun flukonazolden daha etkin olduğu bu çalışmayla ispatlanmış oldu.

NCCLS'in flukonazol için belirlediği direnç sınırı  $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ 'dir (4).

Toksitesinin az olması nedeniyle yaygın kullanılan flukonazole karşı primer direnç özellikle *C. glabrata* ve *C. krusei*'de bildirilmektedir. Daha virulan olan enfeksiyonlarda daha sık izole edilen *C. albicans*'la ilgili direnç daha çok HIV (+) hastalarda rastlanmakta ve normal popülasyonda flukonazole dirençli *C. albicans*'lar ortaya çıkmaktadır (65).

Davey ve ark.(71) 180 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını 0,12->64 µg/ml arasında saptamışlardır. Shawar ve ark.(88) 14 *C. albicans* izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını >64 µg/ml olarak saptamışlardır. Espinel-İngroff (89) 30 maya izolatu ile yaptığı çalışmada MİK aralığını 0,25->64 µg/ml arasında bulmuşlardır. Espinel-İngroff (91) 117 maya izolatu ile yaptığı bir başka çalışmada MİK aralığını 0,12->64 µg/ml arasında değiştiğini belirlemiştir. Howser ve ark. (90) 98 suşluk çalışmasında MİK aralığını 0,12->256 µg/ml olarak saptamıştır. Pfaller ve ark. (92) 597 maya suşu ile yaptığı çalışmada flukonazol için MİK aralığını 0,03->512 µg/ml arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Flukonazole ile ilgili direnç %5-56 arasında değişen oranlarda bilinmektedir (4). Ülkemizde ise Arıkan ve ark. (94) 53 *Candida* suşu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını <0,2->64 µg/ml olarak saptamış; Gün ve ark. (95) 50 izolatlık çalışmasında MİK aralığını 0,12->64 µg/ml olarak bulmuşlardır. Kiraz ve ark. (96) 300 suşluk çalışmalarında MİK aralığını 0,06-8 µg/ml olarak saptamıştır. Göller (82) ise 150 suşluk çalışmasında MİK aralığını 0,12-64 µg/ml olarak belirtmiştir.

Bizim çalışmamızda ise MİK aralığı 0,125-64 µg/ml arasında bulundu. Flukonazole 8 *Candida* suşunun dirençli olduğu (MİK $\geq$ 64 µg/ml) saptandı. Bu suşlar arasında 4 *C. albicans*, 2 *C. glabrata*, 2 *C. krusei* yer almaktaydı. Suşların %64'ü Flukonazole duyarlı idi (MİK $\leq$ 8 µg/ml).

NCCLS'in flukonazol için belirlediği MİK aralığı 0,125-64 µg/ml arasındadır. Bu değere bakacak olursak yaptığımız çalışma hem ülkenizdeki değerlerle hem de yurtdışında yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Türlerde görülen direnç durumu da diğer çalışmalarda görülen direnç durumları ile uyumlu bulunmuştur (71,88,90-92,94-96).

İn vitro duyarlılık testleri primer olarak spesifik patojen tarafından oluşturulan enfeksiyonda antimikrobiyal ajanın etkisini tahmin etmeyi amaçlamaktadır (26,68).

Antifungal duyarlılık testlerinin gelişmesi ve standardizasyonu için 1982 yılında NCCLS bünyesinde ADT alt komitesi kurulmuştur (73). Bu komite on yıl süren yoğun çalışmalar sonucunda uygun besiyeri, tampon solüsyonu, inokulum miktarı, ilaç sulandırımı ve dilüsyon aralıkları, inkübasyon zamanı ve ısı, MİK değerlerini belirleme kriterleri gibi değerleri standardize etmeye çalışmış ve bu komite bir çok laboratuvarla yaptığı ortak çalışma sonucunda 1982 yılında mayalar için tüp makrodilüsyon metodunu standart referans yöntem olarak (M27-P) olarak önermişlerdir (4,59).

Zaman alıcı, pahalı, rutinde kullanımı zor bir metod olan makrodilüsyon metodu daha kullanışlı pratik testler için alt yapı oluşturmuştur (4). Mikrodilüsyon metod NCCLS'in M27-T dökümanına eklenmiştir ve kabul edilebilir bir yöntem olup, labotatuvar içinde ve laboratuvarlar arasında %90'dan fazla uyum vardır (4). Ancak yinede in vivo ve invitro sonuçlar arasında tam bir korelasyon sağlanabilmiş değildir. Buna rağmen MİK sonuçları ile hastanın klinik bulgularının birleştirilmesinin yararlı olacağı bildirilmektedir (73).

Testlerin in vitro uygulanmasının klinik olarak yararlılığı vardır (23). İn vitro duyarlılık testi, yeni geliştirilen antifungal ajanın kliniğe uygulanmasından da çok önemlidir (64,78). Medikal mikoloji labotaruvarlarında *Candida* türünün belirlenmesi teröpatik karar verme mekanizmasında çok önemlidir ve rölatif olarak ADT sonucunda tatminlere izin verir (59). ADT tür tanımlaması ile eşleştirildiği zaman klinik amaçlarla tamamen tatmin edici olacaktır (59,73). İn vitro test sonuçlarının hastaların tedavisinde rolünü belirlemek için ileri teknikler gerekmektedir. Klinik bilgilerin eksikliği nedeniyle eldeki bilgilerle antifungal ajanlar için geçerli etkinlik oluşturmak mümkün değildir.

Mikrodilüsyon yöntemi ile yapılan çalışmalardan alınan sonuçlar bu metodun bir çok antifungal ajana karşı bir çok maya izolatının test edilmesini sağladığını göstermektedir (59). Mikrodilüsyon metod üretilebilir ve standardize edilebilir karakterdedir (73).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda *Candida* türleri ile oluşan fungal enfeksiyon insidansı artmıştır. Enfeksiyonlardan en sık izole edilen tür *C. albicans* olmakla beraber günümüzde non-albicans türlerle oluşan enfeksiyonlarda artış gözlenmektedir. Kullanılan antifungal ajanlara karşı özellikle non albicans türlerde direnç görülmesi tür tanımlanmasını ve ADT'ler önemli yere getirmektedir.

Günümüzde in vitro ve in vivo sonuçlar arasında tam bir korelasyon sağlanabilmiş değildir. Ancak yine de MİK sonuçları ile hastanın klinik bulgularının birleştirilmesinin yararlı olacağı bildirilmektedir. Problemi çözmek için daha fazla klinik bilgiye ihtiyaç vardır. Çalışmalar homojen gruplarla yapılmalı ve ortak konak faktörleri göz önüne alınmalıdır.

### Sonuçlar:

Klinik örneklerden 100 *Candida* türü saptandı.

- Bunların 50'si *C. albicans* (%50), 15'i *C. glabrata* (%15), 13'ü *C. tropicalis* (%13), 10'u *C. krusei* (%10), 7'si *C. kefyr* (%7), 3'ü *C. parapsilosis* (%3) ve 2'si *C. guilliermondii* (%2) olarak değerlendirildi.
- Bu suşlardan 34 (%34)'ü ağızdan, 33 (%33)'ü vajinal sürüntüden, 22 (%22)'si balgamdan, 6 (%6)'sı gaitadan, 2 (%2)'si idrardan, 1 (%1)'i yara yerinden, 1 (%1)'i ayak parmak arasından ve 1 (%1)'i sonda ucu örneklerinden izole edilmiştir.

Amp-B, Ketokonazol ve Flikonazol için MİK değerlerinin saptanmasında Mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır.

- Amp-B'ye ilişkin MİK aralığı 0,03-16 µg/ml arasında MİK  $90 \leq 1$  µg/ml olarak saptandı. Mikrodilüsyon yöntemi ile incelediğimiz 100 *Candida* suşunun 6'sı amp-B'ye dirençli bulundu (MİK  $\geq 2$  µg/ml). Bu suşlar arasında 3 *C. albicans*, 1 *C. tropicalis*, 1 *C. krusei*, 1 *C. kefyr* yer almaktaydı. *Candida* suşlarının %94'ü amp-B'ye duyarlı bulundu.
- Ketokonazol için 100 *Candida* suşunun MİK aralığı 0,03-16 µg/ml arasında, MİK  $90 \leq 0,5$  µg/ml olarak bulundu. Çalışmaya alınan suşların 3'ü ketokonazole dirençli bulundu (MİK  $\geq 8$  µg/ml). Bu suşlar arasında 1 *C.*

*tropicalis*, 2 *C. krusei* yer almaktaydı. Suşların %84'ü ketokonazole duyarlı saptandı (MİK $\leq$ 0,5  $\mu$ g/ml).

- Flukonazol için çalışmaya alınan 100 *Candida* suşunun MİK aralığı 0,125-64  $\mu$ g/ml arasında, MİK  $90\leq 32$   $\mu$ g/ml bulundu. Flukonazole 8 *Candida* suşunun dirençli olduğu (MİK $\geq$ 64  $\mu$ g/ml) saptandı. Bu suşlar arasında 4 *C. albicans*, 2 *C. glabrata*, 2 *C. krusei* yer almaktaydı. Suşların %64'ü Flukonazole duyarlı idi.

### **Öneriler:**

Son yıllarda fungal enfeksiyonlarda *Candida* türlerinde artış gözlenmektedir. En sık izole edilen tür *C. albicans* olmakla beraber günümüzde non-albicans türleride enfeksiyonlarda yol açmaktadır. Kullanılan antifungal ajanlara karşı özellikle non-albicans türlerde direnç görülmesi *Candida*'ların tiplendirilmesinin nedenli önemli olduğunu göstermektedir.

Tür belirlenmesi gibi seçilecek ADT'de kullanılabilirlik ve uygulanabilirlik açısından önem taşımaktadır. Mikrodilüsyon yöntemi kullanım açısından pratik, doğruluğu açısından da güvenilir bir yöntemdir.

Mikrodilüsyon metodu ile yapılan çalışmalarda alınan sonuçlar ise oldukça ümit vericidir. Bu metod bir çok antifungal ajana karşı bir çok maya izolatının çalışmasına olanak tanımaktadır. Metodun üretilebilir ve standardize edilebilir karakterde olması ise en büyük avantajdır.

**6. KAYNAKLAR**

1. Kahraman M. (1995) Kandidaların tanımlanmasındaki bazı yöntemlerin karşılaştırılması ve bunların bir kısım antifungallere duyarlılık durumu. Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp fakültesi Mikrobiyoloji kliniği, İstanbul
2. Pirinçgiller M. (1995) Maya mantarların tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılığı. Uzmanlık Tezi. On Dokuz Mayıs Üniversitesi. Samsun.
3. Ermertcan Ş. (1998) Kan kültürlerinde soyutlanan *Candida* kökenlerinin flukonazole in vitro duyarlılığının makrodilution ve kolorimetrik mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanması. Uzmanlık Tezi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standarts. Feferance method for Broth Dilution susceptibility.(1996) Testing of Yeasts; Approved Standard. NCCLS Document M27A. Villanova, Pennsylvania.
5. Uzun M. (1999) *Candida albicans*. In: Ağaçfidan A., Anđ Ö. *Cinsel temasla bulaşan hastalıklar*. İstanbul, 365-385.
6. Kevin C., Howell H. (2003) *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In: Murray P.R., Baron E.J., Pfaller A.M. et.al. *Manual of Clinical Microbiology* (8 th. Ed. ), Washington, 1693-1711.
7. Tümbay E. (1999) *Candida* türleri. In: Ustaçelebi Ş. Ve ark. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (1 th edition), Güneş kitabevi, Ankara, 1082-1086.
8. Willke A.T., Çerikçioğlu N. (2002) *Candida* türleri. . In: Willke A.T., Söyletir G., Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İzmir, Nobel Tıp kitapevleri, 1797-1809.
9. Çerikçioğlu N. (1999) *Candida*'ların ince yapısı. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 47-53.
10. Kiraz N. (2002) *Candida* türlerinde fenotipik ve genotipik tiplendirme. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 125-135.

11. Yücel A., Kantaroğlu A.S. (2000) *Candida*'ların patojenlik belirtgenleri. *Cerrahpaşa J Med* **31(3)**, 172-186.
12. İnci R. (1999) *Candida* enfeksiyonlarının patogenezi konağın rolü. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 70-83.
13. Ener B.(1999) *Candida* enfeksiyonlarının patogenezi: Etkenin rolü. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 65-70.
14. Kuştimur S. (1999) *Candida*'da virulans faktörleri. . İn: Tümbay E., İnci R., Hilmioğlu S. ve ark. *1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 1999) Kongre Kitabı*, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 145-150.
15. Arslan U., Fındık D. (2003) Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (Proteinaz, slime ve fosfolipaz) *in vitro* araştırılması. *Turkish Journal of Infection* **17(4)**, 471-481.
16. Cevahir N., Demir M., Mete E. ve ark. (2003) *Candida* suşlarında farklı yöntemlerle slime üretiminin araştırılması. *Turkish Journal of Infection* **17(1)**, 67-70.
17. Dağdeviren M., Çerikçioğlu N., Karavuş M. (2003) Hastanede yatan fungemili hastalardan izole edilen *Candida parapsilosis* kökenlerinin virulans faktörleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* **33**, 315-322.
18. Yücel A., Kantarcıoğlu A.S. (2002) *Candida* türlerinde klamidospore oluşumunun yeni ve özgül bir yöntemle incelenmesi ve tanı bakımından önemi. *Turkish Journal of Infection* **16(3)**, 339-344.
19. Yücel A., Kantarcıoğlu A.S. (1999) *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler. *Cerrahpaşa J Med* **30(3)**, 236-246.
20. Hilmioğlu S. (2002) *Candida* enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı: Klasik tanıda izlenecek yol ne olmalı? *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 121-124.



21. Koç A.N. (2002) Tıbbi bakımdan önemli olan *Candida* türlerinin mikolojik özellikleri. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 37-45.
22. Tümbay E. (1983) Pratik Tıp Mikolojisi. İzmir, Bilgehan Basımevi, 46-55.
23. Maenza R.J., Merz W.G. (1998) *Candida albicans* and related species. In: Gorbach S.L., Bartlett N.R., Blacklow N.R. *Infectious diseases* (2. Ed.), 2313-2312.
24. Koneman E.W. Allen S.D., Dowell V.R. et. al. (1997) Mycology In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (5 th. edition), Lippincott Company. Philadelphia, 1044-1069.
25. Yücel A., Kantarcıoğlu A.S. (2002) *Candida* türlerinde klamidiospor oluşumunun yeni ve özgül bir yöntemle incelenmesi ve tanı bakımından önemi. *Turkish Journal of Infection* **16(3)**, 339-344.
26. Kuştimur S. (1999) Antifungal duyarlılık testleri In: Ustaçelebi Ş. Ve ark. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (1 th edition), Güneş kitapevi, Ankara, 1159-1166.
27. Alpöz A. R., Hilmioglu S., Taşbakan M. I. (1999) Oral carriage of *Candida* and association between *Candida* and  $df_s$ ,  $DMF_s$  scores in a group of 7-12 year-old children. *Turkish Journal of Infection* **13(2)**, 169-172.
28. Özkütük A. (2002) Yüzeyel kandidozlar. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 111-115.
29. Mathema H., Cross E., Dun E. et.al. (2001) Prevalance of vaginal coloniation by drug-resistant *Candida* species on college-age women with previous exposure to over-the-counter azole antifungals. *CID* **33**, 22-26.
30. Yücesoy M., Karaman M. (2003) Oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *Candida albicans* suşlarında fosfolipaz ve esteraz aktivitesinin değerlendirilmesi. *Turkish Journal of Infection* **17(4)**, 483-486.

31. Hoşoğlu S. (1999) Nozokomiyal Hematojen kandidoz. İn: Tümbay E., İnci R., Hilmioğlu S. ve ark. *1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 1999) Kongre Kitabı*, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 157.
32. Uzun Ö. (2002) Nozokomiyal hematojen kandidiyazis. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 117-123.
33. Tümbay E., Metin D.Y. (2002) Üro-genital kandidozlar. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 101-109.
34. Kuştimur S. (2003) Hastane enfeksiyonlarında neden olan mantarların Dünya’da ve Türkiye’de dağılımı. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 47-58.
35. Trick W.E., Jarvis W.R. (1998) Epidemiology of nosocomial fungal infections in the 1990’s. *Rev Iberoam Micol* **15**, 2-6.
36. Yeğenoğlu Y. (2002) Candida enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 55-63.
37. Kantarcıoğlu A.S., Yücel A. (2001) Epidemiology of deep mycoses; considerations on antifungal prophylaxis and antifungal susceptibility tests. *Cerrahpaşa J Med* **32(3)**, 184-199.
38. Uzun M.(2003) Enfeksiyon gelişiminde rol oynayan risk faktörleri. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 59-65.
39. Güneş İ., Aydın A., Kalkancı A. ve ark. (2001) Yoğun bakım ünitelerinde maya kolonizasyonu. İn: Kuştimur S., Kalkancı A. et.al. *2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 236-37.
40. Zer Y., Balcı İ. (2001) Yoğun Bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen Candida Suşlarının identifikasyonu ve antifungal duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* **32**, 230-234.

41. Abi-Said D., Anaissie E., Uzun O. et.al. (1997) The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis* **24(6)**, 1122-8.
42. Ener B. (1999) Hastane enfeksiyonu etkeni olarak mantarlar. In: Ustaçelebi Ş. Ve ark. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (1 th edition), Güneş kitabevi, Ankara, 1123.
43. Toraman Z.A. (2003) Doğrudan tanı yöntemleri ve önemi. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 166-175.
44. Özkütük A. (2003) Yeni izolasyon yöntemleri. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 176-181.
45. Kurutepe S., Değerli K., Çetinkaya Z. ve ark. (2001) *Candida* türlerinin tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyerinin değerlendirilmesi. In: Kıştımur S., Kalkancı A. et.al. *2.Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 251,
46. Aktaş A. E., Yiğit N., Tuncel E. (2001) *Candida* türlerinin tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyerinin kullanılması. In: Kıştımur S., Kalkancı A. et.al. *2. Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 252.
47. Yücesoy M., Ergör G., Yuluğ N. (2001) *Candida* türlerinin tanımlanmasında “CHROMagar *Candida*” besiyerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bült* **35**, 549-557.
48. Kurutepe S., Değerli K., Çetinkaya Z. ve ark. (2001) *Candida* türlerinin tanımlanmasında CHROMagar *Candida* besiyerinin değerlendirilmesi. In: Kıştımur S., Kalkancı A. et.al. *2.Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 251,
49. Yücesoy M., Ergör G., Yuluğ N. (2001) *Candida* türlerinin tanımlanmasında “CHROMagar *Candida*” besiyerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bült* **35**, 549-557.

50. Antoniadou A., Torres H.A., Lewis R.E., et.al. (2003) Candidemia in a tertiary care cancer center: in Vitro susceptibility and its association with outcome of initial antifungal therapy. *Medicine(Baltimore)* **82(5)**, 309-21.
51. Saraçlı M.A. (2002) Candida enfeksiyonlarının tanısında moleküler ve genetik tanı yöntemleri. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 133-144.
52. Bozdayı G., Kalkancı A., Biri A., ve ark. (2001) Çeşitli örneklerden izole edilen ve ID32 C kiti ile *Candida albicans* olarak isimlendirilen suşların PCR ve klasik yöntemlerle yeniden tiplendirilmesi. İn: Kiştimur S., Kalkancı A. et.al. *2.Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 193.
53. Güneş İ., Kalkancı A., Kiştimur S. (2001) *Candida* türlerinin tiplendirilmesinde kullanılan üç farklı hazır kitin karşılaştırılması. İn: Kiştimur S., Kalkancı A. et.al. *2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 248-49.
54. Çerikçioğlu N. (2003) Yeni identifikasyon yöntemleri. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 182-191.
55. İnci R. (2002) Antifungal ilaçlar. İn: Willke A.T., Söyletir G., Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İzmir, Nobel Tıp kitapçevleri, 296-306.
56. Voss A. (1999) Therapeutic approach to the patient with Candidemia. *Clinical Microbiology and Infection Disease* **5**, 2S51-2S57.
57. Arıkan S., Rex J.H. (2003) Antifungal Agents. İn: Murray P.R., Baron E.J., Pfaller A.M. et.al. *Manual of Clinical Microbiology* (8 th. Ed. ), Washington, 1859-1868.
58. Pauw B. (2000) Is there a need for new antifungal agents? *Clinical Microbiology and Infection Disease* **6**, 23-28.

59. Yücel A., Katarcioglu A. S. (2002) Antifungallerin sistemik mantar enfeksiyonlarda kullanımı ve duyarlılık deneyleri: Genel yönlendirme. *Cerrahpaşa J Med* **33**, 261-280.
60. Uzun Ö. (1998) Fungal Hastane İnfeksiyonlarında tedavi yaklaşımları. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* **2**, 156-163.
61. Yücesoy M., Güldaş N.Ş., Yuluğ N. (1999) Amfoterisin B lipit kompleksi ve lipozomal Amfoterisin B'nin *Candida albicans* suşlarına antifungal etkinliği ve bu etkide fosfolipaz üretiminin rolü. . İn: Tümbay E., İnci R., Hilmioğlu S. ve ark. *1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 1999) Kongre Kitabı*, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 235.
62. Arıkan S. (2001) Lipozomal Nistatin, Ekinokandinler ve Sordarinler. İn: Kıştımur S., Kalkancı A. et.al. *2. Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 149-154.
63. Katarcioglu S.A., Yücel A. (2003) Terbinafin ile flukonazol kombinasyonunun *Candida albicans* kökenlerine karşı *in vitro* etkisi. *Turkish Journal of Infection* **17(1)**, 71-75.
64. Arıkan S. (2002) *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 161-166.
65. Koç N. (2003) Ülkemizde antifungal direnç. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 285-300.
66. Kalkancı A. (2003) Yeni antifungaller ve direnç mekanizmaları. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 272-284.
67. Leonard B, Johnson and Carol A. Kauffman. (2003) Voriconazole: A New Triazole Antifungal Ajent, *CID* **36**, 630-637.
68. Arıkan S. (1999) Antifungal Duyarlılık Testleri. *Ankem Dergisi* **13**, 332-336.

69. Yücesoy M. (1999) Mayalar için antifungal duyarlılık testleri. İn: Tümbay E., İnci R., Hilmioğlu S. ve ark. *1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 1999) Kongre Kitabı*, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 191-199.
70. Rodriguez-Tudella J.L., Barchiesi F., Bile J. et. al. (2003) Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. *Clin Microbiol and Infect* **9**, 1-8.
71. Devey K.G., Holmes E.d., Johnson E.M. et al. (1998) Comparative Evaluation of FUNGİTEST and broth microdilution methods for antifungal drugs susceptibility testing of *Candida species* and *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clin Microbiol.*926-930.
72. Güneş İ., Kalkancı A., Kuştimur S. (2001) Candida suşlarının tür düzeyinde tanımlanmasında üç farklı hazır kitin klasik yöntemlerle karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bült.* **35**, 559-564.
73. Arıkan S. (2002) Candida enfeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir)* kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti, 161-166.
74. Pfaller M.A, Arıkan S., Lazono-Chiu M. et. al. (1998) Clinical evaluation of the ASTY colorimetric microdilution panel for antifungal susceptibility testing. *Journal Clin Microbiol* **36**, 2609-12.
75. Azel H.E., Durmaz B., Refik M. ve ark. (1999) Turgut Özal tıp merkezinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida*'ların türlere göre dağılımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* **6(2)**, 146-49.
76. Kıştimur S., Kalkancı A., Mansuroğlu H. (2001) *Candida* türlerinin flukonazole duyarlılıklarının saptanmasında iki farklı mikrodilüsyon yönteminin karşılaştırılması. *Turkish Journal of Infection* **15(3)**, 349-351.
77. Coşkun Ö., Beşirbellioğlu A.B., Yıldırım Ş.T. ve ark. (2001) Kandidemili hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin Amfoterisin B ve Flukonazole in vitro duyarlılıkları. *Mikrobiol bült.* **35**, 565-571.
78. Ener B. (2003) Kandidoz. *3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı*, Bornova, 218-220.

79. Öztürkcan S., Topçu S. et.al. (1993) Diabetik hastarda oral kandida insidansı. *Mikrobiyoloji bülteni* **27**, 352-356.
80. Mete M., Arıkan E. (1993) Antibiyotik sağaltımındaki çocuklarda ağız ve bağırsakta *Candida* kolonizasyonu ve *Candida* şuşlarının Nistatine in vitro duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergisi* **7(1-2)**, 115-119.
81. Ergüven S., Köksal İ., Çerikçioğlu N. Ve ark. (1990) Çeşitli örneklerden izole edilen *Candida* türleri ve antifungallere duyarlılıkları. *Ege Tıp Dergisi* **29(3)**, 966-969.
82. Göller S. (1999) Klinik örneklerden izole edilen kandidaların tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılık testleri. Uzmanlık Tezi, İzmir
83. Yücesoy M., Karaman M., Yuluğ N. (2001) İdrar kültüründen soyulanan *Candida* türlerinin flukonazol ve ampoterisin B'ye duyarlılıkları. İn: Kıştımur S., Kalkancı A. et.al. 2. *Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001) Kongre Kitabı*, Ankara, Sistem Ofset, 264.
84. Kaya D., Kiraz D. (1994) Vajinal örneklerden izole edilen maya türlerinin bazı antifungal maddelere duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni* **28**, 352-358.
85. Berktaş M., Gül A., Yavuz M.T. ve ark. (1996) Sağlıklı gebe kadınlarda Candidaların vajinal kolonizasyonu ve tür dağılımı. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi*, 186.
86. Tümbay E., Özbakkaloğlu B., Karadadaş N. ve ark. (1991) Mantar vulvo-vajinitlerinin yaş ve etkenlere göre dağılımı. *Ege Tıp Dergisi* **30(1)**, 94-96.
87. Hilmioğlu S., İlkit M., Çavuşoğlu C. ve ark. (1999) Vulvovajinal kandidoz etkeni mayaların in vitro antifungal duyarlılığı. *Turkish Journal of Infection* **13(2)**, 165-168.
88. Shawar R., Paetznick V., Witte Z. et al. (1992) Colloborative investigation of Broth microdilution and Semisolid agar dilution for in vitro susceptibility testing of *Candida albicans*. *Journal of Clin microbiol*, 1976-1981.
89. Espinel-Ingroff A., Kerkering M., Golson P.R. et al. (1991) Comparison Study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *Journal of Clin Microbiol* **7** 1089-1094.

90. Howser SF., Norris H., Jessup C.J. et. al. (1998) Comparison of a 2,3 Bis ( 2 Methoxy – 4 – Nitro-5-sulfophenyl )-5- ( ( Phenylamino) Carbonyl )- 2H - Tetrazolium Hydrokxide (XTT) Colorimetric method with the standardized National Committee for Clinical Laboratory Standarts Method with testing clinical yeast isolates for susceptibility to antifungal agents. *Journal of Clin Microbiol* **5**, 1450-1452.
91. Espinel-Ingroff A. (1998) In vitro activity of the new triazole voriconazole againsts opportunistic filamentous and dimorphic fungi anf common and emerging yeast pathogens. *Journak of Clin Microbiol.* **12(1)**, 85-88.
92. Pfaller M.A., Barry A.L. (1995) In vitro susceptibility of clinical yeast isolates to three antifungal agents determinated by the microdilution Method. *Mycopathologia* **130**, 3-9.
93. Durupınar B., Günaydın M., Saniç A. ve ark. (1995) Maya türlerinin çeşitli antifungallere duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* **9(2)**, 62.
94. Arıkan S., Gür D., Akova M. (1995) Klinik önem taşıyan Candida türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* **9(2)**, 60
95. Gün H., Özyurt M., Haznedaroğlu T. (1993) Klinik örneklerden patojen etken olark izole edilen Candida suşlarının sistemik etkili antifungal ajanlara duyarlılıkları. *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* **4**, 181-192.
96. Kiraz N., Erturan Z., Uzun M. (1997) Üçyüz Candida albicans suşunun Ampoterisin B, Flusştazin, Flukonazol ve Mikonazole karşı duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi.* **27**, 121-124.
97. Olcay M., Taşcıoğlu J., Kayaalp S. ve ark. (1996) Vajinit etkenleri olarak izole edilen mayaların tür ayırımı ve bazı antifungallere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji kongresi. Antalya,188.